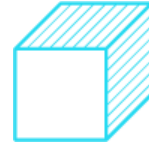




EN LA UAP
TÚ ERES PARTE
DEL CAMBIO



**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

TESIS

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE VAINAS DE
Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze (TARA)**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

Bach. Vara Soto, Flora Victoria

ASESOR:

Mg. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña

Lima, Perú, enero 2022

Dedicatoria

A mis hijos por su apoyo y comprensión incondicional, a mi madre por sus oraciones. A todas las personas que en el camino formaron parte y me brindaron la ayuda para cumplir el objetivo de convertirme en profesional.

Agradecimiento

A mi universidad por brindarme la oportunidad de adquirir los conocimientos necesarios que me permitirán convertirme en un excelente profesional. Agradezco a cada docente que fue esencial para mi formación académica, de quienes pude aprender la importancia de nuestra valiosa profesión y el aporte que brindamos a la sociedad y su bienestar.

Índice general

<i>Dedicatoria</i>	<i>ii</i>
<i>Agradecimiento</i>	<i>iii</i>
<i>Índice general</i>	<i>iii</i>
<i>Índice de tablas</i>	<i>vii</i>
<i>Índice de figuras</i>	<i>viii</i>
<i>Resumen</i>	<i>ix</i>
<i>Abstract</i>	<i>x</i>
<i>Introducción</i>	<i>xi</i>
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.1. Descripción de la situación problemática	1
1.2. Formulación del problema.....	3
1.2.1. Problema general.....	3
1.2.2. Problemas específicos.....	3
1.3. Objetivos de la investigación.....	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos específicos.....	3
1.4. Justificación, importancia y viabilidad de la investigación	4
1.4.1. Justificación de la investigación	4
1.4.2. Importancia de la investigación.....	4
1.5. Limitaciones del estudio.....	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	6

2.1. Antecedentes	6
2.1.1. A nivel nacional	6
2.1.2. A nivel internacional	8
2.2. Bases teóricas.....	10
2.2.1. Generalidades.....	10
2.2.2. Género Streptococcus	16
2.2.3. Bacterias orales	24
2.3. Definición de términos básicos	27
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	29
3.1. Formulación de hipótesis	29
3.1.1. Hipótesis principal.....	29
3.1.2. Hipótesis específicas	29
3.2. Variables y definición operacional.....	29
3.3. Operacionalización de variables	30
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	31
4.1. Tipo y nivel de investigación	31
4.1.1. Tipo de investigación	31
4.1.2. Nivel de Investigación	31
4.2. Método y diseño de la investigación	31
4.2.1. Método de la investigación.....	31
4.2.2. Diseño de la investigación	31

4.3. Población y muestra de la investigación	32
4.3.1. Población	32
4.3.2. Muestra	32
4.4. Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos.	33
4.4.1. Técnicas	33
4.4.2. Instrumentos	33
4.4.3. Procedimientos	33
4.3. Aspectos éticos.....	37
CAPÍTULO V: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	
.....	38
5.1. Resultados de investigación	38
5.1.1. Prueba de solubilidad.....	77
5.1.2. Tamizaje fitoquímico	38
5.1.3. Ensayo microbiológico	39
CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	
6.1. Discusión de investigación.....	45
CONCLUSIONES	48
RECOMENDACIONES.....	49
FUENTES DE INFORMACIÓN.....	50
ANEXOS.....	56

Índice de tablas

Tabla 1. Bacterias patógenas del género <i>Streptococcus</i>	19
Tabla 2. Bacterias frecuentes en las infecciones dentales	25
Tabla 3. Resultados del ensayo de solubilidad	77
Tabla 4. Resultados del ensayo fitoquímico	38
Tabla 5. Halos de inhibición de ensayo microbiológico en <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	39
Tabla 6. Estadísticos descriptivos de los resultados del ensayo microbiológico	77
Tabla 7. Prueba de normalidad por Kolmogorov-Smirnov.....	40
Tabla 8. Prueba de homogeneidad de varianzas por la prueba de Levene	40
Tabla 9. Comparación de medias por el ANOVA.....	41
Tabla 10. Comparaciones múltiples por la prueba de T3 Dunnett.....	43

Índice de figuras

Figura 1. <i>Caesalpinia spinosa</i>	11
Figura 2. Frutos y vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i>	12
Figura 3. Estructuras de compuestos aislados	13
Figura 4. Bacteria <i>Streptococcus pyogenes</i>	18
Figura 5. <i>Streptococcus mutans</i>	20
Figura 6. Micrografía de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 adherida a la superficie dental.....	22

Resumen

Objetivo: Determinar la actividad antibacteriana in vitro el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia Spinosa* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Método: Investigación de tipo experimental, explicativo, prospectivo, longitudinal.

Resultados: Los metabolitos secundarios que se identificaron en la prueba de tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* fueron antraquinonas, compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas, taninos, antocianinas, azúcares reductores y saponinas. Mediante la prueba de ANOVA ($p < 0,05$), se mostró como resultado diferencia estadísticamente significativa entre los grupos experimentales y el control. Por lo tanto, el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* al 10, 20, 40 y 80% posee efecto antibacteriano in vitro frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Conclusión: El extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* presenta actividad antibacteriana frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Palabras clave: Actividad antibacteriana, *Caesalpinia Spinosa* y *Streptococcus mutans*.

Abstract

Objective: To determine the antibacterial activity in vitro of the hydroalcoholic extract of *Caesalpinia Spinosa pods* against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Method: Experimental, explanatory, prospective, longitudinal research.

Results: The secondary metabolites that were identified in the phytochemical screening test of the hydroalcoholic extract of *Caesalpinia spinosa pods* were anthraquinones, phenolic compounds, alkaloids, lactones, tannins, anthocyanins, reducing sugars and saponins. Using the ANOVA test ($p < 0.05$), a statistically significant difference between the experimental groups and the control was shown as a result. Therefore, the hydroalcoholic extract of *Caesalpinia spinosa pods* at 10, 20, 40 and 80% has an antibacterial effect in vitro against *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Conclusion: The hydroalcoholic extract of *Caesalpinia spinosa pods* has antibacterial activity against strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Keywords: Antibacterial activity, *Caesalpinia Spinosa* and *Streptococcus mutans*.

Introducción

Todas las culturas de la tierra, a través de la tradición escrita u oral, ha confiado en la gran variedad de compuestos químicos naturales que se encuentran en las plantas por sus propiedades terapéuticas (1), se consideran una rica fuente de componentes naturales de importancia medicinal. Desde la antigüedad, las plantas con propiedades terapéuticas han ocupado un lugar importante en la cura de enfermedades y tiene un arsenal de sustancias químicas que podrían ser explotadas por el ser humano para evitar la invasión microbiana. Los extractos y productos vegetales se han utilizado en el tratamiento de infecciones bacterianas, fúngicas y víricas desde la antigüedad (2).

Los medicamentos a base de hierbas son muy preferidos a los medicamentos sintéticos debido a la seguridad de sus usos, su bajo coste y su fácil disponibilidad. Se han adoptado varias tecnologías para mejorar las moléculas bioactivas de las plantas medicinales (3).

Recientemente, se ha observado un rápido aumento de los casos de microorganismos multirresistentes en todo el mundo. Esto se ha convertido en una gran amenaza para el uso de antibacterianos en la cura de varias enfermedades microbianas (4). Aún más, el fracaso total en el desarrollo de medicamentos alternativos, pero clínicamente eficaces, condujo a esta crisis (5). Por lo tanto, es prudente buscar nuevas fuentes alternativas de antibióticos derivadas de plantas superiores para hacer frente a esta alarmante crisis de resistencia a los antibióticos.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la situación problemática

En muchos países, la caries dental es un importante problema de salud bucal en los niños. En el mundo occidental, los estudios han informado que la prevalencia de caries dental a los tres años de edad fue del 15,4%, pero se encontraron fuertes asociaciones con el estado socioeconómico y el origen étnico (6).

La incidencia de caries dental en los países en desarrollo, incluido el Medio Oriente, es mucho mayor que en los países desarrollados (7). Es más, la carie se caracteriza por una adquisición temprana y un crecimiento de diversas especies de bacterias cariogénicas, como *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (8,9).

Los estreptococos son un grupo de especies bacterianas caracterizadas por producir glucanos extracelulares a partir de sacarosa y por su producción de ácido en estudios en animales y humanos (10).

Varios productos antibacterianos como clorhexidina, amoxicilina se usan para prevenir la caries dental; sin embargo, tienen varios efectos adversos, como la tinción de los dientes, el desorden de la flora oral, intestinal y la diarrea se han asociado con el uso de estos medicamentos (11).

Teniendo en cuenta la creciente ineficacia de los antibióticos en consideración, la necesidad de desarrollar nuevas estrategias de tratamiento eficientes contra las enfermedades orales ha despertado el interés en los productos naturales (10,11).

A la luz de la creciente resistencia bacteriana, los productos antibacterianos derivados de plantas podrían ser usados como parte de la terapia alternativa eficaz contra las infecciones orales.

Hasta la fecha se han caracterizado cerca de 350000 especies de plantas, miles de especies de plantas sin explorar necesitan ser estudiadas por su perfil químico o biológico y, por lo tanto, su potencial como una intervención no farmacológica para diversas enfermedades (11).

Los fitoquímicos naturales ofrecen un complemento frente al uso de los antibacterianos, representan un enfoque prometedor en la prevención y el tratamiento de diferentes infecciones a nivel estomatológico. Los microbios cariogénicos humanos más representativos incluyen *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* y algunas cepas de *Lactobacillus* (12).

Se ha demostrado que numerosos extractos de plantas medicinales inhiben la formación de biopelículas dentales al reducir la adhesión de patógenos microbianos a la superficie del diente o al disminuir el número de bacterias implicadas en la patogénesis de la caries y, otra alternativa para el tratamiento de la caries o la enfermedad periodontal se basa en la inhibición de la actividad bacteriana mediante plantas medicinales.

Proporcionan soluciones de bajo costo para la comunidad, son menos invasivas y no tienen problemas asociados a la toxicidad (13). Sin embargo, solo unos pocos productos naturales han encontrado aplicaciones terapéuticas. Las razones de este uso limitado se deben a diferentes factores como la efectividad, la estabilidad, el olor, el sabor y, por último, el costo.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Presentará actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa*?
- ¿Presentará actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* a diferentes concentraciones frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175?
- ¿Cuál de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* presenta mayor actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

1.3.2. Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa*.
- Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* a diferentes concentraciones frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- Determinar las concentraciones del extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* que presentan mayor actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

1.4. Justificación, importancia y viabilidad de la investigación

1.4.1. Justificación de la investigación

Se pretende con la presente investigación contribuir en dar sustento científico sobre la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* frente bacterias orales *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Contribuiremos al mejor conocimiento de sus propiedades biológicas como nueva alternativa terapéutica y orientar su producción y comercialización con fines terapéuticos, asimismo, contribuirá en la preparación del cuidado profiláctico de afecciones bucales de principio bacteriano con la utilización de sus metabolitos activos de extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* que causen efecto antimicrobiano.

Se beneficiarán con los resultados la industria farmacéutica en especial los dedicados a la producción de fitofármacos, la comunidad científica en continuar con estudios experimentales y la población en especial los que padecen de algún tipo de infección local de nivel oral.

1.4.2. Importancia de la investigación

A causa a la expansión del foco de los tratamientos electivos en los años actuales, los artículos caseros se han hecho famosos. Destacamos y respaldamos llanamente que los artículos naturales abordan un rico manantial de átomos bio activos con movimiento antibacteriano esperado.

El proceso de curación de heridas de origen dental puede ser facilitado por productos naturales con propiedades medicinales antimicrobianas. Estos productos de origen vegetal se han utilizado ampliamente en el tratamiento del cuidado de

infecciones de la cavidad oral con excelentes resultados.

Así mismo sus actividades fitofarmacológicas podrían ser un gran aporte en la formulación y elaboración de fitofármacos a bajo costo económico y ser factible la adquisición en nuestro medio local.

1.5. Limitaciones del estudio

- Falta de información actualizada y abundancia de trabajos con diseños experimentales en el área de la salud bucal.
- La investigación se limita a analizar solo a una población de estudio, sin embargo, puede servir de fuente para futuras investigaciones de similar interés.
- Algunas de las bibliotecas universitarias no están bien implementadas y actualizadas a nivel local, lo cual hace difícil el acceso a las fuentes científicas y empíricas.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. A nivel nacional

Delgado y Tapia, en Perú (Lima) publicaron en el 2021, el estudio: EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) FRENTE A *Streptococcus mutans*. El cual tuvieron el objetivo de demostrar el efecto antibacteriano de este extracto. La metodología fue un estudio experimental in vitro, utilizando método de difusión en pozo con agar. Los resultados mostraron que las calidades normales obtenidas por los concentrados etanólicos de *Caesalpinia spinosa* (Tara) contra el *Streptococcus mutans* han sido el 50% para el concentrado de 23,97mm + 0,05, el 75% de 24,74mm + 0,04, el 100% de 26,2mm + 0,05; el control negativo expresó un halo de inhibición de 6,02mm + 0,08 y el control positivo formado por clorhexidina al 1% fue de 36,30mm +0.05. Los autores concluyen que se evidenció el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos al 50%, 75% y 100% de *Caesalpinia spinosa* (Tara) frente a *Streptococcus mutans* (14).

Tisnado y Hurtado, en Perú (Lima) publicaron en el 2021, el estudio: EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO, IN VITRO, DEL EXTRACTO ETANÓLICO *Caesalpinia spinosa* (TARA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tuvieron el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano in vitroLa metodología fue un estudio experimental in vitro, donde se realizó el tamizaje fitoquímico y el análisis microbiológico por el método de difusión en agar. Estos resultados indicaron que las centralizaciones de (75% y 100%) que lograron la acción antimicrobiana fueron contrastadas y el grupo de referencia

(claritromicina) que demostró que las convergencias del concentrado al 100% introdujeron un impacto inhibitorio del 98,45%. Los autores concluyen que el tratamiento a *Staphylococcus aureus* ACTT 25923 con el extracto etanólico *Caesalpinia spinosa* (tara) mostró una menor adecuación. En contraste con la antimicrobiana claritromicina que es un tratamiento electivo concebido. (15)

Pareja et al., en Perú (Lima), publicaron en el 2020, la investigación: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, SOBRE BACTERIAS DE LA BIOPELÍCULA BUCAL. Ejecutaron el objetivo de determinar la actividad antibacteriana, *in vitro*, del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa*, sobre cultivos de bacterias de la biopelícula bucal. La metodología era un estudio experimental *in vitro*. Los resultados evidenciaron que el promedio del halo de inhibición formado por la aplicación del extracto etanólico de *C. spinosa* sobre el *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans* ATCC 25175, fue mucho mayor que el grupo control. Los investigadores fundamental que la *C. spinosa* demostró tener actividad antibacteriana *in vitro* frente a la presencia de *S. aureus* y *S. mutans* ATCC 25175 (16).

Cholán et al., en Perú (La Libertad), publicaron en el 2019, el estudio: EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (FABACEAE) SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Salmonella typhi* Y *Escherichia coli*. Realizaron el objetivo de determinar el efecto del extracto hidroalcohólico La metodología era experimental *in vitro*. Los resultados evidencian que *S. typhi* muestra el mayor diámetro de inhibición (29.33 mm) a una concentración de 800 mg/mL, en tanto que *E. coli* muestra un diámetro de inhibición de 24.44

mm a la misma concentración. Los académicos concluyen que el concentrado hidroalcohólico de *C. spinosa* en distintas fijaciones reprime el desarrollo de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* en régimen experimentales (17).

2.1.2. A nivel internacional

Cock, en Australia, en el 2021, desarrolló la investigación: EXTRACTOS DE LAS HOJAS DE *Mirbelia oxylobioides* CARECEN DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y NO SON TÓXICOS *in vitro*. El objetivo fue evaluar los extractos de hojas por su capacidad de inhibir el crecimiento de un grupo de patógenos bacterianos grampositivos y gramnegativos. La metodología aplicada era experimental *in vitro*. Los resultados de los extractos metanólicos y acuosos de *M. oxylobioides* fueron ineficaces para inhibir el crecimiento de paneles de bacterias grampositivas y gramnegativas. Los investigadores concluyeron que los extractos metanólicos y acuosos de las hojas de *M. oxylobioides* mostraron una actividad antibacteriana baja o nula en el ensayo de difusión en disco contra bacterias patógenas humanas(18).

Flores, en Ecuador, en el 2019, desarrolló la investigación: EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE EXTRACTOS DE *Caesalpinia spinosa*, SOBRE *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* Y *Candida albicans*. El objetivo fue determinar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico usando el método de difusión de discos. La metodología fue experimental in vitro. Los resultados mostraron que el extracto etanólico de vainas mostró un mayor diámetro de inhibición (19mm), por su parte, el extracto de semillas evidenció el más bajo (1mm). Concluyo que los extractos de *C. spinosa* podrían utilizarse como coadyuvantes en el manejo

contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, que se relacionan con patologías orales (19).

Bornaz y Bornaz, en Ecuador, en el 2018, desarrollo la investigación: EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia espinosa* (TARA) AL 60 %, SOBRE EL *Enterococcus faecalis*. El objetivo fue establecer la producción de efecto inhibitorio. La metodología fue experimental in vitro. Los resultados mostraron que, por lo tanto, aplicando la prueba de T Student ($p < 0,05$), se produjo un contraste realmente crítico entre la información adquirida para las dos sustancias. Concluyeron que la *Caesalpinia espinosa*, mostraba un impacto antibacteriano frente al *Enterococcus Faecalis*, sus acciones se modificaban y en gran parte, mejores que el Hipoclorito de Sodio (20).

Puttipan et al., en Tailandia, en el 2017, realizaron el estudio: EFECTOS DE *Caesalpinia sappan* SOBRE BACTERIAS PATÓGENAS QUE CAUSAN CARIES DENTAL Y GINGIVITIS. Tuvieron el objetivo de determinar el efecto antimicrobiano de los extractos de *Caesalpinia sappan* contra tres cepas de bacterias patógenas orales; *Streptococcus mutans* DMST9567 (Smu9), *Streptococcus mutans* DMST41283 (Smu4) y *Streptococcus intermedius* DMST42700 (Si). El método de estudio era experimental. Los resultados demostraron inhibición significativamente contra todas las cepas analizadas que otros extractos y clorhexidina al 0.12%, con una zona de inhibición de 17.5 ± 0.5 , 18.5 ± 0.0 y 17.0 ± 0.0 mm contra Smu9, Smu4 y Si, respectivamente. Los autores concluyeron que la actividad inhibidora de los extractos de *Caesalpinia sappan* contra las bacterias patógenas orales es efectiva (21).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Generalidades

a) *Especie Caesalpinia spinosa*

El género *Caesalpinia* en sí mismo ha sido particularmente problemático, ya que ha sido circunscrito de diferentes maneras por diferentes autores. En su sentido más amplio, *Caesalpinia* comprende 150 especies, pero éstas han tenido una tumultuosa historia taxonómica y nomenclatural, habiéndose colocado en hasta 30 géneros diferentes desde la descripción del género en 1753. Estos conceptos genéricos ilustran las dificultades para establecer una clasificación estable del grupo (22).

La proliferación de nombres genéricos asociados con *Caesalpinia* se debe en parte a la naturaleza a menudo compleja, confusa y altamente homoplástica de muchos caracteres morfológicos en todo el grupo, así como a la aparición de muchas endémicas restringidas en un grupo con una distribución pantropical que abarca los cinco continentes (22). *Caesalpinia spinosa* denominada tara, es un árbol leguminoso de 5 a 10 metros de alto, autóctono de América del Sur, que tiene vainas de 8 a 10 cm de largo de color rojo o amarillo pálido. Es posible hallar muy bien a las localidades de Venezuela, Ecuador, Perú, Bolivia, hasta el norte de Chile. se hace localmente en la costa peruana y en el distrito andino de elevaciones de 1000 a 2900 m sobre el nivel del océano. Así como el hábitat adecuado es el Bosque tropical estacionalmente seco a matorral espinoso semiárido (22) *Caesalpinia spinosa* (Figura 1) evidencia espinas desprendidas en los brotes; ramas glabras a puberulentas. Hojas sustitutas, bipinnadas, terminadas con un par de pinnas, a veces con

espinas en la base de las pinnas y volantes; pinnas de 2-5 conjuntos inversos; hojas inversas, 1-8 conjuntos por cada pinna, obovadas, extensamente elípticas a elípticas alargadas, cumbre ajustada, insensible, algo emarginada, base equivalente o tocada, ajustada a cuneada, 10-46 x 7-35 mm, englandular, glabra o pubescente en la superficie inferior; vena esencial centrada, venación facultativa reticulada. Inflorescencias en racimos o panículas terminales o axilares, de 5-30 cm de longitud, glabras o pubescentes, glandulares, no armadas; brácteas diminutas, generalmente de menos de 3 mm de longitud, con una punta larga y cónica, caducas. El endospermo de la semilla (22% del peso total de la semilla) produce una goma de importancia industrial (22).

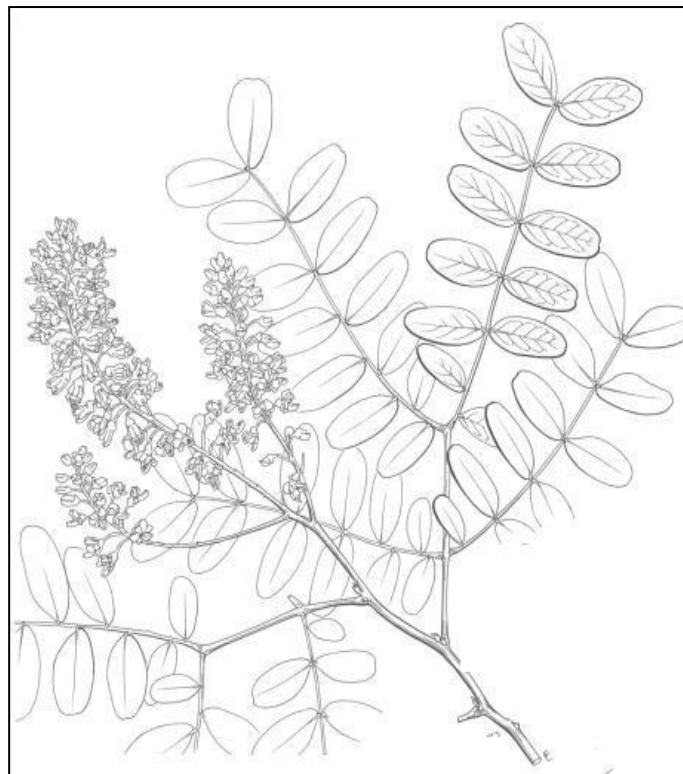


Figura 1. *Caesalpinia spinosa*

Fuente: Gagnon *et al.* (2016) (22).

Flores sexualmente unbiales, zigomorfas; cáliz, un hipanto con cinco sépalos de 6-9 mm de largo, glandulares, glabros a pubérulos, un arco sepal menor englobando sus otros 4 sépalos en ciernes (22).

Los productos orgánicos son unidades dobladas, indehiscentes, de 2 cm de ancho por 8 a 9cm de largo y de color naranja-rosado; con semillas ovoides, algo niveladas. Tienen un mesocarpio consumible y sencillo; cuando están listos son duros, de color marrón tenue o negruzco y brillantes, ya que están cubiertos por tegumento impermeable (Figura 2) (22).



Figura 2. Frutos y vainas de *Caesalpinia spinosa*

Fuente: Gagnon et al. (2016) (22).

b) Composición química

El género *Caesalpinia*, tiene en común una serie de fitoconstituyentes activos las cuales están representadas como se muestra en la Figura 3.

Las estructuras del género *Caesalpinia* presentan químicamente diterpenos con estructuras tetracíclicas con un anillo de furano fusionado o una fracción de butenólido. Algunos diterpenos de tipo cassano muestran una bioactividad significativa, que incluye efectos antipalúdicos, antibacterianos, antihelmínticos y antineoplásicos. En particular, escobarina A exhibe actividad antiproliferativa significativa contra la línea celular de cáncer K- 562 (23).

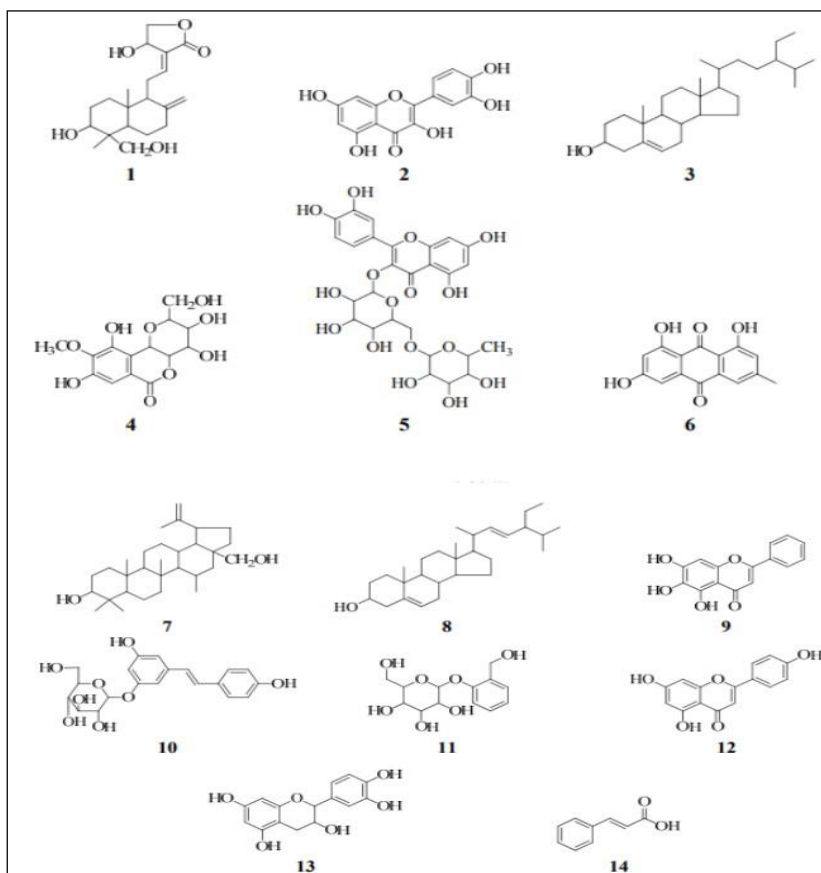


Figura 3. Estructuras de compuestos aislados

Fuente: Wei *et al.* (2013) (24)

Los compuestos aislados del género *Caesalpinia* de algunas especies incluían dos terpenoides (compuestos 1 y 7), cinco flavonas (compuestos 2, 5, 9 y 12-13), dos esteroides (compuestos 3 y 8), uno isocoumarin (compuesto 4), una antraquinona (compuesto 6), dos polifenoles (compuestos 10-11). Todos los compuestos, excepto β -sitosterol (3), estigmaserol (8), epicatequina (13) y ácido cinámico (14), se aislaron de las raíces de *Caesalpinia decapetala* (Roth) **23**. Adicionalmente fueron identificados como andrografolida (1), quercetina (2), β -sitosterol (3), bergenina (4), rutina (5), emodina (6), betulina (7), estigmaserol (8), baicaleína (9), polidatina (10), salicina (11), apigenina (12), epicatequina (13) y ácido cinámico (14) (24).

c) Acción farmacológica

Los compuestos activos de *Caesalpinia decapetala* (Roth), se evaluaron las actividades antitumorales y antioxidantes de estos compuestos. Los resultados revelaron que la emodina, la baicaleína y la apigenina mostraron actividades antitumorales significativas contra las líneas celulares MGC-803 (24).

La mayoría de los flavonoides mostraron capacidades significativas de eliminación de radicales libres, con baicaleína, epicatequina, quercetina y rutina mostrando actividades más fuertes que el ácido ascórbico(24). El efecto antioxidativo de los flavonoides puede guardar relación con sus estructuras. La actividad antioxidante es más significativa en los flavonoides, y las actividades antioxidantes de los flavonoides se realizan mediante la inactivación de los radicales libres(24).

Estudios recientes han informado propiedades de los taninos como especialista en astringencia, en la eliminación de

parásitos y como antipirético. Asimismo, ha sido reportado de que reduce el colesterol sérico y los aceites grasos, y de que sofoca la lipogénesis activada por la insulina. Mientras tanto, otros estudios revelaron que su actividad antioxidante parece estar correlacionada con su capacidad quelante de cobre (25). En una investigación con extracto de tara ubicaron el fitoquímico denominado gallotanino obtenido de vainas y semillas de *C. spinosa*, induce una pérdida de potencial de membrana mitocondrial, fragmentación de núcleos y apoptosis dependiente de caspasa in vitro en varias células tumorales. También reduce la metástasis de pulmón y bazo sobre su ejemplo de cáncer de mama de ratón 4T1, lo que sugiere que tiene cierta actividad contra Células madre cancerosas, el tipo de célula primaria responsable de la metástasis tumoral, la resistencia a los medicamentos y la recaída (26,27).

Los estudios se han centrado principalmente en los taninos de *C. spinosa*. Pocos informes están disponibles sobre los componentes no taninos de esta especie. Debido a los diversos diterpenoides de tipo cassano, las plantas de *Caesalpinia* han llamado mucho la atención. Los diterpenoides de tipo cassano mostraron diversas actividades, entre las cuales las actividades citotóxicas (28), se aisló dos nuevos homoisoflavanos y una 3-bencil cumarina, junto con siete compuestos fenólicos, del extracto de etanol de las ramas y hojas de tara (29).

d) Usos de *Caesalpinia spinosa*

Las implantaciones de tara han sido habitual y ampliamente utilizadas en la medicación del pueblo peruano para el tratamiento de las anginas, la fiebre, el refriado y el malestar de vientre. Las unidades de tara (sin semillas) representa aproximadamente el 65% (en masa) del producto natural. las unidades de tara molidas son ricas en taninos

hidrolizables(entre el 40 y 60% en masa), siendo el corrosivo gálico la parte principal.(25,27). Los taninos de tara se utilizan en la producción de muebles de piel de vaca, como clarificador del vino y como fuente del agente de prevención del cáncer corrosivo gálico utilizado en el negocio del aceite. Las propiedades antiinflamatorias, antifúngicos, antibacterianos y antisépticos se han atribuido a los taninos de tara (25,27).

Las semillas de tara son la fuente de una goma espesa que se usa en varios alimentos y en la pintura. Además, las unidades de tara se pulverizan y se utilizan como sustancia natural para la extracción de diferentes mezclas que poseen soluciones fascinantes en relación con las empresas de restauración, clínicas y sintéticas y de medicamentos. Así mismo, sus concentrados han sido contabilizados por tener ejercicios antitumorales, antimicrobianos y de prevención del cáncer. (25).

Los extractos de vaina de tara son beneficiosos en ácido gálico y taninos se aplicaron con éxito para aumentar la estabilidad a la oxidación de los aceites y las emulsiones de aceite en agua. Aunque todavía no se informa en la literatura, las vainas de tara podrían incorporarse en productos cárnicos cocidos como fuente de antioxidantes naturales para prolongar la calidad y la estabilidad (25).

2.2.2. Género *Streptococcus*

El género *Streptococcus* están conformada por varias especies de bacterias grampositivas que se distribuyen ampliamente en la flora normal de humanos y animales. Causan diversas enfermedades humanas, y muchas de estas especies tienen el potencial de causar infección invasiva como resultado de la

presencia de bacterias en un sitio normalmente estéril. Muchas de estas infecciones invasivas son de considerable trascendencia en el ámbito de salud pública; por ejemplo, en todo el planeta, la enfermedad neumocócica causa anualmente más de 800 000 fallecimiento en infantes con menos de 5 años (30,31).

Las especies de *Streptococcus* se encuentran principalmente en la cavidad oral y la nasofaringe y forman una porción significativa de la microbiota normal de humanos y animales. En individuos sanos, la microbiota normal es inofensiva, sin embargo, pueden causar infección en ciertas condiciones, como la etapa inmunocomprometida. Las especies de *Streptococcus* tenemos: *S. pyogenes*, *S. agalactiae* y *S. pneumoniae* (30).

El género *Streptococcus* también se pueden agrupar en función de las diferencias morfológicas, el tipo de hemólisis en agar sangre, las reacciones bioquímicas, la proteína asociada a pili de la pared celular y la cápsula de polisacárido (específica para los estreptococos del grupo B). Hasta la fecha, se han propuesto más de 85 tipos antigénicos en cápsulas de *S. pneumoniae* , 124 serotipos de *S. pyogenes* (Figura 4) y nueve serotipos CPS(polisacárido capsular) de *S. agalactiae* (30).

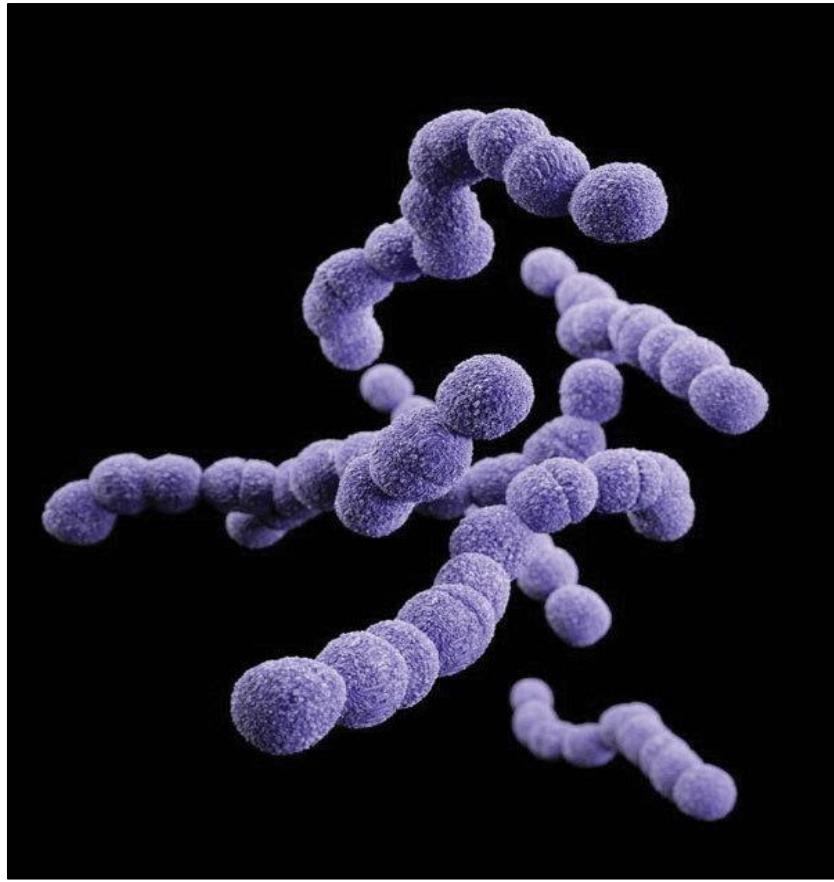


Figura 4. Bacteria *Streptococcus pyogenes*

Fuente: Emerging Infectious Diseases (31).

Las enfermedades causadas por *Streptococcus* varían desde dolencias que no suponen riesgo la vida como caries dental, faringitis (faringitis estreptocócica) hasta afecciones que amenazan la vida, como la fascitis necrotizante y la meningitis (Tabla 1). De todos los estreptococos orales, *S. mutans* se considera el agente etiológico de la caries dental.

De acuerdo con investigaciones realizadas en los países industrializados, gastan del 5% al 10% en servicios de salud pública en enfermedades periodontales, caries y atención dentales relacionada. Sin duda, una de las enfermedades más habituales a nivel mundial es la caries dental. (32).

Tabla 1. Bacterias patógenas del género Streptococcus

Organismo	Enfermedades	Sitio de adherencia
<i>S. mutans</i>	Caries dental Placa dental Endocarditis	Superficie del diente, otras bacterias presentes en la biopelícula en la superficie del diente
<i>S. pyogenes</i>	Faringitis Celulitis Síndrome de shock tóxico estreptocócico	Superficies mucosas de faringe, piel
<i>S. agalactiae</i>	Fiebre reumática	
<i>S. pneumoniae</i>	Sepsis neonatal Meningitis Infección sistémica Otitis media Neumonía Meningitis Laringitis	Superficies mucosas de vaginas y rectas de mujeres embarazadas, pie Membranas mucosas de la nasofaringe

Fuente: Kondo *et al.* (2019) (32).

Los Streptococcus tienen una variedad de potentes factores de virulencia que les permiten causar infecciones tan diversas. Las adhesinas son uno de esos factores porque juegan un papel importante en la colonización (32).

Las adhesinas y los factores de virulencia de los estreptococos se han revisado ampliamente la capacidad de carcinogenicidad de *S. mutans* (Figura 5) en gran parte, dependerá de la habilidad de las bacterias para adherirse y producir ácido. Las

glucosiltransferasas de *S. mutans* ayudan en el proceso de adhesión al sintetizar glucano insoluble a partir de sacarosa (32).

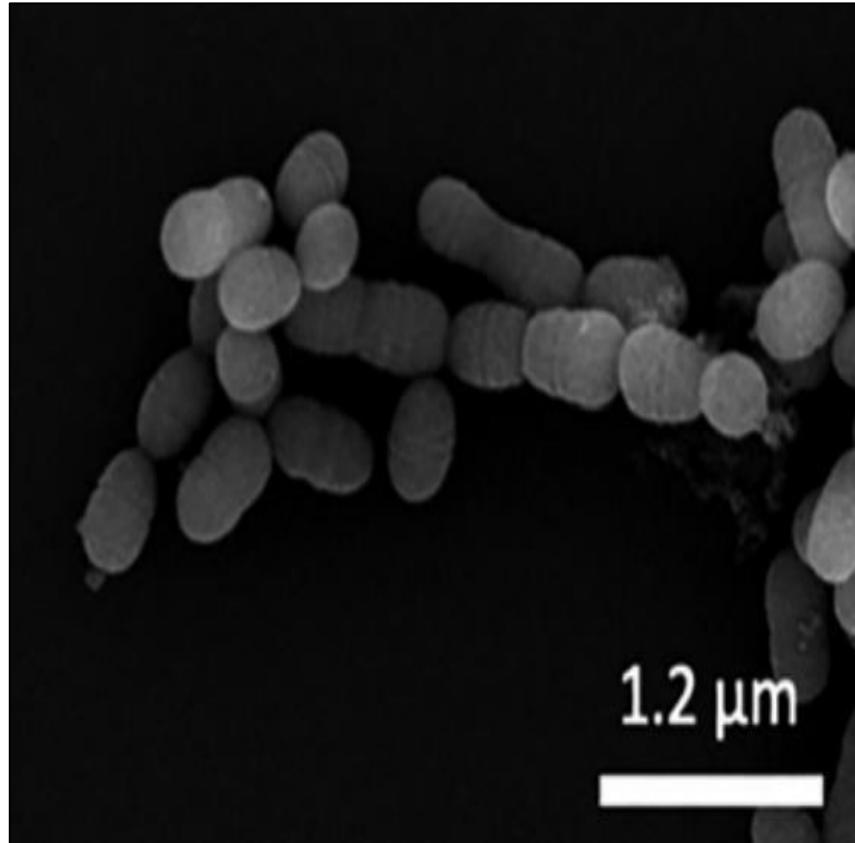


Figura 5. Streptococcus mutans

Fuente: Kondo *et al.* (2019) (32).

Streptococcus pyogenes produce proteínas extracelulares que han demostrado dar lugar a la notable virulencia del organismo, desencadenando una respuesta inmunológica inespecífica del huésped. Los factores de virulencia específicos ayudan a *S. pyogenes* a unirse al tejido del huésped, eluden la fagocitosis y propagarse infiltrando las capas epiteliales del huésped, seguidode colonización (33).

En el caso de *S. agalactiae*, la virulencia mayor y los factores patogénicos permiten que la bacteria estimule el síndrome de sepsis, se adhiera a la invasión de la superficie epitelial y evite

la fagocitosis. *S. agalactiae* se une a las células huésped a través de fibronectina, fibrinógeno y laminina (33).

Para *S. pneumoniae*, se ha sugerido que varias proteínas, incluidas la hialuronato liasa, la neumolisina, las neuraminidasas, la autolisina principal, la proteína de unión a colina, el antígeno de superficie a neumocócico, son factores asociados a la virulencia de esta bacteria. Además, la cápsula de polisacárido se considera un factor clave de virulencia (34).

Los recientes avances científicos han podido determinar que el principal factor asociado a enfermedades bucales es la desmineralización provocada por los subproductos ácidos de las bacterias fermentadoras orales. Justamente las bacterias acidófilas como *Streptococcus mutans* ATCC 25175 son necesarias para que se produzca la caries dental. Se han desarrollado varias opciones de tratamiento y actualmente se utilizan en odontología como terapias de primera línea para esta afección (35).

S. mutans ATCC 25175 (Figura 6) es un colonizador pionero, que apoya la conexión de los seres vivos progresivos y es clave en la mejora de las Biopelículas orales. Se trata de una bacteria comensal que, en general, circula por la fosa oral. Existe en las interfaces de los dientes, en las interfaces de la mucosidad bucal y en la salivación humana.

S. mutans ATCC 25175 es abundante tanto en la placa supragingival como en la subgingival. En diferentes ubicaciones de los dientes, está presente en altas proporciones en los sitios incisivos y caninos inferiores de los dientes (35).

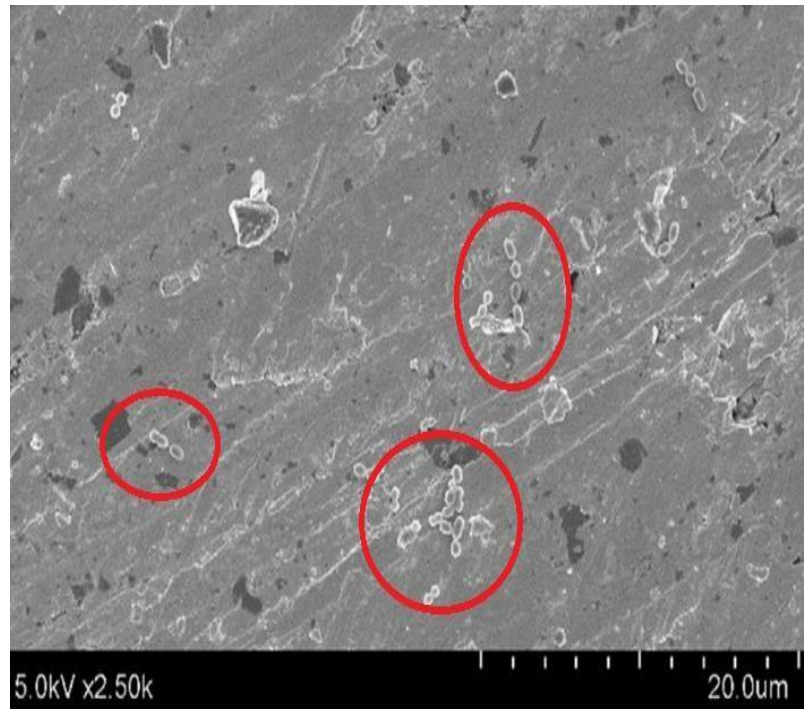


Figura 6. Micrografía de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 adherida a la superficie dental

Fuente: Hung *et al.* (2016) (35).

También se ha demostrado que *S. mutans* ATCC 25175 forma biofilm en diferentes superficies de implantes dentales. La incidencia de complicaciones periimplantarias aumenta significativamente en pacientes con periodontitis. Algunas investigaciones muestran que el desarrollo de la placa de las pastillas dentales provoca una mucositis periembral. Sin embargo, todavía no está claro si *S. mutans* ATCC 25175 promueve o reduce este efecto (34).

La cavidad oral parece ser el hábitat principal de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Es el tipo de bacteria más obvio que se encuentra en las placas dentales y vive más adecuadamente en las superficies planas de los dientes. *S. mutans* ATCC 25175 también puede estar ubicada en heces aisladas y puede causar hasta el 31,9% de los casos de endocarditis (34).

a) Evidencia clínica de *S. mutans* ATCC 25175

El establecimiento de *S. mutans* ATCC 25175 en la cavidad oral ocurre con la erupción de los dientes primarios, que se bañan en saliva y líquido crevicular gingival, un transudado sérico de la grieta gingival. Existe evidencia clínica de que la colonización dental por *S. mutans* ATCC 25175 inhibe el establecimiento de especies competidoras patógenas, por ejemplo, el patógeno de la caries *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estos hallazgos son compatibles con la capacidad de *S. mutans* ATCC 25175 para inhibir el crecimiento de *S. mutans* a través de la producción de peróxido de hidrógeno. Sin embargo, no se entienden los mecanismos moleculares por los cuales *S. mutans* ATCC 25175 inicia competitivamente la colonización dental (36).

Como colonizador pionero de dientes, *S. mutans* ATCC 25175 necesita interactuar con los componentes de la película dental, una capa acelular formada en las superficies de los dientes compuesta de componentes salivales, epiteliales y séricos. Las células adheridas entonces inician su crecimiento sésiles, que afecta a condiciones oxidativas locales y la producción de peróxido de hidrógeno (H₂O₂), que a su vez inhibe el crecimiento de especies competidoras y promueve la liberación de ADN bacteriano, un componente importante de la matriz extracelular de las biopelículas en maduración (36).

Por lo tanto, para establecerse en la cavidad oral, *S. mutans* ATCC 25175 necesita cambiar la expresión de los genes propios para la persistencia en los fluidos orales (saliva entera) con la expresión de genes para la formación de biopelículas durante las transiciones cíclicas de los modos de crecimiento planctónico a biofilm (36).

S. mutans ATCC 25175 es el agente etiológico de varias enfermedades extraorales. La más destacada es su asociación con la endocarditis infecciosa, que es una enfermedad relativamente rara pero potencialmente mortal que afecta las válvulas cardíacas o el endocardio de pacientes con defectos cardíacos predisponentes (37,38)

En casos aún más raros, se ha informado que *S. Streptococcus mutans ATCC 25175* causameningitis y bacteriemia severa, a veces como resultado de procedimientos quirúrgicos o cáncer (39).

Se ha informado que la aterosclerosis es exacerbada por patógenos periodontales, que inducen inflamación vascular después de ingresar al torrente sanguíneo. Entre las bacterias autóctonas orales, tales como *Streptococcus Streptococcus mutans ATCC 25175* y *S.anginosus* están relacionadas con trastornos sistémicos, como la endocarditis infecciosa y el absceso, y a veces se detectan en placas ateroscleróticas humanas o en sangre (40)

2.2.3. Bacterias orales

La cavidad oral humana contiene más de 500 especies bacterianas diferentes (Tabla 2). Estos organismos pertenecen a varios filos, como Bacteroidetes, Firmicutes, Tenericutes, Actinobacteria, Proteobacteria, Euryarchaeota, Chlamydiae y Spirochaetes. Muchos de estos tienen la capacidad de colonizar las grietas gingivales y la superficie externa del diente formando biopelículas que a menudo conducen a la formación de placa dental. Estas bacterias producen ácido que erosiona los dientes y causa caries o infecciones (41)

El diagnóstico de estas infecciones a menudo es clínico y los antibióticos se usan empíricamente para tratar algunas

infecciones o como profilaxis.

La caracterización, el diagnóstico definitivo y las pruebas de susceptibilidad de las infecciones bacterianas orales son valiosas para guiar la terapia adecuada y en la prevención de la enfermedad (41).

Tabla 2. Bacterias frecuentes en las infecciones dentales

Gram positivo	Gram negativo
<i>Streptococcus spp</i>	<i>Bacteroides forsythus</i>
<i>S. Streptococcus mutans ATCC 25175</i>	<i>Porphyromonas spp</i>
<i>S. constellatus</i>	<i>Prevotella spp</i>
<i>S. intermedius</i>	<i>Fusobacterium</i>
<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>F. nucleatum</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>F. polymorphum</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>F. vincentii</i>
<i>Actinomyces</i>	<i>F. periodonticum</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Veillonella párvula</i>
	<i>Eikenella corrodens</i>

Fuente: Reynolds *et al.*(2017) (41).

Un estudio japonés informó que se identificó una infección diversa de anaerobios estrictos con anaerobios facultativos, especialmente bacterias gramnegativas estreptocócicas comensales conocidas como *Streptococcus viridans*, como los principales patógenos responsables de infecciones dentoalveolares, periodontitis y pericoronitis (42)

Otro estudio identificó a *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus micros*, especies de *Porphyromonas* y especies de *Prevotella* como culpables de la infección dento alveolar. Además, se encontró que el 34% de las especies de *Prevotella* producen

beta-lactamasa (42).

El género microbiano *Peptostreptococcus* fue identificado por otro grupo de investigadores como responsable de la periodontitis progresiva. Múltiples estudios revelaron flora polimicrobiana con participación frecuente de patógenos anaerobios gramnegativos (42).

En términos de infección clínica, lo importante no es solo el tipo de bacteria, así como la carga bacteriana. Una carga bacteriana elevada es crítica, ya que puede provocar una Cámara volverían a sustancial que puede superar los instrumentos de protección del hospedador.

Se ha informado que las cargas bacterianas totales por caso de absceso oscilan entre 10⁴ y 10⁹ células (43).

Un aumento de la carga bacteriana puede aumentar la variedad de entidades orgánicas, lo que puede provocar numerosas comunicaciones sinérgicas entre los individuos del área local y producir un aumento del factor de nocividad. Las interacciones entre los miembros de una comunidad bacteriana pueden alterarla producción de factores de virulencia (43).

En una infección polimicrobiana, incluso las especies consideradas como avirulentas y/o en números bajos en el consorcio pueden afectar de alguna manera la virulencia de otros miembros de la comunidad. La presencia de una cepa virulenta en recuentos altos tiene la capacidad de ampliar la destructividad de toda la zona local y conducir a una enfermedad más severa (43)

2.3. Definición de términos básicos

- **Bacterias:** Las bacterias son microorganismos unicelulares que carecen de membrana nuclear, son metabólicamente activos y se dividen por fisión binaria. Superficialmente, las bacterias parecen ser formas de vida relativamente simples; de hecho, son sofisticados y altamente adaptables (44).
- **Caries dental:** La caries dental constituye en una patología bacteriana irresistible que influye en el tejido calcificado del diente. Los microbios orales como *Streptococcus mutans* ATCC 25175 metabolizan los carbohidratos fermentables y producen ácido láctico, lo que reduce el pH oral a un nivel en el que los minerales de la dentina y el esmalte se disuelven fácilmente (45).
- **Concentración inhibitoria mínima (CIM):** Es la efectividad de un agente antimicrobiano contra un organismo objetivo. Entérminos generales, la CIM es la agrupación base del concentrado necesario para dificultar el desarrollo bacteriano (46).
- **Fabaceae:** Las Fabaceae comúnmente conocidas como la familia de las leguminosas, son una familia grande y económicamente importante de plantas con flores. Incluye árboles, arbustos y plantas herbáceas perennes o anuales, que se reconocen fácilmente por su fruto (leguminosa) y sus hojas compuestas, estipuladas. Muchas legumbres tienen flores y frutos característicos (47)
- **In vitro:** Los estudios *in vitro* ofrecen la ventaja de la manipulación enfocada de biomateriales específicos en experimentos bien controlados. Al apuntar a cascadas específicas, los investigadores son más capaces de comprender las respuestas de variables específicas en un entorno cerrado con el objetivo de predecir las respuestas futuras en modelos animales preclínicos y en humanos (48).

- **Metabolitos secundarios:** Los metabolitos secundarios funcionan de manera prominente para proteger a las plantas contra los depredadores y microbios de acuerdo con la naturaleza tóxica de los microbios. Algunos metabolitos secundarios ayudan a las plantas a comunicarse con otros organismos y son significativamente importantes para el crecimiento y el desarrollo (49).

- **Microorganismos multirresistentes:** Los microorganismos multirresistentes con el tiempo, son resistentes a los antimicrobianos lo que disminuye la eficacia clínica de los antibióticos, poniendo en riesgo la salud de los seres humanos. El dramático aumento de microorganismos multirresistentes hace que las enfermedades infecciosas sean un desafío para la medicina en todo el mundo (50).

- **Plantas medicinales:** Las plantas medicinales son importantes en el manejo de diversas clases de patologías. Está documentado que proporcionan una fuente prometedora de fármacos y compuestos de plantas antimicrobianos potencialmente valiosos o sus extractos preferiblemente muestran actividad contra una amplia gama de microorganismos (51).

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Formulación de hipótesis

3.1.1. Hipótesis principal

El extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

3.1.2. Hipótesis específicas

- Los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* son: compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas y alcaloides.
- El extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* a diferentes concentraciones presenta actividad antibacteriana *in vitro*.
- La concentración del extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* que presenta mayor actividad antibacteriana es 100 mg/mL.

3.2. Variables y definición operacional

Variable independiente	Extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i>
Variable dependiente	Efecto antibacteriano

3.3. Operacionalización de variables

A continuación, en el siguiente cuadro se detalla la Operacionalización de variables:

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Variable independiente :Extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i>	Los extractos hidroalcohólicos se elaboran en alcohol de 70 y 96 grados, facilitando la extracción de metabolitos secundarios	Metabolitos secundarios	- Compuestos fenólicos - Flavonoides - Taninos, - Saponinas - Alcaloides	Presente (+) Ausente (-)
Variable dependiente: Efecto antibacteriano	Es la inhibición en el desarrollo y crecimiento de las bacterias. Impidiendo su capacidad de sobrevivencia	Cepa bacteriana	Medición del halo de inhibición	Nula < 8mm Limite 9-14 mm Media: 15-19 mm Sensible >=20mm
		Concentraciones	- 10 mg/mL, - 20 mg/mL, - 40 mg/mL, - 80 mg/mL	0-100%

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Tipo y nivel de investigación

4.1.1. Tipo de investigación

El tipo de investigación será experimental; ya que se determinará el efecto de una o más variables, en la cual el investigador manipula las condiciones de la investigación. La técnica para llevar a cabo el experimento se desarrolla en un entorno controlado fuera de un organismo vivo.

Prospectivo; ya que los datos se analizan en un concreto tiempo hacia el futuro.

Longitudinal; porque es un estudio cuya base es la experiencia a lo largo del tiempo.

4.1.2. Nivel de Investigación

El nivel es de tipo explicativo porque trata de explicar un fenómeno por el cual se busca establecer en forma confiable la relación entre las variables en cuestión.

4.2. Método y diseño de la investigación

4.2.1. Método de la investigación

Se aplicará el método científico porque es sistematizado y ordenado y emplearemos la observación científica. Como técnica, comprende la impresión inmediata del objeto de examen. La percepción perspicaz es el instrumento general del investigador. La percepción permite conocer la realidad a través de la visión directa de artículos y peculiaridades

4.2.2. Diseño de la investigación

El diseño de investigación será de tipo experimental, porque se trabajará con grupos controles y se manipulará la variable independiente. Durante la investigación experimental, el

investigador investiga el tratamiento de una intervención en el grupo de estudio y luego mide los resultados del tratamiento (52).

4.3. Población y muestra de la investigación

4.3.1. Población

La población estará compuesta por la especie *Caesalpinia spinosa* y serán recolectadas en las quebradas del río Chancay, ubicado en la localidad de Chancay a 150 m.s.n.m de la provincia y departamento de Lima.

4.3.2. Muestra

La muestra es el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa*

a) Criterios de inclusión

- Extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* libre de contaminación
- *Caesalpinia spinosa* localizado en la zona de Chancay
- Soluciones del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* libre de alteraciones en su consistencia, color, caducidad y conservación.

b) Criterios de exclusión

- Especie de *Caesalpinia spinosa* con presencia de microorganismos patógenos.
- *Caesalpinia spinosa* ubicados en departamentos del centro y sur del Perú.
- Soluciones del extracto de *Caesalpinia spinosa* asociado a solventes de etanol y metanol.

4.4. Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos.

4.4.1. Técnicas

La técnica será la observación directa. La observación, como procedimiento, se puede emplear en varias instancias de una investigación más complicada: en si fase subyacente se utiliza en la búsqueda del tema a investigar y muy útil en el plan de investigación.

La prueba de solubilidad del agua en los extractos vegetales establece el límite superior para las concentraciones libremente disueltas en soluciones acuosas. La solubilidad también es importante para la absorción en los vegetales de sustancias químicas. Por tanto, es un parámetro esencial en el descubrimiento y desarrollo de fármacos (53).

La técnica microbiológica será el método Kirby-Bauer (método de difusión en agar). La prueba de sensibilidad antimicrobiana es un procedimiento de laboratorio para identificar qué régimen antimicrobiano es específicamente efectivo para los pacientes que plantean sospechas de infección por patógenos específicos según la manifestación de la enfermedad y la correlación clínica (44).

4.4.2. Instrumentos

Los instrumentos serán las fichas de observación. Los instrumentos utilizados por la hoja de percepción serán para registrar la descripción minuciosa de las muestras a observarse. Además, este instrumento permite la recolección de datos, basado en los objetivos específicos.

4.4.3. Procedimientos

Para el desarrollo de la prueba en general se tomará en cuenta principalmente el método aplicado por Haghgoo *et al.*

(54), la misma que se desarrollará en algunos eventos del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (EHCS).

a) Obtención del EHCS

- Se usará vainas de *C. spinosa* anteriormente trabajadas. Estas muestras, se limpiarán y desinfectarán con cloro al 1%.
- Una vez desinfectadas se procederá a colocarlas en un ambiente de secado por 48 horas para evitar la humedad.
- Se continuará con la separación de las semillas de las vainas de *C. spinosa*, introduciéndolas en una mortadela para pulverizarlas.
- Se pesará 60 gramos de polvo de las vainas de *C. spinosa* se colocará en un frasco de vidrio de color ámbar y se le adicionará 200 ml de alcohol 70°, dejándose macerar por 10 días.
- El producto será filtrado 3 veces, primero con papel filtro Whatmann N° 41, un segundo filtrado será con papel filtro Whatmann N° 2 y por último un tercer filtrado en papel Whatmann N° 1.
- Se obtendrá un extracto purificado libre de gérmenes.
- Los extractos se almacenarán en tubos de 15 mL de plástico en un bastidor sin la exposición al sol y a una temperatura de 4 ° C hasta su uso posterior.
- A partir de la masa de extracto seco de *C. spinosa* se preparará concentraciones diluidas de 10 mg/mL, 20 mg/mL, 40 mg/mL y 80 mg/mL, las que serán almacenadas en frascos color ámbar estériles y se mantendrán refrigerados hasta que estas concentraciones se coloquen en discos de papel de filtro para la evaluación antibacteriana respectiva.

b) Cultivos bacterianos

Las cepas estándar anaeróbicas empleadas en el estudio

serán proporcionadas por la American Type Culture Collection: *S. Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Como tales serán identificados por especie y género.

- Las bacterias se cultivarán en placas de Agar Tripticasa Soya (TSA) y se incubará a 37 ° C durante 72 horas en régimen anaeróbicas. Los cultivos se diluyeran en una solución salina estéril a una densidad de escala de McFarland de 0.5, que corresponde a una concentración de aproximadamente 1.5×10^8 UFC/mL.

c) Siembra de la muestra

- Se utilizará el método de difusión en agar. El medio de cultivo que se tomará en cuenta el TSA y se tomará 100 microlitros (uL) de la muestra estandarizada y se colocará sobre el medio sólido de cultivo TSA.
- Se sembrará por diseminación con un hisopo estéril sobre toda la zona de la placa petri. Se dejará en un lapso de tiempo de 3 a 5 minutos para su secado.

d) Preparación de los discos de sensibilidad a diferentes concentraciones del EHCS

- Tras realizar el plantado de la muestra y verificado la solidificación del Agar TSA en la placa Petri, se colocarán sobre la plantación de la muestra placas absorbidas por diversas centralizaciones de EHCS.
- Se fraccionarán los discos de papel Whatmann N° 1 de 6 mm de diámetro. La distribución será: 01 disco de 10 mg/mL (EHCS) en el centro, 01 disco control de clorhexidina al 0,12% y 04 discos alrededor con diferentes concentraciones (10, 20, 40 y 80 mg/mL) del (EHCS).

e) Determinación de la actividad antibacteriana

- La técnica usada corresponde al método Kirby-Bauer (método de difusión en agar)
- El halo de inhibición se tomará como sustento teórico la concentración inhibitoria mínima de cada extracto.
- Cada extracto se diluirá a concentraciones que oscilan entre 10 mg/mL a 80 mg/mL y luego se agregará por separado a los discos. Luego, se proporcionará 100 uL de cada suspensión bacteriana (escala de 0.5 McFarland) a estos discos y luego se incubará a 37°C durante 48 horas en condiciones anaeróbicas y será medido el diámetro de los halos formados con un calibrador.
- La totalidad de la operación se actuará en una cabina de flujo laminar a fin de conservar las condiciones reesterilidad.

f) Procesamiento de datos

El presente trabajo utilizará un instrumento que recopilará el Investigador.

El instrumento tiene la siguiente característica: posee una capacidad de recoger y grabar información acerca de la estimación singular de los halos en mm, conformada por cada círculo existente en las placas cultivadas.

Veinticuatro horas después de la siembra, se toman las lecturas y se rellena el formulario de recopilación, teniendo en consideración;

- Determinación de la operación utilizada
- La medición en milímetros del halo de inhibición producido.

Se utilizará un examen de cambio en una sola dirección (ANOVA unidireccional) a fin de determinar si existe un contraste realmente crítico para la variable evaluada entre los grupos y dentro de ellos, se realizará una investigación post

hoc utilizando la prueba t3 de Dunnet. El nivel de importancia es de 95% ($p < 0,05$). Se utilizará el programa estadístico SPSS versión 26.

4.3. Aspectos éticos.

Este estudio se realizará de manera que minimice el posible daño al medio ambiente. Los especialistas tienen la obligación de hacer accesibles a la sociedad en general las consecuencias de sus resultados de su investigación y son responsables de la culminación y exactitud de sus informes (55).

De manera semejante, se considerará: No maleficencia, obligaciones relacionadas con no hacer daño, incluidas las obligaciones de minimizar riesgos o tomar precauciones contra posibles riesgos o daños del experimento. Beneficencia, obligaciones de hacer el bien, incluidas las obligaciones de quitar el daño existente, o de prevenir el daño o los riesgos que no se originan en el experimento (56).

CAPÍTULO V: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. Resultados de investigación

En el presente apartado se muestran los resultados de los análisis realizados en la investigación.

5.1.1. Tamizaje fitoquímico

La tabla 3 muestra los resultados del tamizaje fitoquímico.

Tabla 3. Resultados del ensayo fitoquímico

N°	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO
1	Borntrager	Antraquinonas	+
2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	-
4	Dragendorff	Alcaloides	+++
5	Mayer	Alcaloides	-
6	Wagner	Alcaloides	+++
7	Baljet	Lactonas α , β -insaturadas	+++
8	Gelatina	Taninos	++
9	Gelatina-sal	Taninos	++
10	NaOH 10%	Antocianinas	+
11	Benedict	Azúcares reductores	+
12	Fehling A y B	Azúcares reductores	+
13	Espuma	Saponinas	++
14	Shinoda	Flavonoides	-
15	Ninhidrina	Aminoácidos libres	-

(-): Ausencia; (+): Mínima; (++) : Mediana (+++): Abundante presencia

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 3 se observa que en las pruebas de Borntrager, cloruro ferrico, Dragendorff, Wagner, Baljet, gelatina, Hidróxido de Sodio 10%, Benedict, Fehling A y B, y espuma las identificaciones fueron positivas, hallándose lo siguiente: Antraquinonas, compuestos fenólicos, terpenos, esteroides, alcaloides, lactonas α,β -insaturadas, taninos, antocianinas, azucares

reductores y saponinas. Cabe resaltar que no se logró identificar terpenos, aminoácidos libres ni flavonoides.

5.1.2. Ensayo microbiológico

La tabla 4 muestra los resultados del ensayo microbiológico.

Tabla 4. Halos de inhibición de ensayo microbiológico en *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm					
	80%	40%	20%	10%	Perio Aid	Etanol 70°
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	11,95	10,17	9,18	7,97	14,18	6
	11,93	10,18	9,19	7,93	14,15	6
	11,94	10,16	9,19	7,96	14,17	6
	11,98	10,19	9,16	7,94	14,15	6
	11,91	10,16	9,15	7,91	14,17	6
	11,94	10,16	9,14	7,96	14,19	6
	11,95	10,18	9,16	7,92	14,14	6
	11,96	10,15	9,19	7,91	14,17	6
	11,94	10,13	9,15	7,94	14,18	6
	11,97	10,17	9,18	7,94	14,16	6
Media	11,95	10,17	9,17	7,94	14,17	6

*Tamaño de discos: 6mm, por lo que al reportarse 6mm es indicativo que no existe formación halo de inhibición

*Concentración del inóculo: 1.5×10^8 UFC/mL

En la tabla 4 se muestran los resultados del ensayo microbiológico in vitro. Esto hace evidencia que el mayor halo de inhibición medio lo obtuvo el grupo Perio Aid (Clorhexidina 0,12 %) con 14,17 mm frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Sin embargo, el grupo experimental extracto al 80% evidenció un halo de inhibición medio de 11,95 mm, seguido de los extractos al 40 %, 20 % y 10 % con halos de inhibición medios de 10,17, 9,17 y 7,94 mm.

Para determinar la docimasia de la hipótesis planteada es indispensable saber si la distribución de los resultados del ensayo microbiológico in vitro es normal o no y si los mismos presentan homogeneidad en sus varianzas. Para esto, se usaron las pruebas estadísticas de normalidad (tabla 5) y el test de Levene (tabla 6).

Se reitera la sugerencia que los datos que no corresponden directamente a los objetivos planteados deben estar en anexos.

Tabla 5. Prueba de normalidad por Kolmogorov-Smirnov

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
<i>Streptococcus mutans</i>	,123	60	,024	,917	60	,001
a. Corrección de significación de Lilliefors						

La tabla 5 muestra que el valor de la significancia asintótica bilateral es menor al 0.05 según la prueba de Kolmogorov-Smirnov para los resultados del ensayo microbiológico in vitro. Esto es evidencia de que no existe una distribución normal en los resultados.

Tabla 6. Prueba de homogeneidad de varianzas por la prueba de Levene

Prueba de homogeneidad de varianzas				
	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
<i>Streptococcus mutans</i>	4,661	5	54	,001

La tabla 6 muestra que el valor de la significancia asintótica bilateral es menor al 0.05 según la prueba de Levene para los resultados del ensayo microbiológico in vitro. Esto es evidencia de que no existe homogeneidad en las varianzas de los resultados.

Ya que no se evidenció una distribución normal ni homogeneidad en las varianzas de los resultados, se ejecutó un estadístico inferencial para determinar diferencia de medias mediante el análisis de varianzas (ANOVA). La tabla 7 muestra un valor de significancia asintótica bilateral menor al 0.05 para los resultados del ensayo microbiológico in vitro con la cepa bacteriana *Streptococcus mutans*. Esto es evidencia de que existe diferencia estadísticamente significativa entre los halos de inhibición medio de todos los grupos en el ensayo microbiológico según el estadístico ANOVA.

Tabla 7. Comparación de medias por el ANOVA.

ANOVA					
<i>Streptococcus mutans</i>					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	420,530	5	84,106	288363,137	,000
Dentro de grupos	,016	54	,000		
Total	420,545	59			

Para determinar si existe diferencias entre los halos de inhibición medio entre los grupos mediante múltiples comparaciones se utilizó el estadístico de T3 Dunnett. La tabla 8 muestra que los valores de significancia asintótica bilateral son menores al 0.05 en las comparaciones entre los grupos extractos al 10, 20, 40 y 80% frente al grupo Control (Etanol 70°) en el ensayo microbiológico con la cepa bacteriana *Streptococcus mutans*. Esto es evidencia de que existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos experimentales y el control. Sin embargo, se evidencia una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo Perio Aid (Clorhexidina 0,12 %) y los grupos experimentales que favorece al grupo Perio Aid (Clorhexidina 0,12 %). Esto es evidencia de que los grupos

experimentales presentan efecto inhibidor del crecimiento de la cepa *Streptococcus mutans* pero menor al del Perio Aid (Clorhexidina 0,12 %).

Tabla 8. Comparaciones múltiples por la prueba de T3 Dunnett

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Streptococcus mutans						
T3 Dunnett						
(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Perio Aid (Clorhexidina 0,12 %)	Control (Etanol 70°)	8,16600*	,00499	,000	8,1472	8,1848
	Ext. 10%	6,22800*	,00830	,000	6,2001	6,2559
	Ext. 20%	4,99700*	,00784	,000	4,9708	5,0232
	Ext. 40%	4,00100*	,00737	,000	3,9765	4,0255
	Ext. 80%	2,21900*	,00806	,000	2,1920	2,2460
Control (Etanol 70°)	Perio Aid (Clorhexidina 0,12 %)	-8,16600*	,00499	,000	-8,1848	-8,1472
	Ext. 10%	-1,93800*	,00663	,000	-1,9630	-1,9130
	Ext. 20%	-3,16900*	,00605	,000	-3,1918	-3,1462
	Ext. 40%	-4,16500*	,00543	,000	-4,1855	-4,1445
	Ext. 80%	-5,94700*	,00633	,000	-5,9709	-5,9231
Ext. 10%	Perio Aid (Clorhexidina 0,12 %)	-6,22800*	,00830	,000	-6,2559	-6,2001
	Control (Etanol 70°)	1,93800*	,00663	,000	1,9130	1,9630
	Ext. 20%	-1,23100*	,00898	,000	-1,2609	-1,2011

	Ext. 40%	-2,22700*	,00857	,000	-2,2556	-2,1984
	Ext. 80%	-4,00900*	,00917	,000	-4,0395	-3,9785
Ext. 20%	Perio Aid (Clorhexidina 0,12 %)	-4,99700*	,00784	,000	-5,0232	-4,9708
	Control (Etanol 70°)	3,16900*	,00605	,000	3,1462	3,1918
	Ext. 10%	1,23100*	,00898	,000	1,2011	1,2609
	Ext. 40%	-,99600*	,00812	,000	-1,0230	-,9690
	Ext. 80%	-2,77800*	,00876	,000	-2,8071	-2,7489
Ext. 40%	Perio Aid (Clorhexidina 0,12 %)	-4,00100*	,00737	,000	-4,0255	-3,9765
	Control (Etanol 70°)	4,16500*	,00543	,000	4,1445	4,1855
	Ext. 10%	2,22700*	,00857	,000	2,1984	2,2556
	Ext. 20%	,99600*	,00812	,000	,9690	1,0230
	Ext. 80%	-1,78200*	,00834	,000	-1,8098	-1,7542
Ext. 80%	Perio Aid (Clorhexidina 0,12 %)	-2,21900*	,00806	,000	-2,2460	-2,1920
	Control (Etanol 70°)	5,94700*	,00633	,000	5,9231	5,9709
	Ext. 10%	4,00900*	,00917	,000	3,9785	4,0395
	Ext. 20%	2,77800*	,00876	,000	2,7489	2,8071
	Ext. 40%	1,78200*	,00834	,000	1,7542	1,8098
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.						

CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

6.1. Discusión de investigación

En el presente estudio del extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el primer ensayo fue la prueba de solubilidad, en la que los resultados mostraron que el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze (TARA), fue muy soluble en el etanol de 70, medianamente soluble en disolventes como metanol y agua destilada. Sin embargo, poco soluble en disolventes orgánicos como el éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, butanol y etanol 96. Esto es evidencia de la afinidad que posee el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* por el solvente alcohólico al 70°; y en cuanto al ensayo de tamizaje fitoquímico fueron los compuestos fenólicos, alcaloides y lactonas α , β -insaturadas los principales metabolitos con mayor presencia, seguido de los taninos y saponinas con mediana presencia y antraquinonas, antocianinas, azúcares reductores con mínima presencia; empleando el método según Olga Lock (57), esto es evidencia de las posibles acciones microbiológicas que posee esta planta frente a cepas antibacterianas.

Los resultados del estudio fitoquímico de la presente investigación coinciden con el de Tisnado y Hurtado (2021) el cual realizaron el estudio con el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* "Tara" con fines microbiológicos el cual se identificó alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos presentes en el extracto. Sin embargo, a pesar de ser provenientes de diferentes lugares como de Pacaraos, Huaral en Lima la muestra de la presente investigación, esto coincide con la muestra proveniente de Tisnado y Hurtado el cual es originario de Huaraz ubicado en el departamento de Ancash. (15)

De igual importancia Cholán et al (2019) en su estudio identificó compuestos como taninos, quinonas, fenoles, flavonoides, galotaninos y ácido gálico, presentes en el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa*. Cabe destacar que las plantas fueron recolectadas en el distrito de Otuzco, a una altitud de 2645 m.s.n.m. provincia Otuzco, en la región de La Libertad, en el

norte del Perú. Esto podría ser motivo de la diferencia en la composición fitoquímica del estudio de Cholán et al (2019) comparado con los resultados de la presente investigación (17).

Por otro lado, el estudio de Avilés (2018) sobre la composición fitoquímica de las hojas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en el análisis fitoquímico, se encontró taninos en mayor cantidad que saponinas y flavonoides; esto difiere de los resultados del presente estudio, esto se puede deber a que el estudio de Avilés se realizó con las hojas y el presente con la vaina de la Tara, sin dejar de tomar en cuenta que las hojas de tara de Avilés fueron muestreadas de forma aleatoria de árboles que se encuentran en la Ciudad Universitaria de la UNMSM en Lima (58).

Finalmente, el estudio de Olivera y Salinas (2019) sobre la composición fitoquímica de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze (Tara) identificaron alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, azúcares reductores y aminoácidos. Estos resultados coinciden con los de la presente investigación a pesar de tener una procedencia diferente ya que se recolectaron vainas de tara de 20 árboles del Departamento de Ayacucho, a diferencia del presente estudio que fue de Huaral en Lima (59).

El ensayo microbiológico in vitro para determinar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (molina) kuntze (tara) a las concentraciones de 10%, 20%, 40% y 80% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 evidenció que el extracto al 80% generó un halo de inhibición medio de 11,95 mm, seguido de los extractos al 40, 20 y 10% con halos de inhibición medios de 10,17; 9,17 y 7,94 mm. respectivamente. Además, se evidenció que los 4 grupos experimentales presentaron diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) por las pruebas estadísticas de ANOVA y T3 de Dunnet. Pero, según la escala de Duraffourd esta cepa bacteriana es sensible solo para los extractos al 80, 40 y 20%.

De igual importancia coincide con el estudio de Delgado y Tapia (2021) quienes emplearon el método de difusión en pozo con agar, el cual

evidenciaron que los valores promedio obtenidos de los extractos etanólicos de *Caesalpinia spinosa* (Tara) frente a *Streptococcus mutans* fueron para el extracto al 50% de 23.97mm, al 75% de 24.74mm y al 100% de 26.2mm; presentando diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) por las pruebas estadísticas de ANOVA y Tukey (14). De igual importancia coincide con el estudio de Tisnado y Hurtado (2021) quienes evidenciaron que el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) logró tener actividad antimicrobiana al 25 % con una media de 9,65 mm; al 50 % con 15,7 mm; al 75 % con 15,95 y al 100 % con 17,6 mm (15). Por otro lado, Pareja et al (2020) evidenciaron que el promedio del halo de inhibición formado por la aplicación del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre el *Staphylococcus aureus*, fue mucho mayor que el obtenido con la clorhexidina al 0,12% ($p < 0,000$). También se observó, que el promedio del halo de inhibición del extracto de *Caesalpinia spinosa* fue mayor que los controles, frente a las cepas de *Streptococcus sanguinis* ($p < 0,000$). (16)

De la misma manera, Cortez y Mego (2017) publicaron en su estudio sobre la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "Tara", frente a *Streptococcus mutans*, apoyan y sustentan los resultados del presente estudio a pesar de ser recolectadas del centro poblado de Pariamarca en el departamento de Cajamarca a diferencia del presente estudio que fue de Huaral; obteniendo halos de inhibición del extracto hidroalcohólico que fueron 8 mm, 11 mm y 13 mm para las concentraciones del 10%, 50% y 100%, respectivamente. Al analizar estos datos con la prueba estadística Mann - Whitney se obtuvo un $p = 0,038$; $p < 0,05$, que muestran diferencias estadísticamente significativas. (60) El ensayo mencionado también evidenció que el extracto hidroalcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "Tara", al 50% y 100% generó un halo inhibición medio de 11 mm y 13 mm frente a la cepa bacteriana *Streptococcus mutans*. Según la escala de Duraffourd estos grupos presentan efecto antibacteriano ya que con ese halo de inhibición se considera a la cepa bacteriana *Streptococcus mutans* sensible al extracto del 50% y 100%.

CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* presenta actividad antibacteriana frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
2. Los metabolitos secundarios que se identificaron en la prueba de tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* fueron antraquinonas, compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas, taninos, antocianinas, azúcares reductores y saponinas.
3. El extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* al 10, 20, 40 y 80% posee efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175
4. El extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* que presenta mayor efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 es al 80%.

RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones con el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) frente a otros microorganismos que ocasionan diferentes infecciones.
- Realizar investigaciones en el ámbito microbiológico con las semillas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) para comprobar la utilidad integral de su actividad antibacteriana.
- Comparar la potencia antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* (Tara) de diferentes lugares de procedencia
- Fomentar el uso tradicional de *Caesalpinia spinosa* (Tara) como coadyuvante en infecciones bucales.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Desam NR, Al-Rajab AJ, Sharma M, Mylabathula MM, Gowkanapalli RR, Albratty M. Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *Mentha × Piperita* L. (peppermint) essential oils. *J King Saud Univ - Sci.* 2019;31(4):528–33.
2. Nagarjuna D, Al-Rajab A, Mehellou Y. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of *Ruta graveolens* L. volatile oils. *Cogent Chem.* 2016;2(1):1–12.
3. Swamy M, Patra J, Rudramurthy G. *Medicinal plants: chemistry, pharmacology, and therapeutic applications.* 1st Edition: CRC Press. 2019.
4. Moukhles A, Ibn A, Ellaghdach A. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the pure essential oils and essential oils extracted from their corresponding hydrolats from different wild varieties of Moroccan thyme. *Environ Sci.* 2018;9(3):794–803.
5. Akhtar M, Swamy M, Sinniah U. *Natural bio-active compounds. Production and applications.* 2019.
6. Ferrazzano G, Cantile T, Alcidi B. Is *Stevia rebaudiana* Bertoni a Non Cariogenic Sweetener? *Molecules.* 2016;1(21):38.
7. Abbass M, Mahmoud S, El moshy S. The prevalence of dental caries among Egyptian children and adolescences and its association with age, socioeconomic status, dietary habits and other risk factors. A cross-sectional study. *F1000Research.* 2019;8(8).
8. Watanabe M, Wang D, Ijichi A. The Influence of Lifestyle on the Incidence of Dental Caries among 3-Year-Old Japanese Children. *Environ Res Public Heal.* 2014;11(12):12611–22.
9. Millo G, Juntavee A, Ratanathongkam A. Antibacterial Inhibitory Effects of *Punica Granatum* Gel on Cariogenic Bacteria: An in vitro Study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2017;10(2):152–7.
10. Damle S, Loomba A, Dhindsa A. Correlation between dental caries experience and mutans streptococci counts by microbial and molecular (polymerase chain reaction) assay using saliva as microbial risk

- indicator. *Dent Res J (Isfahan)*. 2016;13(6):552–9.
11. Hickl J, Argyropoulou A, Sakavitsi M. Mediterranean herb extracts inhibit microbial growth of representative oral microorganisms and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *PLoS One*. 2018;13(12):e0207574.
 12. Kanth M, Prakash A, Sreenath G. Efficacy of Specific Plant Products on Microorganisms Causing Dental Caries. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(12):ZM01–ZM03.
 13. Ferrazzano G, Scioscia E, Sateriale D. In Vitro Antibacterial Activity of Pomegranate Juice and Peel Extracts on Cariogenic Bacteria. *Biomed Res Int*. 2017;21(1).
 14. Delgado E, Tapia Y. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *caesalpinia spinosa* (tara) frente a *streptococcus mutans*. Universidad Maria Auxiliadora; 2021.
 15. Tisnado D, Hurtado E. Evaluación del efecto antibacteriano, in vitro, del extracto etanolico *Caesalpinia spinosa* (Tara) en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Universidad Roosevelt; 2021.
 16. Pareja M, Pardo K, Jurado B. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze “tara”, Fabaceae sobre bacterias de la biopelícula bucal. *Diagnóstico*. 2020;59(1):5–11.
 17. Cholán K, Zavaleta G, Saldaña J. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Fabaceae) sobre el crecimiento de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*. *Arnaldoa*. 2019;26(2):699–712.
 18. Cock I. *Mirbelia oxylobioides* F. Muell. Leaf Extracts Lack Antibacterial Activity and are Non-toxic in vitro. *Pharmacogn Commun*. 2021;11(2):95–9.
 19. Flores C. Efecto antimicrobiano in vitro de extractos de *Caesalpinia spinosa*, sobre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Universidad Catolica de Cuenca; 2019.
 20. Bornaz V, Bornaz J. Efecto Antimicrobiano Del Extracto Etanólico De *Caesalpinia Espinosa* (Tara) Al 60 %; Sobre El *Enterococcus Faecalis*. *Rev Científica Odontol Act*. 2018;3(3):17–22.
 21. Puttipan R, Wanachantararak P, Khongkhunthian S. Effects of

- Caesalpinia sappan on pathogenic bacteria causing dental caries and gingivitis. *Drug Discov Ther.* 2017;11(6):316–22.
22. Gagnon E, Bruneau A, Hughes C. A new generic system for the pantropical *Caesalpinia* group (Leguminosae). *PhytoKeys.* 2016;71(1):1–160.
 23. Ma G, Yuan J, Wu H. Caesalpins A-H, bioactive cassane-type diterpenes from the seeds of *Caesalpinia minax*. *J Nat Prod.* 2013;76(6):1025–31.
 24. Wei X, Yang S, Liang N. Chemical constituents of *Caesalpinia decapetala* (Roth) alston. *Molecules.* 2013;18(1):1325–36.
 25. Skowyra M, Janiewicz U, Salejda A. Effect of tara (*Caesalpinia spinosa*) pod powder on the oxidation and colour stability of pork meat batter during chilled storage. *Food Technol Biotechnol.* 2015;53(4):419–27.
 26. Adorno V, Kibria G, Liu X. Cancer stem cells: Targeting the roots of cancer, seeds of metastasis, and sources of therapy resistance. *Cancer Res.* 2015;75(6):924–9.
 27. Sandoval T, Urueña C, Llano M. Standardized Extract from *Caesalpinia spinosa* is Cytotoxic over Cancer Stem Cells and Enhance Anticancer Activity of Doxorubicin. *Am J Chin Med.* 2016;44(8):1693–717.
 28. He D, Li Y, Tang H. Six new cassane diterpenes from the twigs and leaves of Tara (*Caesalpinia spinosa* Kuntze). *Fitoterapia.* 2015;105:273–7.
 29. He D, Li Y, Tang H. Phenolic compounds from the twigs and leaves of Tara (*Caesalpinia spinosa*). *J Asian Nat Prod Res.* 2016;18(4):334–8.
 30. Parks T, Barrett L, Jones N. Invasive streptococcal disease: a review for clinicians. *Br Med Bull [Internet].* 2015;115(1):77–89. Available from: <https://academic.oup.com/bmb/article/115/1/77/260207#3110261>
 31. Etymologia: *Streptococcus* . Vol. 22, *Emerging Infectious Diseases.* 2016. 1977–1977 p.
 32. Kondo Y, Hoshino T, Ogawa M. *Streptococcus mutans* isolated from a 4-year-old girl diagnosed with infective endocarditis. *Clin Exp Dent Res.* 2019;5(5):534–40.

33. Abachi S, Lee S, Rupasinghe H. Molecular mechanisms of inhibition of streptococcus species by phytochemicals. *Molecules*. 2016;21(2):215.
34. Zhu B, Macleod L, Kitten T. Streptococcus sanguinis biofilm formation & interaction with oral pathogens. *Future Microbiol*. 2018;13(8):915–32.
35. Hung H, Ye D, Lai C. Comparison of the adhesion of Streptococcus sanguinis to commonly used dental alloys stratified by gold content. *J Dent Sci*. 2016;11(4):437–42.
36. Camargo T, Stipp R, Alves L. Novel two-component system of Streptococcus sanguinis affecting functions associated with viability in saliva and biofilm formation. *Infect Immun*. 2018;86(4).
37. Prendergast BD, Cahill TJ. Current controversies in infective endocarditis. *F1000Research*. 2015;4(1).
38. Cahill T, Prendergast B. Infective endocarditis. *Lancet*. 2016;1(15):1–12.
39. Bijlsma M, Brouwer M, Kasanmoentalib E. Community-acquired bacterial meningitis in adults in the Netherlands, 2006-14: A prospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(3):339–47.
40. Hashizume T, Yamaguchi Y, Kobayashi R. Oral challenge with Streptococcus sanguinis induces aortic inflammation and accelerates atherosclerosis in spontaneously hyperlipidemic mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019;520(3):507–13.
41. Reynolds G, Nicholson A, Thoms C. Oral Bacterial Infections: Diagnosis and Management. *Dent Clin North Am*. 2017;61(2):305–18.
42. Haque M, Sartelli M, Haque S. Dental infection and resistance-global health consequences. *Dent J*. 2019;7(1):22.
43. Ogle O. Odontogenic infections. *Dent Clin North Am*. 2017;61(2):235–52.
44. Lagier J, Edouard S, Pagnier I. Current and Past Strategies for Bacterial Culture in Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2015;28(1):208–36. Available from: <https://ezp.lib.unimelb.edu.au/login?url=https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edswsc&AN=000347460400009&site=eds-live&scope=site%0Ahttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC428>

4306/pdf/zcm208.pdf

45. Oda Y, Hayashi F, Okada M. Longitudinal study of dental caries incidence associated with *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in patients with intellectual disabilities. *BMC Oral Health*. 2015;15(1):1–5.
46. Jepson A, Schwarz J, Ryan L. What is the 'Minimum Inhibitory Concentration' (MIC) of pexiganan acting on *Escherichia coli*?—A cautionary case study. *Adv Exp Med Biol*. 2016;915:33–48.
47. Sebastian R, Jaykar B, Gomathi V. Current status of anticancer research in fabaceae family. *Pharma Innov J*. 2020;9(8):52–60.
48. Francois E, Yaszemski M. Preclinical Bone Repair Models in Regenerative Medicine. *Princ Regen Med*. 2019;761–7.
49. Madiha Z, Mahpara F, Safdar A. Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microb Pathog*. 2018;124:1–24.
50. de Kraker M, Stewardson A, Harbarth S. Will 10 Million People Die a Year due to Antimicrobial Resistance by 2050? *PLoS Med*. 2016;13(11).
51. Shaheen S, Abbas S, Hussain J. Knowledge of medicinal plants for children diseases in the environs of district Bannu, Khyber Pakhtoonkhwa (KPK). *Front Pharmacol [Internet]*. 2017;8(1):1–15. Available from: [http://europepmc.org/search?query=\(DOI:10.3389/fphar.2017.00430\)%0Ahttps://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2017.00430/pdf](http://europepmc.org/search?query=(DOI:10.3389/fphar.2017.00430)%0Ahttps://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2017.00430/pdf)
52. Apuke O. Quantitative Research Methods: A Synopsis Approach. *Kuwait Chapter Arab J Bus Manag Rev*. 2017;6(11):40–7.
53. Li Y, Wang H, Xia X. Dissolved organic matter affects both bioconcentration kinetics and steady-state concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in zebrafish (*Danio rerio*). *Sci Total Environ*. 2018;639(1):648–56.
54. Haghgoo R, Mehran M, Zadeh H. Comparison between antibacterial effect of chlorhexidine 0.2% and different concentrations of cyperus rotundus extract: An in vitro study. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2017;7(5):242–6.

55. Masic I, Hodzic A, Mulic S. Ethics in Medical Research and Publication. *Int J Biomed Healthc.* 2014;5(9):1073–82.
56. Poel I. An ethical framework for evaluating experimental technology. *Sci Eng Ethics.* 2016;22(1):667–86.
57. Lock O. *Investigacion fitoquimica: métodos en el estudio de productos naturales.* 3rd ed. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016. 287 p.
58. Avilés R. *Estudio químico y biológico de extractos de la hoja de tara (Caesalpinia spinosa).* Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2018.
59. Olivera M, Salinas L. *Efecto cicatrizante de un gel tópico elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las vainas de Caesalpinia spinosa (molina) kuntze (tara) y de las hojas de schinus molle l. (molle) en heridas inducidas en ratones albinos.* 2019.
60. Cortez K, Mego L. *Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las vainas de Caesalpinia spinosa “Taya”, frente a Streptococcus mutans.* Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2017.

ANEXOS
ANEXO N° 01

Identificación de metabolitos secundarios de *Caesalpinia spinosa*

N°	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO
1	Borntrager	Antraquinonas	
2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	
3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	
4	Dragendorff	Alcaloides	
5	Mayer	Alcaloides	
6	Wagner	Alcaloides	
7	Baljet	Lactonas α , β -insaturadas	
8	Gelatina	Taninos	
9	Gelatina-sal	Taninos	
10	NaOH 10%	Antocianinas	
11	Benedict	Azúcares reductores	
12	Fehling A y B	Azúcares reductores	
13	Espuma	Saponinas	
14	Shinoda	Flavonoides	
15	Ninhidrina	Aminoácidos libres	

(-): Ausencia; (+): Mínima; (++): Mediana (+++): Abundante presencia

ANEXO N° 02

Ficha de recolección de datos

Medida de halo de inhibición en la placa

Cepa bacteriana	Extracto hidroalcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i>				Control Blanco	Control positivo clorhexidina 0,12%
	10 mg/mL	20 mg/mL	40 mg/mL	80 mg/mL		
Muestra N° 1						
Muestra N° 2						
Muestra N° 3						
Muestra N° 4						
Muestra N° 5						
Muestra N° 6						
Muestra N° 7						
Muestra N° 8						
Muestra N° 9						
Muestra N° 10						

ANEXO N° 03

Certificado botánico de *Caesalpinia spinosa*

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C.B.P. N° 3796
Cel: 963689079
Email: jocamde@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ, BIÓLOGO COLEGIADO - CBP N° 3796 - INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA.

Que, VARA SOTO, FLORA VICTORIA; alumna de la Universidad Alas Peruanas, Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación ha solicitado la identificación y certificación botánica de una planta de tara procedente del distrito de Pacaraos, provincia de Huaral, departamento de Lima, la muestra fértil con frutos ha sido identificada con el nombre científico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze; según la base de Trópicos que sigue el Sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016), este Sistema de clasificación considera a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida (Chasse, MW y JL. Reavel. 2009), la muestra vegetal estudiada se ubica en las siguientes categorías taxonómicas.

Reino: Plantae

División: Angiospermae

Clase: Equisetopsida

Subclase: Magnoliidae

Superorden: Rosanae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Género: *Caesalpinia*

Especie: *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze

Nombres vulgares: "tara", "taya"

Se expide la presente certificación con fines de investigación científica.

Lima, 06 de noviembre del 2021



JR. SANCHEZ SILVA N° 156- piso 2. Urb. Santa Luzmila. Lima 07
Email: jocamde@gmail.com; joricampos@yahoo.es

ANEXO N° 04
MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA in vitro DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE VAINAS DE *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze (Tara) FRENTE A *Streptococcus mutans* ATCC 25175

PROBLEMAS DE INVESTIGACIÓN	OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN	HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>Problema General</p> <p>¿Presentará actividad antibacteriana in vitro el extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?</p> <p>Problemas Específicos</p> <p>- ¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Determinar la actividad antibacteriana in vitro el extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las vainas de</p>	<p>Hipótesis General</p> <p>El extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> presenta actividad antibacteriana in vitro frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p> <p>Hipótesis Específicas</p> <p>- Los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> son: compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas y alcaloides.</p> <p>- El extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia</i></p>	<p>Tipo de Investigación</p> <p>Experimental.</p> <p>Nivel de Investigación</p> <p>Tipo explicativo</p>	<p>Método de Investigación</p> <p>Método científico</p> <p>Diseño de Investigación</p> <p>Experimental</p>	<p>Variable Independiente</p> <p>Extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i></p> <p>Variable Dependiente</p> <p>Efecto antibacteriano</p>	<p>Población y muestra</p> <p>La población estará compuesta por la especie <i>Caesalpinia spinosa</i></p> <p>La muestra es el extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i></p>

<p>las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i>?</p> <p>- ¿Presentará actividad antibacteriana in vitro el extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> a diferentes concentraciones frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?</p> <p>- ¿Cuál de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> presenta mayor actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?.</p>	<p><i>Caesalpinia spinosa</i>.</p> <p>- Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> a diferentes concentraciones frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p>- Determinar las concentraciones del extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> que presentan mayor actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p><i>spinosa</i> a diferentes concentraciones presenta actividad antibacteriana <i>in vitro</i>.</p> <p>- La concentración del extracto hidroalcohólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> que presenta mayor actividad antibacteriana es 80 mg/mL.</p>				
--	---	---	--	--	--	--

ANEXO 5. EVIDENCIAS DE CAMPO

INFORME DE PROCESAMIENTO DE MUESTRA Y RESULTADOS

Muestra:

- Vainas secas de *Caesalpinia spinosa*

1. Recepción de muestra

- Fecha : 11-10-21
- Peso recibido : 8,199 g (Total)
- Cantidad procesada : 3,585.8 g

2. Tratamiento y extracción de la droga vegetal

2.1 Tratamiento de la droga vegetal

Con el fin de adecuar la muestra para el posterior proceso de preparación del extracto hidroalcohólico, se realizaron las siguientes operaciones previas:

a. Selección y Limpieza

Se eliminó cuidadosamente la tierra que pudiera estar adherida sobre la superficie de las vainas, así como las que estuvieran en mal estado o con signos de contaminación microbiana.





Vainas en buen estado



Proceso de separación de Vainas deterioradas, tallos y demás residuos

- Peso de vainas en buen estado: 2018.8 g
- Peso residuos y vainas deterioradas: 1567.0 g

b. Lavado

Con este proceso se eliminó todos los vestigios de tierra que pudieran haber quedado sobre las vainas aplicando un flujo continuo de agua potable a temperatura ambiente y empleando una escobilla suave, se enjuagó con agua destilada y posteriormente se desinfectó utilizando hipoclorito de sodio al 1%; por último, se volvió a enjuagar con abundante agua destilada y se dejó escurrir para eliminar exceso de humedad.

- Peso vainas escurridas: 2246.2 g.



Lavado con agua



Lavado con agua



Desinfección con solución de hipoclorito de sodio

c. Secado

Este proceso consiste en eliminar gran parte del agua de la especie. Esto debido a que la presencia de agua es el principal responsable de la alteración

de la planta recolectada. Al descender la cantidad de agua, las enzimas detienen su actividad, quedan inhibidas y la planta se conserva. Así mismo facilita el proceso de extracción.

En este caso la muestra fue distribuida sobre bandejas de papel kraft y secada por 24 horas a temperatura ambiente dentro de un área acondicionada para secado y 24 horas más empleando una estufa con aire recirculante a una temperatura de 40 °C.

- Tiempo de secado: 48 horas
- Temperatura de secado: T° ambiente (24 h) y en estufa a 40 °C (24 horas)
- Peso obtenido luego de proceso: 1891.4 g



d. Extracción de semillas

Terminado el proceso de secado, se procedió a retirar de forma manual todas las semillas con la finalidad de obtener para el estudio solo las vainas.

- Peso de vainas sin semillas: 1236.6 g
- Peso de semillas: 654.8 g



e. Molienda

La muestra una vez seca fue sometida a trituración mecánica empleando un mortero y pilón de porcelana, con la finalidad de reducir el tamaño de partículas y aumentar el número de las mismas para de esta manera hacer más eficiente el proceso de extracción al incrementar la superficie de contacto.

- Peso obtenido luego de molienda: 1236.6 g



Proceso de molienda

2.2 Extracción

a. Macerado

El proceso de extracción se realizó macerando, dentro de un frasco ambar, el material obtenido luego de la molienda con alcohol de 70°. El proceso de maceración se realizó durante 10 días, sometiéndolo a agitación mecánica diaria.

- Cantidad de macerado: 180 g
- Solvente : etanol al 70°
- Cantidad de solvente: 600 ml
- Días de macerado: 10 días



Proceso de maceración y agitación

b. Filtrado

El líquido resultante del proceso de maceración fue filtrado 3 veces empleando papel de filtrowhatman N°1 y un embudo.

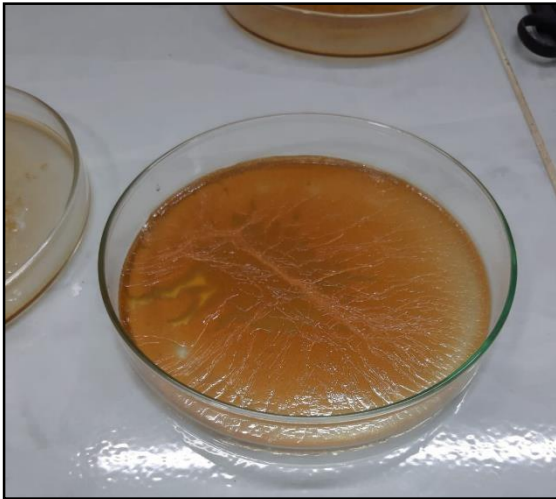
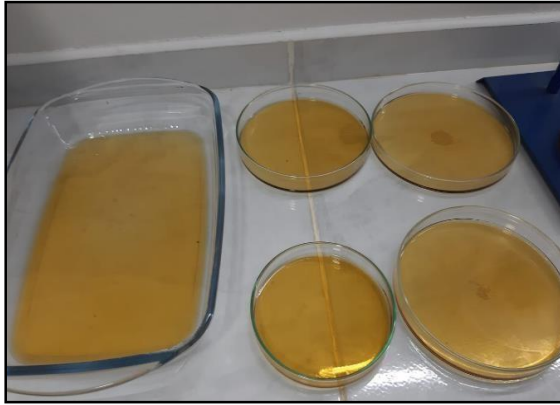
- Cantidad liquido filtrado: 550 ml



c. Obtención extracto seco

Para facilitar la evaporación del disolvente, el líquido filtrado fue vertido sobre placas petri de vidrio y fue llevado a estufa de aire recirculante a una temperatura de 40°C hasta sequedad.

- Cantidad líquido a secar: 550 ml
- Temperatura: 40°C
- Tiempo de secado: 24 horas
- Cantidad extracto obtenido: 76.2 gr.



Proceso de secado de macerado hasta

INFORME ENSAYO MICROBIOLÓGICO

I. MÉTODO

Método: Difusión en disco - Kirby Bauer

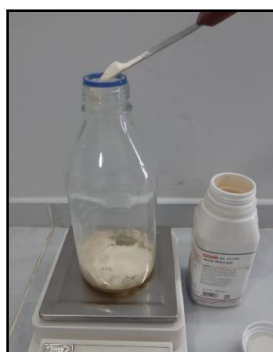
Consiste en depositar sobre la superficie de una placa de petri con agar previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con la diferente sustancia antibiótica.

1. Preparación de Medio de Cultivo

1.1 Agar Mueller Hinton con 5% de sangre de carnero

El medio de cultivo fue preparado partiendo de la base deshidratada y siguiendo las indicaciones proporcionadas por el fabricante.

- Se pesó 7.6 gr. de la base deshidratada y se adicionó 200 ml de agua destilada, a continuación, se procedió a calentar con agitación frecuente hasta lograr la disolución total del medio de cultivo, por último, se esterilizó en autoclave sometiéndolo a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos.
- Una vez terminado el proceso en el autoclave se dejó enfriar hasta que el medio de cultivo alcanzó una temperatura entre 45°C – 50°C para agregar posteriormente 5% de sangre bovina estéril al medio fundido y estéril.
- Una vez adicionada la sangre se homogenizó el medio de cultivo y se distribuyó en placas petri estériles de 90 x 15 mm.



2. Activación de la cepa : Kwik-stik microbiologics - *Streptococcus mutans*

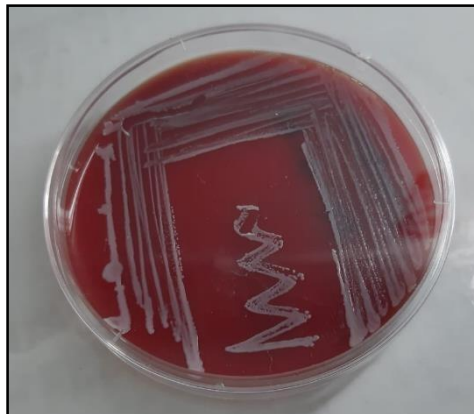
Para preparar el inóculo se empleó el producto “Culti-Loops” que contiene a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175

- a. Los Culti-Loops son asas de inoculación de material desechables que contienen microorganismos viables y estabilizados.
- b. Para recuperar el microorganismo, se humedeció la película de gel colocando el asade siembra directamente sobre una placa de agar sangre, la cual fue incubada a 37°C durante 24 horas en jarra de anaerobiosis.



3. Método de preparación del inóculo

- a. Se realizó la suspensión directa, en solución salina (cloruro de sodio 0.9%), de colonias obtenidas de la placa anteriormente incubada durante 24 horas.



Streptococcus mutans ATCC 25175

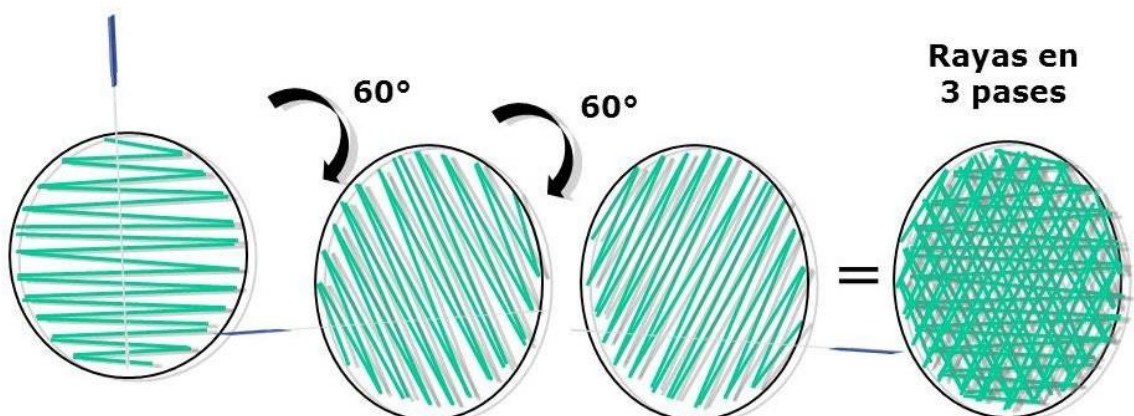
- b. La turbidez resultante fue inmediatamente ajustada comparándola de manera visual con la turbidez del estándar 0.5 de Mc. Farland.

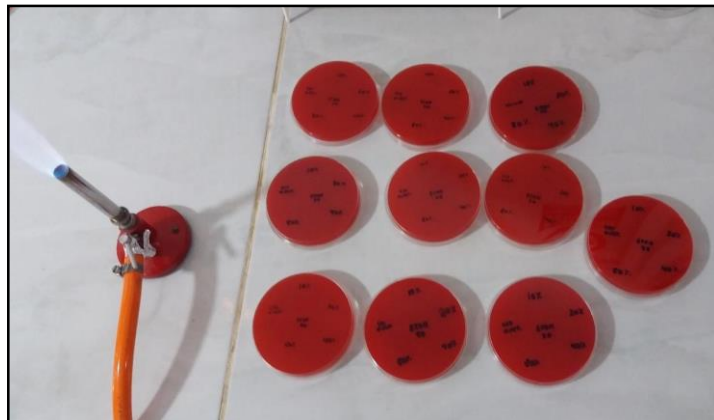
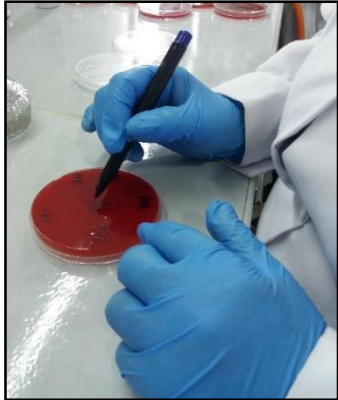


Streptococcus mutans ATCC 25175

4. Inoculación de placas

- Dentro de los 15 minutos posteriores al ajuste de la turbidez del inóculo, se procedió a sumergir un hisopo estéril en la suspensión obtenida; el hisopo se rotó varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo y por encima del nivel del líquido, esto con la finalidad de remover el exceso de inóculo.
- Posteriormente se inoculó sobre la superficie seca del agar Muller hinton sangre; para esto se realizaron estrías en tres direcciones diferentes rotando la placa 60° cada vez, esto con la finalidad de asegurar una distribución uniforme del inóculo.
- Previamente todas las placas fueron marcadas para posteriormente colocar los discos.





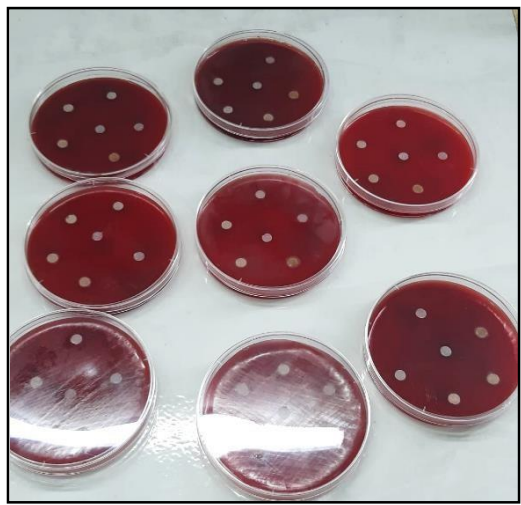
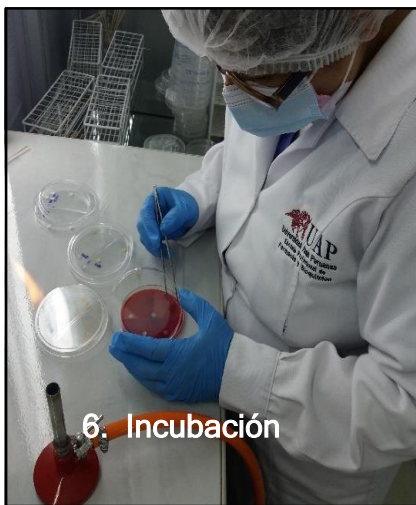
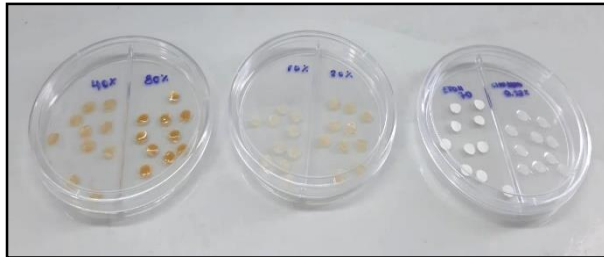
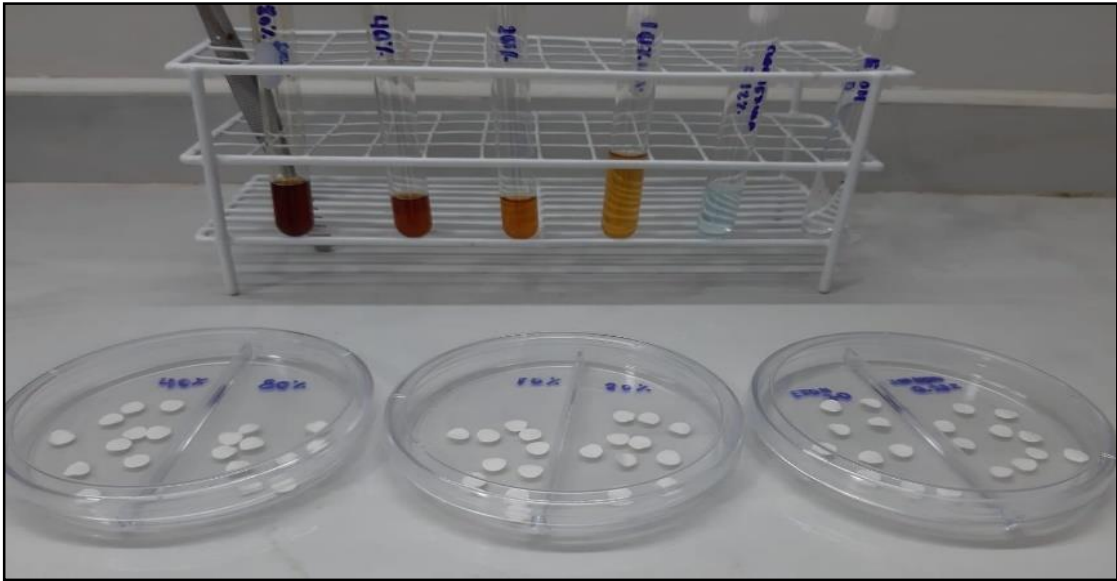
5. Preparación de discos de sensibilidad

Para la preparación de los discos se emplearon discos de papel filtro whatman N° 1 de 6mm de diámetro previamente esterilizados.

Cada uno de los discos fue embebido con 10 uL de muestra de la siguiente manera:

- Discos embebidos con extracto de tara 10 %
- Discos embebidos con extracto de tara 20 %
- Discos embebidos con extracto de tara 40 %
- Discos embebidos con extracto de tara 80 %
- Discos embebidos con etanol al 70°
- Discos embebidos con PERIOAID 0.12%

Posteriormente los discos fueron puestos sobre la superficie del medio de cultivo sólido previamente inoculado con la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175



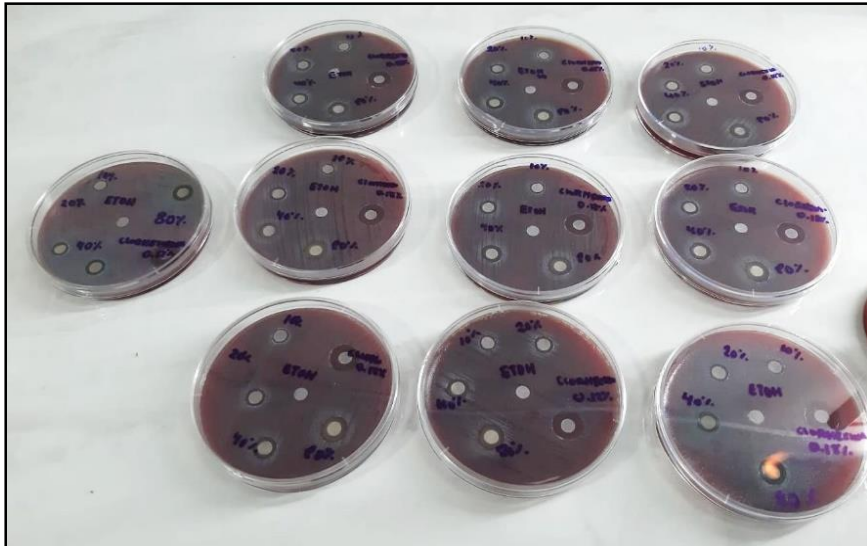
Las placas se incubaron dentro de una jarra de anaerobiosis durante 24 horas en posición invertida a 37°C dentro de los 15 minutos siguientes a la aplicación de los discos.

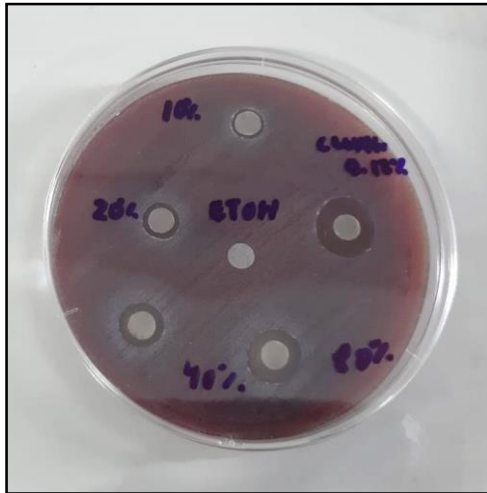


6. Lectura de resultados

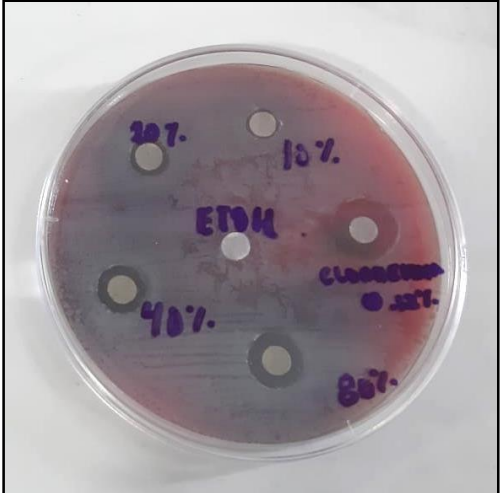
Halos de inhibición de los 6 grupos fueron medidos empleando un vernier.

- Discos embebidos con extracto de tara 10 %
- Discos embebidos con extracto de tara 20 %
- Discos embebidos con extracto de tara 40 %
- Discos embebidos con extracto de tara 80 %
- Discos embebidos con etanol al 70°
- VI: Discos embebidos con PERIOAID 0.12%

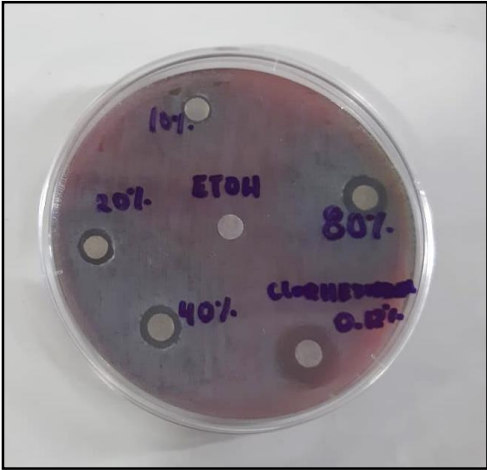




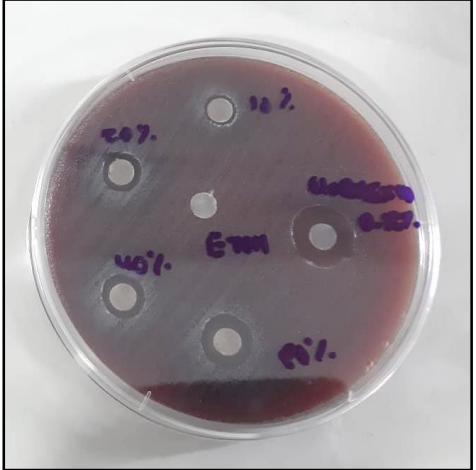
Placa N°1



Placa N°2



Placa N°3



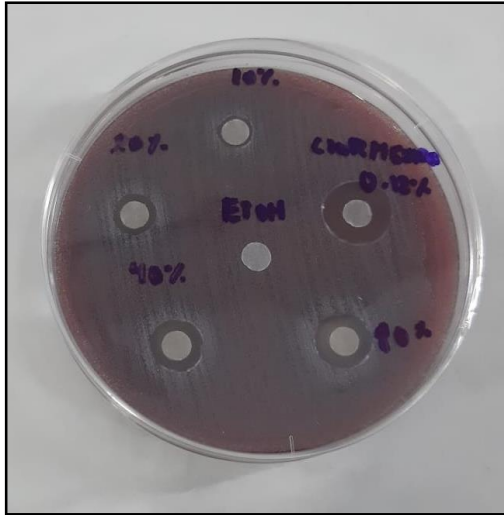
Placa N°4



Placa N°5



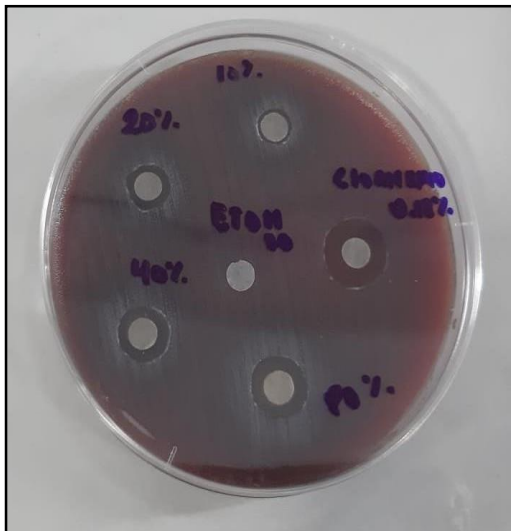
Placa N°6



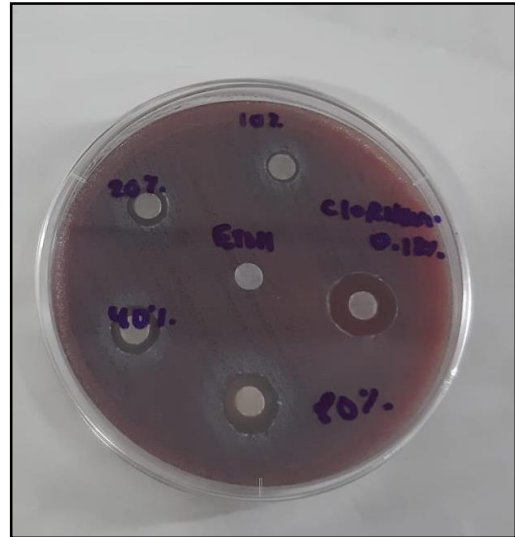
Placa N°7



Placa N°8



Placa N°9



Placa N°10

Prueba de solubilidad

A continuación, se muestran los resultados del ensayo de solubilidad.

Tabla 9. Resultados del ensayo de solubilidad

N°	SOLVENTE	RESULTADOS
1	Éter de petróleo	+
2	Diclorometano	+
3	Cloroformo	+
4	Butanol	+
5	Etanol 96	+
6	Etanol 70	+++
7	Metanol	++
8	Agua destilada	++

-: Insoluble; +: Poco soluble; ++: Medianamente soluble; +++: Muy soluble

Fuente: Elaboración propia

Los resultados del ensayo de solubilidad mostrados en la tabla anterior muestran que el extracto hidroalcohólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze (TARA), fue muy soluble para el etanol 70, medianamente soluble en disolventes como metanol y agua destilada. Pero poco soluble en disolventes como éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, butanol y etanol 96.

Tabla 10. Estadísticos descriptivos de los resultados del ensayo microbiológico

Descriptivos				
	Grupo		Estadístico	Desv Error
<i>Streptococcus mutans</i>	Perio Aid (Clorhexidina 0,12 %)	Media	14,1660	,004 99
		95% de intervalo de confianza	Límite inferior	14,1547
			Límite superior	14,1773

		para la media				
		Media recortada al 5%		14,1661		
		Mediana		14,1700		
		Varianza		,000		
		Desv. Desviación		,01578		
		Mínimo		14,14		
		Máximo		14,19		
		Rango		,05		
		Rango intercuartil		,03		
		Asimetría		-,229	,687	
		Curtosis		-,820	1,334	
	Control (Etanol 70°)	Media		6,0000	,00000	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	6,0000		
			Límite superior	6,0000		
			Media recortada al 5%		6,0000	
			Mediana		6,0000	
			Varianza		,000	
			Desv. Desviación		,00000	
			Mínimo		6,00	
			Máximo		6,00	
			Rango		,00	
			Rango intercuartil		,00	
			Asimetría		.	.
		Curtosis		.	.	
	Ext. 10%	Media		7,9380	,00663	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	7,9230		
			Límite superior	7,9530		
			Media recortada al 5%		7,9378	
			Mediana		7,9400	

		Varianza	,000		
		Desv. Desviación	,02098		
		Mínimo	7,91		
		Máximo	7,97		
		Rango	,06		
		Rango intercuartil	,04		
		Asimetría	,058	,687	
		Curtosis	-1,120	1,334	
	Ext. 20%	Media	9,1690	,00605	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	9,1553	
			Límite superior	9,1827	
			Media recortada al 5%	9,1694	
			Mediana	9,1700	
			Varianza	,000	
			Desv. Desviación	,01912	
			Mínimo	9,14	
			Máximo	9,19	
			Rango	,05	
			Rango intercuartil	,04	
			Asimetría	-,181	,687
			Curtosis	-1,736	1,334
	Ext. 40%	Media	10,1650	,00543	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	10,1527	
			Límite superior	10,1773	
			Media recortada al 5%	10,1656	
			Mediana	10,1650	
			Varianza	,000	
			Desv. Desviación	,01716	
		Mínimo	10,13		

		Máximo		10,19	
		Rango		,06	
		Rango intercuartil		,02	
		Asimetría		-,660	,687
		Curtosis		,812	1,334
	Ext. 80%	Media		11,9470	,00633
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11,9327	
			Límite superior	11,9613	
		Media recortada al 5%		11,9472	
		Mediana		11,9450	
		Varianza		,000	
		Desv. Desviación		,02003	
		Mínimo		11,91	
		Máximo		11,98	
		Rango		,07	
		Rango intercuartil		,03	
		Asimetría		-,108	,687
		Curtosis		,353	1,334

En la tabla 10 se muestra la estadística descriptiva con 95% de intervalo de confianza para las medidas de tendencia central (media, mediana) y medidas de dispersión (rango, desviación estándar) correspondientemente.

ANEXO 6. INFORME DE LABORATORIO



"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

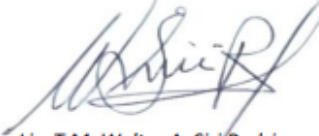
Informe de Resultados

Solicitado por: Flora Victoria Vara Soto
Muestra: Extracto hidroalcohólico de vainas de *C. spinosa* (extracto seco)
Cantidad: 76.2 gr
Fecha de ensayo: 30-10-2021

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm					
	80%	40%	20%	10%	PERIO AID	Etanol 70°
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	11.95	10.17	9.18	7.97	14.18	6
	11.93	10.18	9.19	7.93	14.15	6
	11.94	10.16	9.19	7.96	14.17	6
	11.98	10.19	9.16	7.94	14.15	6
	11.91	10.16	9.15	7.91	14.17	6
	11.94	10.16	9.14	7.96	14.19	6
	11.95	10.18	9.16	7.92	14.14	6
	11.96	10.15	9.19	7.91	14.17	6
	11.94	10.13	9.15	7.94	14.18	6
	11.97	10.17	9.18	7.94	14.16	6

*Tamaño de discos: 6mm, por lo que al reportarse 6mm es indicativo que no existe formación halo de inhibición

*Concentración del inóculo: 1.5×10^8 UFC/mL


Lic. T.M. Walter A. Siri Rodríguez
CTMP. 10808

Jr. Comercio N° 597 Pachacámac Telf. 2311053 Cel. 941708196- 993446913

ANEXO 7. CERTIFICADO DE SANGRE DE CARNERO ESTERIL

	<h3>Certificado de Análisis</h3>	Fecha de Emisión 27/10/2021
---	----------------------------------	--------------------------------

Código Producto: SC001

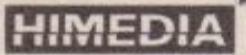
Descripción: Sangre de Carnero, Estéril.

Lote: B01349
Fecha de Colección: 25/10/2021
Fecha de Vencimiento: 25/11/2021

El producto fue colectado empleando técnica aséptica y se comprobó la esterilidad por cultivo en medio nutritivo.


Luis Alvarado Rios
CTMP 6765

ANEXO 8. CERTIFICADO DE AGAR MUELLER HINTON



Certified : ISO 9001:2008, ISO 13485-2012 and WHO GMP

HIMEDIA Laboratories Private Limited
 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086
 Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000322697
Report No.: 040000779434	Date of Report : 22.12.2017	Expiry Date : Dec-2022

Appearance

Cream to yellow homogeneous free flowing powder . Observed : Light yellow

Gelling

Firm, comparable with 1.7% agar gel.

Colour and Clarity of prepared medium

Light amber coloured clear to slight opalescent gel forms in Petri plates.

Reaction

Reaction of 3.8% w/v aqueous solution at 25°C.

pH

pH Range :7.20-7.40 Observed : 7.37

Cultural Response

Cultural characteristics observed after incubation at 30-35°C for 18 -24 hours for bacterial cultures. For testing *S.pneumoniae* : The medium was supplemented with 5% Sheep blood and incubated at 35°C for 16-18 hours at 5% CO2 For testing *H.influenzae* : Yeast extract & 2 vials μ l of Haemophilus Growth Supplement (FD117 containing 15 mg/l of Haematin+ 15 mg/l of NAD) and incubated at 35°C for 20-24 hours at 5% CO2

Antibiotic Sensitivity test

Various discs were tested for standard ATCC strains and zone of inhibition were measured after an incubation 30-35°C for 18 hours. (As per the latest CLSI Protocol M6 & Standards as per the current CLSI M100)

Thymine/Thymidine Content

The zones for these discs are indicative of the Thymine/Thymidine content of the medium.

Divalent Cation Content

* The zones for these discs are indicative of the Divalent Cation content of the medium

Organism	Inoculum (CFU)	Growth	Observed Lot value (CFU)	Recovery	Standard Zone	Zone of inhibition Observed
Escherichia coli ATCC 25922(WDCM 00013)						
<i>Growth promoting</i>	85	luxuriant	80	94%	-	-
<i>Amoxycylav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	23mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	16-22 mm	21mm
<i>Cefotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	29-35 mm	34mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	27mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	15-21 mm	20mm
<i>Chloramphenicol C 30 mcg</i>	-	-	-	-	21-27 mm	26mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	30-40 mm	38mm

HiMedia Laboratories Private Limited
 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086
 Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000322697
Report No.: 040000779434	Date of Report : 22.12.2017	Expiry Date : Dec-2022

<i>Gentamicin GEN 10 mcg</i>	-	-	-	-	19-26 mm	25mm
<i>Sulphafurazole SF 300 mcg</i>	-	-	-	-	15-23 mm	21mm
<i>Tetracycline TE 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-25 mm	24mm
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm

Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034)

<i>Growth promoting</i>	86	luxuriant	79	91%	-	-
<i>Amoxycylav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	28-36 mm	35mm
<i>Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg</i>	-	-	-	-	29-37 mm	36mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	29-37 mm	35mm
<i>Ciprofloxacin CIP 3mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	28mm
<i>Erythromycin E 15 mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	29mm
<i>Linezolid LZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	25-32 mm	30mm
<i>Oxacillin OX 1mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	23mm
<i>Pristinomycin RP 15 mcg</i>	-	-	-	-	21-28 mm	27mm
<i>Tetracycline TE 30 mcg *</i>	-	-	-	-	24-30 mm	29mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	17-21 mm	20mm
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	24-32 mm	30mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (WDCM 00025)

<i>Growth promoting</i>	81	luxuriant	78	96%	-	-
<i>Amikacin AK 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-26 mm	25mm
<i>Aztreonam AT 3mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm
<i>Cephotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-22 mm	21mm
<i>Cefazidime CAZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	22-29 mm	28mm
<i>Ciprofloxacin CIP 3mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	32mm
<i>Gentamicin GEN 10 mcg *</i>	-	-	-	-	16-21 mm	20mm
<i>Imipenem IPM 10 mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	27mm
<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	32mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	26mm
<i>Tobramycin TOB 10 mcg *</i>	-	-	-	-	19-25 mm	24mm

Escherichia coli ATCC 35218

<i>Growth promoting</i>	82	luxuriant	77	93%	-	-
<i>Amoxycylav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	17-22 mm	21mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	6 mm	6mm
<i>Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg</i>	-	-	-	-	13-19 mm	17mm

HiMedia Laboratories Private Limited
 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086
 Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000322697
Report No.: 040000779434	Date of Report : 22.12.2017	Expiry Date : Dec-2022

<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	12-18 mm	16mm
<i>Piperacillin/Tazobactam PIT 100/10 mcg</i>	-	-	-	-	24-30 mm	28mm
<i>Ticarcillin TI 75 mcg</i>	-	-	-	-	6 mm	6mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	21-25 mm	23mm
Enterococcus faecalis ATCC 29212 (WDCM 00087)						
<i>Growth promoting</i>	88	luxuriant	80	90%	-	-
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm (Clear zone)	29mm
<i>Trimethoprim TR 5 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm	27mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	# 17 mm	23mm
Staphylococcus aureus ATCC 43300 (MRSA) (WDCM 00211)						
<i>Growth promoting</i>	86	luxuriant	85	0	-	-
<i>Oxacillin OX 1 mcg</i>	-	-	-	-	Very Hazy to No Zone	No zone
Sterptococcus pneumoniae ATCC 49619 (On Medium with 5% Sheep Blood)						
<i>Growth promoting</i>	81	luxuriant	76	93%	-	-
Neisseria gonorrhoeae ATCC 49226 (Incubated w/5% CO2)						
<i>Growth promoting</i>	85	luxuriant	80	94%	-	-
Haemophilus influenzae ATCC 49247 (On medium w/ Y.E.,NAD & Hematin)						
<i>Growth promoting</i>	83	luxuriant	78	93%	-	-

- . ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection
- . NCTC and National Collection of Type Culture are registered trade mark of the Health Protection Agency

Control Media :

- . For Bacteria : Soyabean Casein Digest Agar / Columbia Blood Agar base enriched with 5% v/v Sheep/Horse blood.
- . For Yeast & Mold : Sabouraud Dextrose Agar.

- . All ISO 11133 : 2014(E) control strains are included in the Quality parameter
- . HiMedia Laboratories Pvt Ltd is certified for ISO 9001-2008, ISO 13485-2012 and WHO GMP.

. Information for BSE/TSE Risk: The material was subjected to pH <= 7.0 and/or a temperature in excess of 75°C for no less than 2 hours during the manufacturing process. The bovine raw material for this product was collected entirely from Indian Origin animals in a licensed based establishment. The animals are inspected under a Govt. approved veterinarian's supervision and were apparently free from infectious and contagious diseases. BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy)/ TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) and dioxine are not known to exist in India. This material does not contain, nor is derived from the specific risks material as defined in The Maharashtra Animal Preservation Act Govt. of Maharashtra, India.

HiMedia Laboratories Private Limited

23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086

Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

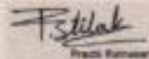
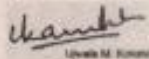
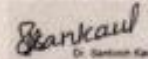
Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000322697
Report No.: 040000779434	Date of Report : 22.12.2017	Expiry Date : Dec-2022

STATUS OF THE MATERIAL : APPROVED

This is to certify that this lot passes and it confirms to the above mentioned tests and specifications . The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particular use, other than that specified in the current HiMedia manual or product sheets. The results reported were obtained at the time of release.

This document has been produced electronically and is valid

**Microbiologist/Sr.Executive
Microbiologist****Asst./Dy/QC Manager****Dy/QA Manager**

22.12.2017

ANEXO 9. CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE S. MUTANS



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-32** Reference Number: ATCC® 25175™* Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2022/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D Quevi Release Date: 2020/9/8
--	---

Performance	
Macroscopic Features: Two colony types: small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.	Medium: SBAP
Microscopic Features: Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains	Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative <div style="text-align: right; padding-right: 20px;"> Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>

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

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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

