



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**TESIS**

**“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE  
*Caesalpinia spinosa* (TARA) PROCEDENTE DE LIMA Y TRUJILLO  
FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus*.”**

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

**AUTOR:**

**BACHILLER: RIVERA VILCHEZ, DENNIS ALEXIS**

**ASESOR: GRANDE ORTIZ, MIGUEL ANGEL**

**LIMA – PERÚ**

**2017**

## **DEDICATORIA**

La presente Tesis está dedicada a mis padres ya que sin ellos no hubiera logrado concluir mi carrera profesional, por brindarme su apoyo y darme fuerzas para seguir adelante.

A mis hermanos por ser el ejemplo a seguir profesionalmente, así como aquellas personas que han estado conmigo en este proceso.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a los laboratorios Juman y Biocare que me permitieron realizar este trabajo en sus instalaciones, al asesor por ser mi guía en esta investigación y a la universidad por haberme formado profesionalmente.

## INDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
INDICE.....	iv
INDICE DE CUADROS.....	viii
INDICE DE FIGURAS.....	ix
INDICE DE GRAFICAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCION.....	xv

### CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática.....	17
1.2 Problema de investigación:.....	19
1.2.1 Problema General.....	19
1.2.2 Problemas Específicos.....	19
1.3 Objetivos de la investigación.....	19
1.3.1 Objetivo General.....	19
1.4 Justificación, importancia, limitaciones de la investigación.....	20
1.4.1 Justificación.....	20
1.4.2 Importancia de la Investigación.....	21
1.4.3 Limitaciones de la investigación.....	21

### CAPITULO II HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Hipótesis de la Investigación:.....	22
2.1.1 Hipótesis General.....	22

2.1.2 Hipótesis Específicas .....	22
2.2 Variables de la investigación .....	23
2.2.1 Identificación y clasificación de variables .....	23
2.2.2 Operacionalización de variables.....	23

### **CAPÍTULO III MARCO TEÓRICO**

3.1 Antecedentes.....	24
3.1.1 A nivel Nacional.....	24
3.1.2 A nivel Internacional .....	27
3.2 Bases Teóricas.....	28
3.2.1 <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara).....	28
3.2.1.1 Distribución geográfica de <i>Caesalpinia spinosa</i> .....	28
3.2.1.2 Dendrología.....	29
3.2.1.3 Caracteres botánicos .....	30
3.2.1.4 Clasificación taxonómica de la <i>Caesalpinia spinosa</i> .....	31
3.2.1.5 Composición química de la <i>Caesalpinia spinosa</i> .....	31
3.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	35
3.2.2.1 Taxonomía del <i>Staphylococcus aureus</i> .....	36
3.2.2.2 Fisiología y Estructura del <i>Staphylococcus aureus</i> .....	37
3.2.2.3 Patogenia del <i>Staphylococcus aureus</i> .....	39
3.2.2.4 Epidemiología del <i>Staphylococcus aureus</i> .....	46
3.2.2.5 Enfermedades clínicas.....	46
3.2.3 Antibióticos .....	51
3.2.3.1 Actividad antimicrobiana .....	52
3.2.3.2 Clasificación de los antibióticos.....	54
3.2.3.3 Betalactámicos.....	55

3.2.4 Extractos .....	61
3.2.4.1 Tipos de extracción .....	61
3.2.5 Ensayos microbiológicos .....	62
3.3 Definición de términos básicos .....	63

## **CAPÍTULO IV METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

4.1 Tipo y nivel de la investigación .....	65
4.1.1 Tipo de investigación .....	65
4.1.2 Nivel de Investigación.....	65
4.2 Método y Diseño de la investigación .....	66
4.2.1 Método de la investigación .....	66
4.2.2 Diseño de la investigación .....	66
4.3 Población y Muestra de la Investigación.....	66
4.3.1 Población.....	66
4.3.2 Muestra .....	67
4.4 Técnicas e instrumento de la recolección de datos .....	67
4.4.1 Obtención del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> .....	67
4.4.2 Instrumentos.....	68
4.5 Procedimiento de extracción de la muestra .....	69
4.5.1 Análisis fitoquímico de los metabolitos secundarios de la <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara).....	70
4.5.2 Ensayos microbiológicos .....	71
4.5.3 Procesamiento estadísticos de datos .....	73

**CAPÍTULO V PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

5.1 Análisis de cuadros y gráficos ..... 75

5.2 Discusión de los resultados ..... 83

**CONCLUSIONES ..... 87**

**RECOMENDACIONES..... 88**

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 89**

**ANEXOS.....91**

## INDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Prueba fitoquímica de identificación de metabolitos secundarios de la <i>Caesalpinia spinosa</i> .....	76
Cuadro 2 Actividad antibacteriana del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> .....	78
Cuadro 3 Análisis de varianza – ANOVA.....	80

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> Obtenida de Trujillo.....	96
Figura 2 Vainas <i>Caesalpinia spinosa</i> Obtenida de Lima.....	96
Figura 3 Vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> llevadas a la estufa .....	97
Figura 4 Vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> llevadas a 70 °C.....	97
Figura 5 Vainas de tara pulverizada .....	98
Figura 6 Esterilización de los frascos y agua .....	98
Figura 7 Polvo de tara con 50 mL de Agua.....	99
Figura 8 Reposo en baño maría a 67 °C por 3 horas .....	99
Figura 9 Filtración con papel Whatman 41, 4 y 2.....	100
Figura 10 Extracto acuoso de tara posterior a filtrado .....	100
Figura 11 Cadena de frío de 1 a 2 °C .....	101
Figura 12 Estandarización del medio de cultivo Müller Hinton.....	101
Figura 13 Escala de Mc Farland .....	102
Figura 14 Inoculación del extracto acuoso.....	102
Figura 15 Determinación de la sensibilidad .....	103
Figura 16 Inoculación en las placas de Müller .....	103
Figura 17 Aplicación de discos .....	104
Figura 18 Resultados.....	104
Figura 19 Certificado de extracción acuosa.....	105
Figura 20 Ficha Técnica de la estufa .....	106
Figura 21 Ficha Técnica del baño maría.....	107
Figura 22 Ficha Técnica de la balanza analítica .....	108
Figura 23 Ficha de control de calidad del medio de cultivo .....	109
Figura 24 Diseño de trabajo.....	110
Figura 25 Clasificación taxonómica .....	111
Figura 26 Ficha de recolección de datos de marcha fitoquímica .....	112
Figura 27 Ficha de recolección de datos microbiológicos.....	113

## INDICE DE GRAFICAS

Gráfica 1 Gráficas de medias.....	81
Gráfica 2 Graficas de Cajas.....	82

## RESUMEN

Actualmente se considera a la resistencia bacteriana como una enfermedad reemergente, según la Organización Mundial de la Salud esto puede ser debido a que mucho de los tratamientos antibióticos no son completados en su totalidad por diferentes factores siendo el más influyente el económico. La OMS se encuentra en la búsqueda de nuevas alternativas en la medicina tradicional o complementaria ya que tan solo se conoce un 10 % de todas las plantas que habitan la tierra, tienen la característica de ser accesible y de bajo costo para la población. En el Perú se cuenta con recursos vegetales que se usan en el tratamiento diario de diferentes enfermedades, siendo una de ellas la *Caesalpinia spinosa* o más conocida en el país como tara o taya que en investigaciones a nivel nacional se ha determinado que tiene una potente acción antibacteriana, este recurso puede crecer en diferentes zonas, alturas, climas y tipos de suelo. Por lo cual para esta investigación se quiso comparar el efecto antibacteriano “in vitro” de los extractos acuosos de las vainas de tara procedente de la zona de Lima y de Trujillo frente a una cepa ATCC de *Staphylococcus aureus* 25923.

Las vainas de *Caesalpinia spinosa* fueron recolectadas en Lima y en Trujillo, se trabajó con aquellas vainas que no presentaron daño en el transporte posteriormente se limpiaron y desinfectaron con agua y alcohol de 70 % se llegó a separar la vaina de la semilla, la cual fue llevada a una estufa a 70 ° C para poder molerla y obtener el aserrín de la tara, este aserrín de tara se llevó a 50 mL de agua destilada y se dejó reposar en baño María a 67° C durante 4 horas y se secó en estufa a 70 ° C. El método Microbiológico que se utilizó para esta investigación fue el método de disco difusión o método de Kirby Bauer en un medio de cultivo de Müller Hinton con cepas ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus* y se comparó con un grupo control antibiótico de uso clínico que fue la oxacilina y vancomicina.

Se demostró que el efecto antibacteriano varía dependiendo de la zona, clima y altura de donde se obtuvo cada recurso, también se determinó que el extracto acuoso de la *Caesalpinia spinosa* obtenida de Trujillo tuvo un mayor halo de inhibición con una media de 26.67 mm de diámetro frente a una media de 24 mm de diámetro que se obtuvo de Lima y frente al grupo de control clínico se obtuvo que ambos extractos presentan mayor efecto antibacteriano.

**Palabras Claves:** Taninos, *Caesalpinia spinosa*, antibiograma.

## ABSTRACT:

Bacterial resistance is currently considered a reemerging disease, according to the World Health Organization this may be due to the fact that many of the antibiotic treatments are not completed in their entirety due to different factors, the most influential being the economic, the WHO is in the search for new alternatives in traditional or complementary medicine since only 10% of all the plants that inhabit the earth are known, they have the characteristic of being accessible and of low cost for the population. In Peru there are plant resources that are used in the daily treatment of different diseases, one of which is *Caesalpinia spinosa* or better known in the country as tara or taya, which in national research has been determined to have a powerful action antibacterial, this resource can grow in different areas, heights, climates and types of soil. For this research we wanted to compare the antibacterial effect "*in vitro*" of the aqueous extracts of tara pods from the Lima area and of Trujillo against an ATCC strain of *Staphylococcus aureus* 25923.

The pods of *Caesalpinia spinosa* were collected in Lima and Trujillo, we worked with those pods that did not show damage in the transport, afterwards they were cleaned and disinfected with water and alcohol of 70%, the pod was separated from the seed, which was taken to an oven at 70 ° C to grind it and get sawdust from the tara, this tara sawdust was taken to 50 mL of distilled water and allowed to stand in a water bath at 67 ° C for 4 hours and dried in an oven at 70 ° C. The Microbiological method that was used for this investigation was the disc diffusion method or Kirby Bauer method in a Müller Hinton culture medium with strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and was compared with an antibiotic control group for clinical use which was oxacillin and vancomycin.

It was demonstrated that the antibacterial effect varies depending on the

zone, climate and height from which each resource was obtained, it was also determined that the aqueous extract of *Caesalpinia spinosa* obtained from Trujillo had a greater halo of inhibition with an average of 26.67 mm in diameter compared to an average of 24 mm in diameter that was obtained from Lima and compared to the clinical control group, it was obtained that both extracts have a greater antibacterial effect.

**Key Words:** Tannins, *Caesalpinia spinosa*, antibiogram.

## INTRODUCCION

Desde la aplicación de los antibióticos en el ámbito clínico se ha logrado disminuir una de las principales causas de muerte en la humanidad que son las enfermedades de tipo infecciosas, el uso de antibióticos ha contribuido en la creación de nuevos tratamientos médicos y en la mejora de la calidad de vida. Sin embargo, el mal uso de estos ha originado que se cree una resistencia bacteriana, considerándose en la actualidad como una infección de tipo emergente, pues cada vez se hace más difícil poder encontrar nuevos tratamientos útiles ya que la eficacia de estos fármacos se encuentra disminuida. El *Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram positiva que se encuentra actualmente en todas las zonas demográficas en el mundo y puede afectar tanto a las personas como a los animales encontrándose principalmente en piel y en las vías respiratorias. Clínicamente posee una alta mortalidad ya que es uno de los microorganismos con mayor resistencia bacteriana en comparación con otros organismos infecciosos y el responsable de diferentes patologías.

El contenido químico de los recursos naturales vegetales suele estar diferenciado por las zonas de cultivo puesto que no existen dos estructuras de suelos con características similares dado que hay factores externos que influyen en las zonas de crecimiento. Los factores ambientales son el principal influyente en el desgaste químico que afecta a la zona de crecimiento, modificando la composición orgánica del suelo y en consecuencia en la composición química del propio recurso. Los climas de tipo cálidos y húmedos pueden llegar a producir un mayor contenido químico en el suelo.

La *Caesalpinia spinosa* más conocida como tara se encuentra distribuida a lo largo de toda la costa, desde Piura hasta Tacna, y en la sierra en los departamentos de Ancash, Apurímac, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Huancavelica, Junín y Pasco, se le conoce por ser un recurso vegetal “plástica” por qué puede crecer en todo tipo de suelo y a

diferentes alturas. Además se conoce por investigaciones realizadas a nivel nacional e internacional que la tara presenta acción antibacteriana frente a microorganismos Gram positivos por su alta cantidad de taninos hidrolizables y que estas concentraciones de taninos pueden variar dependiendo de las diferentes zonas de cosecha, por ello que el objetivo de esta investigación es realizar la comparación del efecto antibacteriano del extracto acuoso de la tara nativa del Perú procedentes de las regiones de Lima y Trujillo ya que se encuentran en diferentes tipos de clima y altura así mismo poder comparar su efecto antibacteriano con un grupo control de uso clínico, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## **CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### 1.1 Descripción de la Realidad Problemática

La resistencia bacteriana es un problema mundial que va en aumento teniendo cada día un aproximado de 1,4 millones de pacientes que adquieren algún tipo infección bacteriana y se estima que para el 2050 la resistencia a los antimicrobianos afectará a 10 millones de habitantes por año <sup>1</sup>. La mortalidad es causada por la ineffectividad de los antibióticos como el resultado de la automedicación e incumplimiento de la duración del tratamiento generando una emergencia potencial.

Una de las infecciones nosocomiales con mayor influencia es el *Staphylococcus aureus* que puede afectar a todos los pacientes y a sus familias, siendo el grupo de riesgo los adultos mayores, los niños y pacientes que se encuentren recibiendo un tipo de atención hospitalaria como: cirugía, hospitalización, cateterismo, entre otros. Las consecuencias de este tipo de infecciones pueden generar que el tiempo del tratamiento aumente, originando en algunos casos toxicidad o reacciones adversas.

Uno de los problemas que se encuentra en las regiones más alejadas del Perú es el mal abastecimiento de medicamentos y servicios de salud. Las personas en estas regiones cuentan con un poder adquisitivo menor lo cual impide que puedan completar los tratamientos y evidenciando en algunos casos hasta una posible recaída en la enfermedad, por lo cual han buscado una alternativa a base de plantas ya que son de muy fácil acceso y de bajo costo.

El uso de los recursos naturales de tipo vegetal ha sido utilizado desde el inicio de la humanidad como remedio empírico en el tratamiento de enfermedades, influenciado por factores como la historia y filosofía, hasta la llegada de los medicamentos sintéticos. En algunos países, la medicina tradicional o medicina no convencional suele denominarse medicina complementaria y es con frecuencia subestimada por no tener una base científica determinada. De las 250.000 especies de plantas con flores en el mundo, más del 10% del total se clasifican como hierbas escogidas por la población por tener una acción terapéutica.<sup>2</sup>

La *Caesalpinia spinosa* (tara), se encuentra distribuida desde Piura hasta Tacna, y en la sierra en los departamentos de Ancash, Apurímac, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Huancavelica, Junín y Pasco crece bien entre los 800 y 3100 metros sobre el nivel del mar.<sup>3</sup> Este árbol crece en zonas secas de la costa peruana por lo cual en investigaciones realizadas sobre este recurso indican que la concentración de taninos que es el metabolito principal que causa el efecto antibacteriano puede variar dependiendo de la zona de donde se obtenga, la fecha de cosecha y por las concentraciones de minerales del suelo.

## 1.2 Problema de investigación:

### 1.2.1 Problema General

¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) procedente de la zona de Lima y de Trujillo frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*?

### 1.2.2 Problemas Específicos

**P.E.1** ¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) procedente de Lima en cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*?

**P.E.2** ¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) procedente de Trujillo en cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*?

**P.E.3** ¿Cuál de los extractos acuosos de *Caesalpinia spinosa* (tara) tendrá mayor actividad antibacteriana?

## 1.3 Objetivos de la investigación

### 1.3.1 Objetivo General

Demostrar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) procedente de la zona de Lima y de Trujillo frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*.

### 1.3.2 Objetivo específicos

**OE1** Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) procedente de Lima en cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*.

**OE2** Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) procedente de Trujillo en cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*.

**OE3** Determinar que extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) tendrá mayor actividad antibacteriana.

### 1.4 Justificación, importancia, limitaciones de la investigación

#### 1.4.1 Justificación

La siguiente investigación brinda una justificación teórica ya que servirá como antecedente para futuras investigaciones pues lo que se busca es poder comparar el efecto antibacteriano de la tara de dos regiones diferentes, debido a estudios realizados a nivel nacional demuestran que cuenta con una actividad antibacteriana de amplio espectro, pero su composición química no será la misma por ser de diferentes zonas.

Así mismo tiene una justificación social porque será útil para la población que no cuenta con recursos necesarios para poder realizar un tratamiento antibiótico de alto costo, puesto que al enfrentar la *Caesalpinia spinosa* de diferentes regiones, con la cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*, se podrá demostrar si tiene acción

antibacteriana y se pueda utilizar como una alternativa antibiótica natural. También se podrá clasificar en aquellas que tengan una mayor efectividad por regiones a si mismo se verá beneficiada la población de las regiones más alejadas del Perú, por que se contara con una nueva alternativa antibiótica de modo que al ser un producto natural no cuenta con las mismas reacciones adversas, evitando así hacer daño al paciente.

#### 1.4.2 Importancia de la Investigación

El presente estudio es de gran importancia ya que aportará información sobre el efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* obtenida de Trujillo y lima, de esta manera se verificará si el lugar de procedencia influye en el efecto deseado, sirviendo de antecedente para futuras investigaciones, motivando a la realización de una clasificación basada en la concentración de taninos.

#### 1.4.3 Limitaciones de la investigación

En el desarrollo de la investigación se presentaron las siguientes limitaciones:

- En la elaboración de diferentes concentraciones del extracto acuoso por falta de equipo de liofilización para dicha preparación.
- En el secado de la muestra por la falta del equipo de liofilización se modificó el método estandarizado a seguir y se tuvo que secar en estufa a menos de 100 °C.

## CAPITULO II

### HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

#### 2.1 Hipótesis de la Investigación:

##### 2.1.1 Hipótesis General

El efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) obtenido de Trujillo será diferente a la de Lima por el tipo de clima de donde se obtuvo.

##### 2.1.2 Hipótesis Específicas

**HE1** El extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) obtenida de Lima tendrá actividad antibacteriana *in vitro* frente a las cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*.

**HE2** El extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) obtenida de Trujillo tendrá actividad antibacteriana *in vitro* frente a las cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*.

**HE3** El efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) de Trujillo presentará mayor efecto inhibitorio.

## 2.2 Variables de la investigación

### 2.2.1 Identificación y clasificación de variables

Variable	Clasificación
Extracto Acuoso de tara	Independiente
Efecto antibacteriano	Dependiente

### 2.2.2 Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA
Extracto Acuoso de tara	Extracto líquido cuyo solvente es el agua la cual conserva sus propiedades químicas.	Marcha Fitoquímica.	gr/dL.
Efecto antibacteriano	Es la inhibición del desarrollo o crecimiento de bacterias debido a la presencia del extracto acuoso de <i>C. spinosa</i>	Medida de halo de inhibición que se forma alrededor del disco antibiótico.	Halo de inhibición en mm.

## **CAPÍTULO III MARCO TEÓRICO**

### 3.1 Antecedentes

#### 3.1.1 A nivel Nacional

Guevara J. **“Evaluación del cocimiento de diferentes biovariedades de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles y resistentes a Oxacilina”**, (2014), Facultad de Medicina, UNMSM. Se comprobó la actividad antibacteriana de tres variedades de tara frente a cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles y resistentes a oxacilina, Se evaluó 31 cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles a oxacilina y 29 resistente fueron aislados de muestras clínicas y se enfrentaron a cocimientos de tara de las zonas de Huamanga, Huarochirí y Tarma, se preparó el cocimiento de tara y se llegó a impregnar en discos blancos para utilizar el método de antibiograma por disco difusión a una concentración de 50 uL. Los tres cocimientos presentaron actividad antimicrobiana frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*; el cocimiento de Huamanga presentó mayor halo de inhibición frente a cepas sensibles y resistentes, la diferencia fue significativa. Se

concluyó que todos los cocimientos presentaron actividad antimicrobiana frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*, pero el cocimiento de Huarochirí presentó menor actividad que los de Huamanga y de Tarma. <sup>4</sup>

Zárate A. **“Efecto *in vitro* antibacteriano del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* “Tara” sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo en el año 2014”**, (2014). Se evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa*, sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* aisladas de muestras clínicas del Hospital Regional Docente de Trujillo. Se tomaron 80 muestras de orina de pacientes con infección a las vías urinarias por *Escherichia coli* y muestras 80 muestras de adultos de pacientes con faringo amigdalitis por *Streptococcus pyogenes*, se aplicó 0.5 ml del extracto acuoso en 8 viales que contenían 10 discos cada uno, para observar el efecto antibacteriano *in vitro* para dichas cepas. Se demostró que el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* comparado con amoxicilina presentó una alta sensibilidad, y comparado con Cotrimoxazol presentó el mismo efecto, y solo en cepas de *Escherichia coli*, haciendo una comparación con el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* con gentamicina presentó el mismo efecto *in vitro*, pero menor efecto frente a Ciprofloxacino. Se concluyó que el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* tiene efecto antibacteriano *In vitro* contra *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli*. <sup>5</sup>

Huarino M. **“Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre flora salival mixta”**, (2013). Se busco determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto alcohólico de la *Caesalpinia spinosa* (tara) 6.25, 12.5 y 25.5 mg por

mililitro; se utilizó la flora mixta salival que fue obtenida a través de hisopado faríngeo y se utilizó el método de disco difusión con el medio de cultivo Müller Hinton y se comparó con un grupo de control positivo de Clorhexidina 0.12 % y Alcohol 70°. se concluye que el extracto alcohólico de tara tiene efecto antibacteriano sobre la flora salival mixta y se determinó que el efecto antibacteriano de la tara sobre flora salival mixta muestra una mayor actividad directamente proporcional a su concentración.,<sup>6</sup>

Añanca E. **“EFECTO ANTIBACTERIANO INVITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DE VAINAS DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, (2009),** “Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman – Tacna, Se propuso determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de las vainas tara frente a bacterias patógenas obtenidas clínicamente. Las vainas fueron molidas para obtener polvo y se estandarizaron las muestras a diferentes concentraciones 17.5, 16.25, 15, 13.75, 12.5, 11.25, 10, 8.75, 7.57, 6.25 mg por mililitro , las cuales fueron impregnados en los discos para el antibiograma, el método microbiológico a utilizar fue disco difusión, las cepas fueron aisladas de manera ambulatoria mediante exudados faríngeos, se demostró que el extracto acuoso presenta inhibición sobre ambas cepas, concluye teniendo como base la escala de Duraffourd se determinó que para *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, presentó una actividad antimicrobiana con sensibilidad media (15 a 19mm), frente al extracto acuoso de la *Caesalpinia spinosa* (tara) de esta manera se logra validar los usos medicinales (folclóricos) respaldados por las investigaciones científicas realizadas.<sup>7</sup>

### 3.1.2 A nivel Internacional

Kondo K. “**Intensificador de susceptibilidad B-lactamasas en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a Oxacilina.**”, (2009). Facultad de ciencias Farmacéuticas, Universidad de Tokushima. Se propuso a determinar la función estructural en relación con las actividades antimicrobianas y de intensificador de susceptibilidad a betalactámicos, se trabajó con el extracto etanólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* , posteriormente se hizo una identificación mediante HPLC también se utilizó un cromatógrafo, espectrofotómetro para la determinación de las variantes de este ácido , estos derivados de galato intensificaron la susceptibilidad del *Staphylococcus aureus* metilino resistente a la Oxacilina, De los cuatro ácidos aislados, el ácido metil ester-O-Galloyquinic demostró mayor efectividad de todos ellos.<sup>8</sup>

Kloucek P. “**Prueba antibacteriana de algunas plantas medicinales peruanas utilizadas En el distrito de Calleria**”, (2005), Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Carlos de Praga .Nueve extractos etanólicos de *Brunfelsia grandiflora* (Solanaceae), *Caesalpinia spinosa* (Caesalpinaceae), *Dracontium lorentense* (Araceae), *Equisetum giganteum* (Equisetaceae), *Maytenus macrocarpa* (Celastraceae), *Phyllanthus amarus* (Euphorbiaceae), *Piper aduncum* (Piperaceae) *Terminalia catappa* (Combretaceae) y *Uncaria tomentosa* (Rubiaceae), plantas medicinales tradicionalmente utilizadas en el distrito de Calleria para el tratamiento de las enfermedades que probablemente se asocian con microorganismos, se examinaron en cuanto a la actividad antimicrobiana contra nueve cepas bacterianas.

Utilizando el método de microdilución de caldo entre las plantas ensayadas, *Phyllanthus amarus* y *Terminalia catappa* mostraron los

más prometedores efectos antimicrobianos, inhibiendo todas las cepas ensayadas con concentraciones inhibitorias (CMI) mínimas comprendidas entre 0,25 y 16 mg / ml. El extracto de la parte aérea de *Piper aduncum* fue significativamente más activo contra los Gram-positivos. <sup>9</sup>

## 3.2 Bases Teóricas

### 3.2.1 *Caesalpinia spinosa* (tara)

*Caesalpinia spinosa* es una planta que proviene de la región andina, popularmente es conocida como tara, crece de manera salvaje y es cultivada en diferentes regiones de Latinoamérica.

Es un recurso vegetal que es utilizada desde hace mucho tiempo en la cultura pre – hispánica para la elaboración de pieles, así como por sus propiedades en la medicina folclórica, actualmente ha convertido en un importante exponente dentro de la economía de numerosas familias debido a la utilización de la vaina de tara, de la cual se extraen los metabolitos principales como son los taninos que son utilizados como una materia indispensable en la industria de curtiembre, también se toma en cuenta a la semilla ya que se aprovecha para extraer la goma de la tara posteriormente utilizada en la industria alimentaria . <sup>10,11,12</sup>

#### 3.2.1.1 Distribución geográfica de *Caesalpinia spinosa*

El Perú tiene la mayor área de bosques de tara, seguido por Bolivia, Chile, Ecuador y Colombia, es considerado actualmente como el productor principal de tara en el mundo con un 80 % a pesar de esto no se logra cubrir la demanda internacional. A nivel nacional se ha logrado distribuir en la costa desde Piura hasta

Tacna y en la parte sierra en los departamentos de Ancash, Cuzco, Huánuco, Ayacucho, Junín y Pasco. <sup>3,10,11</sup>

La época de floración de este recurso empieza desde septiembre y finaliza en enero propagándose en otras zonas hasta marzo dependiendo del lugar y el clima donde se siembre. La cosecha del fruto se inicia en enero, extendiéndose hasta agosto. Se le considera una especie plástica o amoldable pues es debido a que se le encuentra en un amplio rango de climas y tipos de suelos, creciendo bien en suelos francos, arenosos y pedregosos a un pH ligeramente ácido a mediamente alcalino 6 a 7,5. <sup>10,11,12</sup>

Principales variables climáticas:

- Temperatura: puede variar entre los 12° a 18° C, pudiendo lograr crecer hasta en los 20° C en las zonas arenosas. En los valles interandinos la temperatura ideal es de 16° a 17° C. <sup>10,11,12</sup>
- Precipitación: Para que su desarrollo sea óptimo requiere de lugares que estén en un rango de precipitación de 400 a 600 mm, pero también se pueden localizar en zonas que presentan desde 200 a 750 mm. <sup>10,11,12</sup>

#### 3.2.1.2 Dendrología

- Árbol: es la parte con mayor altura se puede encontrar de 4 a 8 metros de altura; puede llegar a medir hasta 12 metros en buenas condiciones de suelo y de agua. <sup>10,11</sup>
- Tronco: presenta una forma corta, cilíndrica y a veces torcido puede llegar a tener hasta 30 cm de diámetro, aunque comúnmente son delgados; es ramificado desde la base y puede presentar espinas cuando es joven. <sup>10,11</sup>

- Corteza: La zona más externa es de un color café o gris y agrietada verticalmente; la corteza interna es de un color crema o amarillenta y muy fibrosa. <sup>10,11</sup>
- Copa: presenta una forma irregular, aparasolada y poco densa, con ramas ascendentes, puede llegar a tener un diámetro de hasta 15 metros. <sup>10,11</sup>

### 3.2.1.3 Caracteres botánicos

- Arbusto: se pueden encontrar arbustos con dos a tres metros de altura de asta corta, cilíndrica, a veces torcido, presenta una coloración gris, áspero provisto de aguijones, ramas delgadas pobladas que se inician desde la base, dando la impresión que puede tener de varios tallos, la parte apical tiene una forma irregular con una sección circular, de cuatro a seis cm de diámetro, aparasolada poco densas, glabras y con aguijones dispersos<sup>11,12</sup>
- Hojas: compuestas de manera bipinnadas, alternas, dispuestas en espiral y cuentan con 6 a 8 pares de lóbulos de forma ovalada y brillantes de 3 cm de largo, columnas de tres a siete cm de longitud, foliolos de siete a ocho pares opuestos elípticos, el ápice marginado, diminutamente apiculada, base asimétrica, sin presencia de pelos, nervaduras secundarias de siete a ocho pares, pierde parcial o totalmente sus hojas en la estación muy seca. <sup>11,12</sup>
- Flores: presentan un color amarillo, organizado en racimos de 8 a 15 cm de largo; pueden contener de 40 a 100 flores hermafroditas. <sup>11</sup>
- Frutos: vainas rojizas, ovaladas, ligeramente comprimidas con una longitud de seis a once cm, con el mesocarpio arenoso, esponjoso, y nueve a doce semillas de unos 1 x 0,5 y unos 0.3 cm de diámetro con forma de riñón, de color

marrón pardo con la superficie lustrosa dura, y con uno de los dos lados más grande.,<sup>10,11.12.13</sup>

#### 3.2.1.4 Clasificación taxonómica de la *Caesalpinia spinosa*

**Nombre científico:** *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze

**División:** MAGNOLIOPHYTA

**Clase:** MAGNOLIOPSIDA

**Subclase:** ROSIDAE

**Orden:** FABALES

**Familia:** CAESALPINACEAE

**Género.** *Caesalpinia*

**Especie:** *spinosa*

**Nombre Vulgar:** “Tara”

Realizado en el museo de historia natural de la UNMSM en el año 2017

#### 3.2.1.5 Composición química de la *Caesalpinia spinosa*

Vainas: Llegan a contener taninos hidrolizables (galotaninos) con un rango de entre los 40 % a 60 % según las condiciones ecológicas en las que se encuentre, la hidrólisis de estos taninos lleva a la división del ácido gálico; también se ha separado el galato de etilo y cuatro galatos del ácido químico correspondiendo a los ésteres metílicos de 4,5-di-O-galoilquínico y de 3,4,5-tri-O-galoilquínico, y a los ácidos 3,4-di-O-galoilquínico y 3,4,5-tri-O-galoilquínico.<sup>14,15</sup>

Semillas: Del endospermo se puede separar la goma o hidrocoloide galactomanánico en la que los componentes monoméricos son la galactosa y manosa.<sup>14,15,16</sup>

Hojas: Contiene, mucílagos, gomas, taninos en una forma de taninos gálicos, antraquinonas, agliconas libres, C-glicósidos, aloe-emodina e iso-emodina, esteroides y flavonoides. <sup>16,17</sup>

- Taninos

Los taninos son compuestos fenólicos que se encuentran en la mayoría de frutos y plantas, cuentan con características como la de ser astringentes, pueden coagular los alcaloides, albumina, celulosa y metales pesados. Cuentan con un peso molecular entre las 500 y 3000 unidades de masa atómica. Se ha podido clasificar unas 500 especies de recursos vegetales que contienen taninos en todo el mundo entre las principales familias *Fabaceae*, *Rosaceae*, *Polygonaceae*, *Fagaceae*, *Rhizophoraceae* y *Myrtaceae*. Químicamente se puede clasificar en taninos hidrolizables y en taninos condensados (no hidrosolubles). <sup>7,18</sup>

Es un producto secundario desarrollado por las plantas y pueden formar complejos con las proteínas, saponinas, alcaloides y polisacáridos produciendo una acción defensiva frente a insectos. <sup>7,18</sup>

Cuando se seca pueden ser polvos de color amarillo y con un aspecto grasiento, tienen una baja densidad y con una alta solubilidad en agua y alcohol, con insolubilidad en éter, benceno y cloroformo, pueden alcanzar altas temperaturas hasta 210 °C. <sup>7,18</sup>

El uso de los taninos es múltiple, principalmente la acción astringente es una de las más importantes pues al unirse los taninos con macromoléculas provoca una precipitación de glicoproteínas que son ricas en prolina, es muy utilizado para la industria del cuero y también tiene usos como tratamientos médicos para escoriaciones y en quemaduras en la piel haciendo

que las proteínas formen una capa protectora antiséptica bajo la cual se regeneran los tejidos. <sup>7,18</sup>

Características de los Taninos:

- Pueden precipitar con albúmina, gelatina, y alcaloides en solución. <sup>7,11,12</sup>
- Con sales de tipo férricas dan coloraciones negro-azuladas y algunas veces de tipo verdosas. Producen un color rojo intenso al unirse con ferrocianuro de potasio y amoníaco <sup>7,11,12</sup>
- Ayudan a precipitar a las proteínas en una solución y se combinan con ellas, haciéndolas que estas se vuelvan resistentes a las enzimas proteolíticas. <sup>7,11,12</sup>

Actividad terapéutica de los Taninos:

- Se pueden utilizar como antídotos para intoxicaciones por metales alcaloides y pesados. <sup>7. 8,19</sup>
- Como astringentes, debido a que cuentan con capacidad para poder precipitar proteínas salivares, proteínas de la piel, entre otros. También por tener capacidad astringente se usa como cicatrizante y por vía interna como antidiarreicos. <sup>7</sup>
- Antisépticos, ya que logran tener una acción bactericida y bacteriostática frente a diferentes microorganismos. También ejercen un efecto antifúngico. <sup>10,19</sup>
- Se puede utilizar también como protector pues los taninos aplicados como pomada en un uso externo impermeabilizan la piel y la protegen de los agentes externos. <sup>7. 19</sup>
- Antioxidante, son capaces de poder captar radicales libres e inhibir la peroxidación de los lípidos y también inhiben la auto oxidación del ácido ascórbico (Vitamina C). <sup>7. 19</sup>

## Clasificación de los Taninos

Actualmente se usa la clasificación Freudenberg que se basa en el tipo de estructura del tanino, dos grupos diferentes de taninos tanto por su estructura como por su origen biogenética: taninos hidrolizables y taninos condensados.<sup>7,18</sup>

- Taninos hidrolizables

Son esterres que están formados por una molécula de azúcar, por lo general este azúcar proviene de la glucosa o un poliol y está unida a un numero de moléculas de ácidos fenólicos como el ácido gálico o ácido elágico que son característicos de las dicotiledóneas.<sup>7,18</sup>

Se pueden hidrolizar con facilidad por la acción de diferentes ácidos, bases o enzimas, en un azúcar, un polialcohol y un ácido fenolcarboxílico. Esto va a depender del tipo de ácido ya que puede producir una reacción y se podría subdividir en: galotaninos (ácido gálico) y elagitaninos (ácido elágico o dilactona estable del ácido hexahidroxidifénico).<sup>10,20</sup>

Como ejemplos de taninos hidrolizables se puede mencionar al subgrupo de galotaninos que se puede obtener de los frutos de *Caesalpinia spinosa*. La característica de este tanino es su fácil hidrolisis por la acción de la enzima tanasa. esto permite asignar la estructura de un éster poligaloílo del ácido químico a dicho tanino, con un peso molecular aproximado de 800.<sup>18,21</sup>

- Taninos Condensados o no hidrosolubles

Los taninos condensados son aquellos polímeros de flavan-3,4 dioles. Los taninos condensados se encuentran presentes en leguminosas tropicales y se pueden encontrar en tres formas principales: extractables (reactivos con proteína), ligados a proteína, y ligados a fibra. Existen leguminosas donde todos los taninos son extractables (e.g. *Acacia boliviana*) y en otras donde todos son ligados (e.g. *Gliricidia sepium*)<sup>22,23</sup>

### 3.2.2. *Staphylococcus aureus*

El *Staphylococcus aureus* pertenece a un grupo heterogéneo de bacterias, es un microorganismo que pertenece al reino de los protistas y se puede encontrar ampliamente distribuido en todo el medio ambiente, puede colonizar tanto al hombre y animales.

Se desarrollan generalmente en forma de racimos de uva, pero también se pueden presentar de formas aisladas o en cadenas de poco tamaño cuando se analiza una muestra clínica. Generalmente se pueden encontrar entre los tamaños de 0.5 y 1.5  $\mu\text{m}$ , no presentan movilidad y pueden desarrollarse en condiciones con poca cantidad de aire en el ambiente (anaerobios) o con alta cantidad de este (aerobio), en presencia de una alta concentración de sal a temperaturas de ente 18 a 40°C. Este tipo de bacterias se encuentra en gran parte de la piel y las mucosas del hombre, el ser humano es considerado como portador asintomático ya que este microorganismo se encuentra entre un 20 y un 40% de los adultos generando diversos tipos de manifestaciones clínicas.<sup>7,24</sup>

Todas las personas presentan alguna vez en la vida un tipo de infección por *Staphylococcus*, que varían en gravedad, este tipo de infección conforma un grupo importante de patógenos para el ser humano ya que puede desencadenar diferentes tipos de enfermedades como de tipo sistémicas poniendo en peligro la vida, así como infecciones de la piel, huesos, tejidos blandos y el aparato urinario.<sup>7,24</sup>

Las colonias de *Staphylococcus aureus* pueden presentar una pigmentación de color amarillo o dorado por sus componentes de tipo carotenoides que forman desde el crecimiento y es por esto que se nombra así a esta especie, produce la enzima coagulasa por la cual se puede identificar, teniendo acción de poder convertir el fibrinógeno en fibrina y produciendo un coagulo, también se identificar con pruebas de termonucleasas, manitol y coagulasa ya que es el único que presenta este tipo de enzima. El *Staphylococcus aureus*, es uno de los microorganismos más resistentes que se existe ya que se puede mantener viable por 6 - 14 semanas en el pus y se necesitan entre unos 15 minutos en exposición al alcohol de 70° para su eliminación.<sup>7,24</sup>

### 3.2.2.1 Taxonomía del *Staphylococcus aureus*

**Nombre científico:** *Staphylococcus aureus*

**Reino:** Bacteria

**Phillum:** Firmicutes

**Clase:** Bacilli

**Orden:** Bacillales

**Familia:** Micrococcaceae

**Género:** *Staphylococcus*

**Especie:** *Staphylococcus aureus*

Fuente: Manual de determinación bacteriológica de Bergey, Novena edición, 1994.<sup>25</sup>

### 3.2.2.2 Fisiología y Estructura del *Staphylococcus aureus*

- Capsula y capa de polisacáridos

Hasta donde se ha investigado se ha logrado determinar once diferentes tipos de serotipos capsulares de *Staphylococcus aureus*. Los serotipos 1 y 2 se ha demostrado que presentan capsulas muy gruesas y colonias con un aspecto de tipo mucoide, pero es raro de que logren producir algún tipo de enfermedad en las personas. Los serotipos 5 y 8 se consideran que son los responsables de ser los que generan la mayor parte de las infecciones. Esta capsula tiene la función de poder proteger a la bacteria y evitar de que sea fagocitada por los leucocitos polimorfonucleares. También la mayor parte de las cepas de *Staphylococcus aureus* pueden producir una película de limo o biopelícula hidrosoluble, está conformada por proteínas, monosacáridos y péptidos de pequeño tamaño, pero va a depender de las condiciones del crecimiento y factores genéticos, esta sustancia tiene como función unir las bacterias a los diferentes tejidos y cuerpos extraños, se encuentra por lo general en aquellos *Staphylococcus* que son coagulasa negativos ya que son avirulentos. <sup>24,26</sup>

- Peptidoglucano y Enzimas

Se considera que el peptidoglucano es la mitad la pared celular en lo que se respecta al peso, está conformado por capas de cadenas de glucano entre unas 10 a 12 subunidades de N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina de manera alternada. Las cadenas de tipo lateral que contienen

oligopéptidos están unidas a subunidades de N-acetilmurámico por puentes de tipo peptídicos. En diferencia con lo que pasa en las bacterias gram negativas, las capas de peptidoglucano están compuestas por capas entrecruzadas, lo que da mayor rigidez a la pared celular. El péptido glucano tiene actividad de tipo endotoxina por que estimula a la producción de pirógenos endógenos y activa al factor de complemento produciendo la interleuquina uno IL-1 por parte de los monocitos y agregación plaquetaria por parte de los polimorfonucleares, por lo cual generan abscesos. <sup>24,26</sup>

Las enzimas que ayudan a catalizar la capa de péptido glucano son llamadas proteínas ligadoras de penicilina (siendo este la diana para diferentes tratamientos de antibióticos). La resistencia bacteriana ha generado que esta enzima mute el gen mec A generando una nueva proteína ligadora de penicilina PBP2a que tiene una baja o nula afinidad por los antibióticos como la metilicina y penicilinas. <sup>24,26</sup>

- Acido teicoicos

Es otro componente destacado dentro de la pared celular de los *Staphylococcus*, son polímeros fosfatados de tipo específicos que se unen por enlaces de tipo covalentes a los residuos de N-acetilmurámico en la capa de peptidoglucano, son pocos inmunógenos, pero pueden estimular la respuesta de tipo humoral cuando se encuentra unida al peptidoglucano. <sup>7,24</sup>

- Proteínas de adhesión para la superficie

Se ha podido identificar un gran número de proteínas de superficie para *Staphylococcus aureus*, que le sirve para adherirse a las proteínas de la matriz del huésped. La gran mayoría de estas proteínas están unidas por enlaces de tipo covalente al peptidoglicano que se encuentra en la pared celular y se les ha designado como proteínas de adhesión (componentes de la superficie microbiana que reconocen moléculas de la matriz adhesivas). Por ejemplo, siendo así que la proteína A de tipo estafilocócica se llega a unir al receptor del factor de complemento de la inmunoglobulina (Ig) G1, Ig G2 e IgG4, la proteína A de tipo ligadora de fibronectina se una a la fibronectina evitando la fagocitosis.  
7,24

### 3.2.2.3 Patogenia del *Staphylococcus aureus*

La patología de las infecciones de tipo estafilocócicas va a depender de la capacidad que tienen estas bacterias para poder evadir a la fagocitosis, a la capacidad para poder producir proteínas de superficie y que logren adherirse a los tejidos del huésped para lograr producir una destrucción de sección tisular por medio de elaboración de diferentes toxinas y enzimas degradadoras. 7,26

- Defensa del *Staphylococcus aureus* frente a la inmunidad innata

Los estafilococos que se encuentran encapsulados se llegan a unir a las opsoninas (que son liberadas por la inmunoglobulina Ig G y el factor C3 del complemento) en el

suero de la sangre, pero estas capsulas llegan a cubrir a las opsoninas en su totalidad protegiéndose de ser fagocitadas por parte de la defensa del huésped como son los neutrófilos polimorfonucleares. Cuando hay un exceso de opsoninas en el huésped se logra fagocitar. La película de limo también llega a interferir con la fagocitosis de la bacteria. Las proteínas de tipo A puede ligarse a las inmunoglobulinas evitando así que sea eliminada por el sistema inmunológico por anticuerpos. <sup>7,26</sup>

- Toxinas estafilococicas

El *Staphylococcus aureus* puede lograr a producir una gran cantidad de toxinas de las cuales figuran cinco toxinas de tipo citolíticas que pueden dañar la membrana de la célula del huésped (alfa, beta, delta, gamma y leucocidina de Panton – Valentine, dos toxinas exfoliativas (A y B) y 18 enterotoxinas (A -R). <sup>7,26</sup>

Las enzimas de tipo citolíticas generalmente se describen como hemolisinas, pero no necesariamente se le da un buen uso a este nombre ya que no solo restringen para los eritrocitos, neutrófilos, porque no logran lisar a este tipo de células. Las citocinas llegan a provocar la destrucción en forma de lisis de los neutrófilos generando así una liberación de un tipo de enzimas lisosomales que posteriormente provocar un daño a los tejidos que se encuentran cerca. <sup>7,26</sup>

La toxina de tipo exfoliativa, enterotoxina y la toxina 1 del síndrome del shock toxico TSST-1 pertenecen a la clase de péptidos conocidos como super antígenos, este tipo de

toxinas se logran unir a los macrófagos en el sitio principal de histocompatibilidad de clase II , las cuales llegan a interactuar con la sub unidad tipo beta de los receptores específicos de los linfocitos T, liberando así una gran cantidad de citocinas por parte de los macrófagos como ejemplo la interleucina IL-1B y factor de necrosis tumoral TNF-B, en el caso de los linfocitos se libera interleucina tipo 2 IL-2 , interferón y el factor de necrosis tumoral TNF-B , a la liberación del factor de necrosis tumoral de tipo alfa y beta se le ha asociado signos clínicos como la hipotensión y shock , a la interleucina 1B se le asocia clínicamente la fiebre. <sup>7,26</sup>

- Citotoxinas

- Toxina tipo alfa

Se le puede encontrar codificada en el cromosoma de la bacteria generalmente está ubicada en los plásmidos, es producida por la mayoría de la cepa de *Staphylococcus aureus* que causan enfermedad en el huésped y es un polipéptido que tiene un peso de 33.000 Dalton. Esta toxina logra modificar el musculo liso de los vasos sanguíneos llegando a ser toxicas para muchas células como a los leucocitos, eritrocitos, plaquetas y hepatocitos. Se logra integrar en las regiones más hidrofóbicas que se pueden encontrar en las membranas de las células del huésped llegando a formar poros de 1 a 2 nanómetros en esta membrana celular generando así que exista un flujo de salida de potasio y de entrada de sodio, calcio y otro tipo de moléculas, llegando a aumentar el volumen por osmosis

y posteriormente a una lisis, a esta toxina se le denomina como un importante mediador de daño tipo tisular.<sup>7,26</sup>

- Toxina tipo beta

Llamada también como esfingomielinasa de tipo C, es una proteína con propiedades termolábiles y tiene un peso aproximado de 35 000 Daltons, es producida por la mayoría de cepas de *Staphylococcus aureus* llegando a provocar enfermedades en el ser humano y los animales, tiene una alta afinidad por la lisofosfatidilcolina y esfingomielina, puede provocar toxicidad en diferentes células como fibroblastos, leucocitos y macrófagos. Lo que hace esta toxina es catalizar la hidrólisis de los fosfolípidos en la membrana en las células, la lisis va a depender de la concentración de la esfingomielina en la superficie de la membrana, se tiene conocido que es el causante de las diferencias de sensibilidad de las distintas especies.<sup>7,26</sup>

- Toxina tipo delta

Se presenta como un polipéptido de 3 000 Dalton de peso molecular y es producido por casi todas las cepas de *Staphylococcus aureus*, tiene una acción hemolítica llegando a afectar a los eritrocitos en los mamíferos y dañando estructuras de la membrana. Tiene una toxicidad de la membrana, pero es inespecífica, también puede actuar como un surfactante alterando la membrana como una acción detergente.<sup>7,24,26</sup>

- Toxina tipo gamma y Leucocidina P-V

Son producidas por la mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus* ambas toxinas son compuestas por dos componentes que generalmente consta de dos cadenas de péptidos: componente S (proteínas de elución lenta) y el componente de tipo F (proteína de elución rápida). Las bacterias que logran producir ambos componentes pueden elaborar seis distintas toxinas y afectar lisando a macrófagos y neutrófilos. La leucocidina P-V presenta acción leuco - toxica, pero no llega a tener acción hemolítica, se puede encontrar en menos del 5% de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina que circulan en el ambiente hospitalario. Estas toxinas tienen gran importancia porque ayudan en la identificación de este tipo de cepas. Su mecanismo consiste en la formación de nuevos poros en la membrana lo que permite que la permeabilidad aumente como la cantidad de cationes produciendo una desestabilización osmótica terminado en una lisis.<sup>7,24,26</sup>

- Toxinas de tipo exfoliativas

Estas toxinas provocan enfermedades que se caracterizan por una dermatitis exfoliativa, la producción de esta toxina va a depender de la zona demográfica en donde se encuentre el *Staphylococcus aureus* se ha determinado que solo hay un porcentaje menor al 5% de las cepas son productores de esta toxina. Se han determinado dos formas de esta toxina (ETA y ETB) ambas producen enfermedad. La toxina ETA tiene propiedad termoestable y se asocia su presencia en los fagos en cambio la toxina

ETB tiene la característica de ser termolábil y también se localiza en el fago. Estas toxinas desdoblan la desmogleína 1 que se encarga de la adhesión celular y tiene responsabilidad de formar los puentes intercelulares en la epidermis. Las toxinas clínicamente no se llegan a asociar a procesos de inflamación ni citólisis ya que en la parte de la epidermis afectada no hay presencia de estafilococos ni plaquetas, esto presenta un dato para el diagnóstico. Después de una exposición de esta toxina el sistema inmune desarrolla anticuerpos. <sup>7,24,26</sup>

- Enterotoxinas

Se ha logrado identificar 18 tipos (de la A hasta la R), como por ejemplo la enterotoxina de tipo A es la que con más frecuencia se puede asociar a intoxicación por alimentos contaminados por *Staphylococcus aureus*. La enterotoxina B llega a producir colitis pseudomembranosa y las de tipo C y D se puede encontrar en productos lácteos, las demás enterotoxinas se conocen en menor escala. Estas enterotoxinas presentan un excelente diseño biológico ya que presenta termo estabilidad pues, aunque se lleve a temperatura de 100°C por más de 30 minutos resisten a la lisis, así como a la lisis por las enzimas del estómago y el yeyuno. Estas enterotoxinas son consideradas como super antígenos ya que son capaces de poder activar e inducir a los linfocitos T y liberación de citoquinas. Clínicamente en resultados histológicos se puede observar características en el estómago y el yeyuno infiltración de neutrófilos en el epitelio y lamina propia subyacente, con pérdida de las células en el borde del cepillo del yeyuno, se cree que esta

estimulación provoca emesis por la intoxicación alimentaria por *Staphylococcus aureus*.<sup>7,24,26</sup>

- Toxina – 1 del síndrome del shock tóxico

La TSST-1 es considerada una exotoxina con características termoestables y llega a ser resistente a la proteólisis y tiene un peso molecular aproximado de 22 000 Dalton y puede ser codificada por los genes. Según estudios un 90% de las cepas *Staphylococcus aureus* causan el síndrome de shock tóxico. En pruebas *in vitro* se determinó que la TSST-1 necesita un pH neutro. Es por ello que podría deberse una baja prevalencia del TSST-1. Tiene la capacidad de poder atravesar mucosas, llegando a provocar efectos de tipo sistémico. La muerte por este tipo de toxina es producida por un shock hipovolémico originando una insuficiencia multiorgánica.<sup>7,24,26</sup>

- Enzimas estafilocócicas

Las cepas de *Staphylococcus aureus* pueden llegar a poseer dos formas de coagulasa una ligada y otra libre , la coagulasa de tipo libre se une a la pared de los estafilococos y puede convertir el fibrinógeno en fibrina para poder forzar la agregación de los estáfalos, la coagulasa de tipo ligada tiene el mismo resultado solo que esta reacciona con un factor de tipo globulina llegando a producir estafilotrombina que actúa semejante a la trombina, la coagulasa puede provocar la formación de una capa de fibrina alrededor de los estafilococos y evitar que sea fagocitado.<sup>7,24,26</sup>

También los estafilococos pueden generar otra enzima que hidroliza los tejidos del huésped y ayudando a la diseminación de la bacteria, como la hialuronidasa que como su nombre lo dice hidroliza al ácido hialurónico.<sup>24,26</sup>

#### 3.2.2.4 Epidemiología del *Staphylococcus aureus*

La familia de los estafilococos se encuentra diseminado por todas las partes del mundo, cada persona porta en la piel estafilococos coagulasa de tipo negativo y por lo general es muy frecuente que estos colonicen los pliegues cutáneos y húmedos. En los recién nacidos se encuentra con mayor frecuencia en la parte del ombligo y la región perianal. Los portadores por excelencia de manera permanente o temporal son los niños y adulto, por lo general en la zona de la nasofaringe, aunque ya existe reporte de que hay una elevada incidencia en la parte nosocomial tanto como los pacientes, personal de salud.<sup>7,27</sup>

Los estafilococos tienen una alta sensibilidad a las altas temperaturas, desinfectantes y tratamiento antibiótico, sin embargo, con el pasar del tiempo y el mal cumplimiento del tratamiento médico las bacterias han creado cierta resistencia frente a diversos antibióticos.<sup>7,27</sup>

#### 3.2.2.5 Enfermedades clínicas

El *Staphylococcus aureus* genera enfermedades mediante la generación de toxinas, contaminación directa en alguna herida en la piel y la destrucción del tejido. La gran mayoría de las manifestaciones clínicas se debe a la actividad de las toxinas, mientras que otras afecciones son el resultado del desarrollo del microorganismo lo cual podría dar lugar producción de abscesos como por ejemplo neumonía, endocarditis, infecciones cutáneas.

Aquellos pacientes que presenten una enfermedad de tipo congénita asociada a deficiencia en la quimiotaxis o en la función de fagocitosis son más propicios para enfermedades mediadas por el *Staphylococcus aureus*.<sup>7,28</sup>

- Síndrome de la piel escaldada por estafilococos

En 1878 Gottfried Ritter vón Rittershain describe 279 casos de neonatos lactantes que tenían menos de un mes de vida y llegaron a presentar una posible enfermedad exfoliativa de tipo ampollosa. Esta enfermedad se caracteriza por iniciar de una manera brusca de un eritema peri bucal que presenta características de inflamación y enrojecimiento alrededor de la boca, que con el pasar de dos días puede expandirse por todo el organismo del neonato. Una prueba es el signo de Nikolsky positivo la cual se realiza presionando ligeramente la piel lo cual debería producir un desprendimiento de la piel. Se generan ampollas con un líquido claro, pero sin presencia de bacterias ni leucocitos, lo cual demostraría que esta enfermedad está causada por la toxina bacteriana. Con un plazo de 7 a 10 días el epitelio logra recuperarse ya que en este lapso de tiempo el sistema inmunológico puede crear anticuerpos, no llega a dejar cicatrices ya que la necrosis que se llega a formar solo afecta a la epidermis. Tiene una mortalidad menos al 5%, por lo general la muerte de los neonatos es por una bacteria oportunista, en el caso de adultos se da en pacientes inmunodeprimidos o con nefropatías y puede llegar hasta un 60 % la mortalidad.<sup>7,28</sup>

- Intoxicación alimentaria por estafilococos

La intoxicación por alimentos contaminados por estafilococos es una de las enfermedades más frecuentes, este tipo de enfermedad está causada por la acción de la enterotoxina de tipo A, los alimentos que se pueden contaminar mayor frecuencia son: los helados, carnes elaboradas, carne curada con sal. El crecimiento del *Staphylococcus aureus* en un medio salado se basa a la capacidad de poder crecer a altas concentraciones de sal. Aunque la contaminación se puede prevenir evitando que personas con enfermedades estafilocócicas evidentes preparen alimentos, ya que la mitad de las cepas de *Staphylococcus aureus* proviene de la nasofaringe con un estornudo o mano contaminada, para que se pueda producir la toxina este alimento contaminado debe permanecer a temperatura del ambiente, con el calentamiento de los alimentos solo se logran eliminar a las bacterias mas no a las toxinas por que presentan una propiedad de ser termoestable a altas temperaturas .<sup>7,28</sup>

Una vez ingerida las toxinas de la bacteria se necesita un tiempo de incubación aproximadamente una media de cuatro horas después de la haber ingerido los alimentos contaminados, el inicio de la enfermedad es rápida y rudo presentando síntomas no mayores a las 24 horas, clínicamente se puede caracterizar por diarrea, vomito, dolor abdominal, nausea y una deshidratación provocada por la diarrea por la pérdida de líquidos. El tratamiento que se brinda al paciente está basado en la en el alivio de los dolores abdominales, diarrea y reposición de electrolitos, no

hay tratamiento antibiótico por que la intoxicación ha sido producida por la toxina mas no por una bacteria por replicación <sup>7,28</sup>

Algunas cepas de *Staphylococcus aureus* pueden llegar a producir enterocolitis, la cual se puede manifestar clínicamente como una diarrea, espasmo abdominal y fiebre, las grandes mayorías de las cepas logran formar enterotoxinas A. Se puede evaluar al paciente después de analizar sus heces ya que estas contienen un alto número de *Staphylococcus*, así como leucocitos. <sup>7,28</sup>

- Síndrome de Shock toxico

El primer reporte de esta enfermedad se dio en Australia en 1928 en 21 niños, de los cuales 12 murieron por recibir una ampolla contaminada con *Staphylococcus aureus*. 50 años después J. K Todd reporta la enfermedad en 7 niños con enfermedad sistémica y a partir de 1980 recién se reportaron casos de SST en mujeres en el periodo de menstruación. Con el tiempo se demostró que las cepas de *Staphylococcus aureus* productoras de SSTT-1 se replicaban en los tampones y liberaban sus toxinas. <sup>7,29</sup>

Esta enfermedad empieza con un crecimiento de cepas *Staphylococcus aureus* en la vagina o en alguna herida luego es seguida por una liberación de la toxina al torrente sanguíneo. Para que se pueda generar esta toxina necesita de un ambiente aerobio y un pH neutro, los cuadros clínicos aparecen de forma espontánea y bruscos como hipotensión, fiebre y exantema eritematoso macular difuso. Si no es

tratado puede llegar a formar una sintomatología multiorgánica como el sistema nervioso central, digestivo, hepático, muscular, hematológico, la piel se llega a descamar en todo el cuerpo. Una forma más violenta de esta enfermedad puede producir una purpura fulminante que se caracteriza por hipotensión, coagulación intravascular diseminada. <sup>7,29</sup>

Tiene una mortalidad menor al 5 %, sin embargo, tiene un 65 % de recaída a no ser que el paciente se llegue a tratar adecuadamente con los antibióticos eficaces. <sup>7,28,29</sup>

- Infecciones cutáneas

Dentro de las infecciones cutáneas por estafilococo se puede sub dividir en folículos, forúnculos, ántrax e impétigo. El impétigo, es una infección capaz de afectar superficialmente sobre todo a los niños, por lo general se presenta en las extremidades y en la cara, inicia como una pequeña macula de características roja y aplanada posteriormente se desarrolla hasta llegar a hacer una pústula, esta infección por lo general se da por cepas de *Staphylococcus aureus*, aunque también se da por contaminación por estreptococos del grupo A, las cepas de *Staphylococcus aureus* representan cerca del 20 % de casos. <sup>7,28</sup>

Foliculitis es una infección de los folículos pilosos, esta base de los folículos se encuentra enrojecida y hay una acumulación de pus debajo de la epidermis, cuando llega a afectar a los parpados se le conoce como orzuelo.

Forúnculos es una extensión de la foliculitis que son nódulos elevados y dolorosos, donde se acumula tejido necrótico.<sup>7,28</sup>

- Neumonía

Es una enfermedad respiratoria causada por *Staphylococcus aureus*, la cual se puede generar después de una aspiración de secreciones bucales o por una diseminación hematógena. La neumonía adquirida por aspiración se observa principalmente en jóvenes y adultos, pacientes con anamnesis de fibrosis quística, gripe o enfermedades obstructivas crónicas. Clínicamente se puede observar en radiografías donde se puede ver presencia de infiltrados o abscesos por la secreción de toxinas y enzimas citotóxicas. Neumonía de diseminación hematógena es frecuente en pacientes con endocarditis, las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina son responsable de una neumonía necrosante con hemoptisis masiva, se ha relacionado más a menudo con los niños, adultos, no existe límite de edad para esta enfermedad.<sup>7,25,28</sup>

### 3.2.3 Antibióticos

Los antibióticos es el ejemplo más sobresaliente dentro de los avances de la medicina moderna. Muchas de las enfermedades de tipo infecciosas que eran consideradas sin tratamiento, incurables y letales ahora son susceptibles a un tratamiento con unas cuantas píldoras. Su actividad es muy notoria y a la vez específica esto va a depender de su selectividad en los sitios exclusivos de la bacteria.

30,31

El descubrimiento más importante se dio en el año 1928 que el científico Alexander Fleming durante un proceso de investigación bacteriológica de un cultivo de estafilococos en el hospital de Santa Maira en Londres, descubre que hubo una contaminación en sus placas con un moho (hongo), estas placas con estafilococos no desarrollaron colonias, debido a que este hongo pertenecía al género de *Penicilium*, a pesar de que esta investigación fue comprobada por diferentes estudios e investigadores , tuvo que pasar más de diez años para poder obtener un resultado clínico para el uso en seres humanos. En el año 1941 recién se comienza a darle un uso terapéutico en aquellos pacientes gravemente infectados.<sup>30,31</sup>

Este término que engloba a muchos fármacos llega a ser propuesto por Waksman, el científico que descubre la estreptomicina, lo define a las sustancias químicas producidas por diferentes especies de microorganismos como por ejemplo bacterias, hongos y actinomicetos que llegan a suprimir el crecimiento de otros microorganismos y pueden causar su destrucción. Estos antibióticos pertenecen a un gran grupo dentro de la farmacología ya que están diseñados para cumplir una función frente a diferentes microorganismos y así poder distribuirlos y controlar el número de estos de una manera que el sistema inmunológico pueda eliminar por su totalidad a estos microorganismos.<sup>30,31</sup>

### 3.2.3.1 Actividad antimicrobiana

Los diferentes antimicrobianos se logran comportar de diferentes maneras como bactericidas y bacteriostáticos.

- Bactericidas: llegan a producir la muerte de los microorganismos, pertenecen a este grupo los

betalactámicos, aminoglucósidos, polimixinas, quinolona y nitrofurantoinas.<sup>30,32</sup>

- Bacteriostáticos: inhiben el crecimiento bacteriano, pero aun así el microorganismo puede permanecer viable ya que si se detiene el tratamiento puede recuperarse y empezar a multiplicarse.<sup>30,32</sup>

El ser un agente bactericida o bacteriostático va a depender del mecanismo de acción, estructura química del antibiótico, concentración del antibiótico, tipo de microorganismo, fase de crecimiento bacteriano. Así por ejemplo los betalactámicos solo llegan a ser bactericidas cuando se encuentran en la fase de crecimiento activo, mientras que las polimixinas en cualquier fase.<sup>30,32</sup>

Actualmente se exige una cuantificación de la actividad antibacteriana y se puede lograr por métodos *in vitro* para poder comprobar la sensibilidad del microorganismo en relación al antibiótico.<sup>30,32</sup>

- Concentración mínima inhibitoria (CMI): es la menor concentración del antibiótico para inhibir el crecimiento bacteriano de  $10^5$  bacterias en 1 mL de medio de cultivo.<sup>31,32</sup>
- Concentración mínima bactericida (CMB): es la menor concentración capaz de matar  $10^5$  bacterias en 1 mL de medio de cultivo.<sup>31,32</sup>
- Punto de corte de sensibilidad: concentración de antibiótico por debajo de la cual se considera sensible una determinada especie bacteriana.<sup>30,32</sup>

### 3.2.3.2 Clasificación de los antibióticos

- Según el efecto. - Estos medicamentos se van a clasificar según el efecto y sobre la acción que causan sobre la bacteria que pueden ser bactericidas o bacteriostáticos, el cual la acción principal consiste en poder inhibir el crecimiento o poder lizar a las bacterias. Esta clasificación se puede considerar relativa pues ya muchos de estos antibióticos el efecto bactericida va a depender de la concentración, es lo mismo decir que a niveles bajos del antibiótico se puede considerar que logra realizar una acción bacteriostática, mientras que en niveles altos puede considerarse una muerte del microorganismo.<sup>31,33</sup>
- Por su espectro. – Se mide por su espectro tomando términos como espectro amplio, medio y corto, Algunos fármacos como por ejemplos cloranfenicol y las tetraciclinas pueden actuar en diferentes sectores y por eso se le puede acuñar el nombre de amplio espectro, otros antibióticos por ejemplo la penicilina actúa solo en un sector restringido como son cocos gramnegativos y grampositivos, bacterias gram positivas y espiroquetas, por eso se le denomina de medio espectro. También existen otros antibióticos que pueden presentar una acción limitada como la dicloxacilina que solo actúa sobre *Staphylococcus epidermis* sensibles y por eso se le considera de corto espectro.<sup>31,33</sup>
- Según su estructura química. -Esta clasificación va a depender en la similitud química que pueden tener algunos antibióticos según sus núcleos bases en la estructura, la

cuales le ofrecen la similitud y semejanza en las propiedades físico – químicas y hasta farmacológicas.<sup>31,33</sup>

- Según su mecanismo de acción. -se puede clasificar como:
  - Medicamentos que imposibilitan la síntesis de proteínas de la pared bacteriana afectando a la formación del péptido glucano.
  - Fármacos que inhiben la síntesis proteica a un nivel ribosomal aquellos que afectan al nivel de la subunidad 30S y aquellos que afectan a la 50 S.
  - Aquellos fármacos que afectan el metabolismo de los ácidos nucleicos.
  - Anti metabolitos que pueden antagonizar a los metabolitos en la síntesis del ácido fólico.

### 3.2.3.3 Betalactámicos

Son antibióticos de origen natural o semisintéticos, que contienen dentro de su estructura un anillo heterocíclico de cuatro átomos, tres de carbono y uno de nitrógeno y se van a diferenciar según la naturaleza de sus radicales, siendo las cadenas de los laterales aquellas que están relacionados con la actividad farmacológica, farmacocinética y toxicidad.

Es uno de los grupos antibióticos con mayor uso en la parte clínica, son compuestos bactericidas de acción lenta, su acción va a depender de la concentración que se va a encontrar a nivel plasmático, no presenta demasiada toxicidad para el paciente y contiene un amplio margen terapéutico. el espectro de los betalactámicos incluye bacterias grampositivas, gramnegativos y

espiroquetas, no son activos sobre micoplasmas ya que estas carecen de papel celular.<sup>31,33</sup>

El mecanismo consiste en la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana, cortando la síntesis de peptidoglicano en la transpeptidación de la enzima ligadora de penicilina PBP, pero también actúan activando la lisina bacteriana endógena, se le puede considerar que son bactericidas parciales pues solo interfieren en el crecimiento celular.<sup>31,33</sup>

Tienen un espectro de actividad antimicrobiana que abarca a cocos grampositivos, excepto *Staphylococcus* resistente a meticilina y BGN (enterobacterias y no fermentadores), con excepción de los productores de enzimas que hidrolizan las moléculas de estos agentes (productores de betalactamasas).<sup>31,33</sup>

- Penicilinas

Las penicilinas son un grupo que pueden compartir características químicas, así como mecanismo de acción y peculiaridades en el sistema inmune con los monobactámicos, cefalosporinas, todos son compuestos betalactámicos por que contienen todos en su estructura un anillo betalactámico.<sup>31,33</sup>

#### Composición química de las Penicilinas

Químicamente todas las penicilinas contienen en la estructura base un anillo de tiazolidina que está unido a un anillo betalactámico que lleva un grupo amino secundario. Contiene radicales que le van a dar las características

farmacocinéticas y farmacológicas que las va a hacer diferenciar de los demás antibióticos. La integridad estructural del núcleo del ácido 6-aminopenicilánico es indispensable para la actividad biológica. Cuando las betalactamasas aquellas enzimas de defensa de las bacterias atacan al anillo betalactámico da como resultado el ácido peniciloico que carece da actividad.<sup>31,33</sup>

### Clasificación de las Penicilinas

Los radicales pueden presentarse en la fracción del ácido 6 – aminopenicilánico que va a determinar las propiedades antibacterianas y farmacológicas esenciales de las moléculas resultantes. Dentro de los grupos hay compuestos que pueden ser estables a la acidez y para la administración oral.<sup>31,33</sup>

- Penicilinas (Penicilina G)

Tienen la máxima actividad frente a microorganismos grampositivos, cocos Gram positivos aerobios no productores de beta lactamasas, pues sin embargo tienen baja actividad contra bacilos gramnegativos y son susceptibles a la hidrolisis por las lactamasas.<sup>31,33</sup>

- Penicilinas anti estafilocócicas (Nafcilina)

Tienen alta resistencia a las betalactamasas de los estafilococos por lo cual tienen actividad frente a estreptococos y estafilococos, pero no contra los

enterococos, cocos, bacterias anaerobias y bacilos Gram negativos.<sup>31,33</sup>

- Penicilinas de espectro ampliado (ampicilina y aquellas contra pseudomonas)

Son fármacos que conservan el espectro antibacteriano de la penicilina y tienen una alta actividad contra microorganismos gramnegativos, tienen alta susceptibilidad por la hidrólisis de las enzimas betalactamasas.<sup>31,33</sup>

#### Unidades de la Penicilina

La actividad de la penicilina se llegó a definir en unidades, la penicilina G sódica contiene casi 1600 unidades por mg (1 unidad = 0.6 ug: lo cual indica que por cada 0.6 gramos hay 1 millón de unidades). Las penicilinas de tipo semisintéticas se llegan a prescribir por eso, la concentración máxima inhibitoria suele expresarse en ug/ml, la mayor parte de las penicilinas se expresa como sal de sodio o de potasio.<sup>31,33</sup>

#### Mecanismo de acción de las Penicilinas

Las penicilinas, como otros miembros de los antibióticos betalactámicos, son capaces de poder inhibir la proliferación de tipo bacteriana por evitar la transpeptidación en la síntesis de la pared celular, ya que esta mantiene la forma e integridad de la célula e impide su lisis por la presión osmótica alta. Esta pared celular está constituida por un polímero de alta complejidad de polisacáridos y polipéptidos con enlaces cruzados de glucano (mucopéptido y mureína) contiene alta cantidad de azúcares. La proteína de unión de penicilina PBP es una enzima que se encarga de retirar la alanina lateral en el proceso de formación del enlace

cruzado con un péptido que se encuentre cerca, estos enlaces se encargan de dar la rigidez a la estructura. <sup>31,33</sup>

Los antibióticos betalactámicos son compuestos semisintéticos que tienen la similitud estructural con la D-Ala-D-Ala natural y se une de manera covalente al sitio activo de la PBP inhibiendo la transpeptidación y a la vez deteniendo la síntesis de peptidoglucano por lo cual la bacteria muere, los antibióticos betalactámicos solo eliminan las bacterias cuando están en el proceso de crecimiento activo y síntesis de la pared celular. <sup>31,33</sup>

### Resistencia a las Penicilina

La resistencia a la penicilina se debe a algunos mecanismos de defensa de la bacteria:

- Inactivación de los antibióticos por la betalactamasa.
- Modificación del sitio de acción de la PBP.
- Alteración de la penetración del fármaco a la PBP.
- Bomba de eflujo.

Por lo general la formación de enzimas betalactamasas son las que forman resistencia en mayor porcentaje, seguido de la alteración en la proteína fijadora de penicilina (PBP) la cual constituye una resistencia a la meticilina en el caso de los estafilococos y la resistencia a las penicilinas en neumococos y entero cocos, ya que estos microorganismos llegan a producir PBP con baja afinidad a los sitios de unión de los microorganismos betalactámicos y como consecuencia no se llega a inhibir<sup>31,33</sup>

## Farmacocinética de las Penicilinas

Una dosis aplicada de manera intramuscular de 500mg puede alcanzar una concentración máxima de 5,3 a 10,9µg/mL después de 30 a 60 min. Un pico de aprox. 52 – 63µg/mL se alcanza posterior a una dosis endovenosa de 500mg. Se llega a unir a la proteína plasmática en un 89 - 94%. Tiene una vida media de 0,5 a 1h, prolongándose a 2 h en pacientes con insuficiencia renal severa. Se metaboliza parcialmente a nivel hepático. Se requiere ajustes de dosis en pacientes con depuración de creatinina < 10mL/min. <sup>32,34</sup>

## Precauciones de las Penicilinas

Durante el embarazo cruza la barrera placentaria pero los estudios realizados no han documentado problemas. Durante la lactancia: se puede eliminar en pequeñas cantidades en leche materna, pero no ha sido asociado a efectos adversos en el lactante. En caso de niños la eliminación renal retardada en neonatos y el lactante menor, que debe considerarse para su dosificación. problemas. Insuficiencia renal: considerar reducción de dosis o prolongación del intervalo en caso de depuración de creatinina < 10mL/min. Insuficiencia hepática: reducción de la dosis o prolongación del intervalo puede ser requerida en enfermedad hepática severa; hay mayor riesgo de hepatotoxicidad en las personas infectadas por el HIV. Hipersensibilidad: es más frecuente si hay historia de alergia, asma, rinitis alérgica o urticaria, asociada a alopurinol. Reacción de hipersensibilidad cruzada con cefalosporinas. <sup>33,34</sup>

### 3.2.4 Extractos

Los extractos son una mezcla de principios activos, sustancias o esencias que pueden ser obtenidos por diferentes métodos fitoquímicos a partir de recursos vegetales, haciendo uso de diferentes solventes como agua, éter, entre otros para la separación del mismo, utilizando diferentes técnicas, como la maceración, percolado e infusión.<sup>33,35</sup>

#### 3.2.4.1 Tipos de extracción:

- Maceración: es un proceso líquido – sólido que se basa en la obtención de sustancias a partir de vegetales, el proceso consta de dejar reposar el recurso previamente fragmentado con un disolvente líquido (etanol o agua, se prefiere el etanol puesto a que a largos periodos de tiempo el extracto acuoso puede generar la fermentación o el crecimiento de microorganismos) en óptimas condiciones de temperatura generalmente a 25° C y condiciones de ambiente como un lugar oscuro y fresco por periodos de 1 semana para poder extraer la mayor cantidad de analitos, posteriormente se filtra la parte líquida donde se encuentran los principales analitos llegando a evaporar el solvente .<sup>33,35</sup>
- Percolado: es un método de extracción alcohólica y acuosa que consta de colocar el recurso vegetal con el solvente líquido en un percolador regulando continuamente el goteo, teóricamente se llega a decir que cada gramo equivale a 1 ml del extracto.<sup>33,35</sup>

El tipo de solvente (agua o alcohol) a emplear va a depender sobre el tipo de componente que se quiere extraer, por la

naturaleza química de los compuestos, así como el rendimiento de estos.<sup>33,35</sup>

- Infusión: extracción con agua caliente. pero sin llegar a someterla a una ebullición.<sup>33,35</sup>

### 3.2.5 Ensayos microbiológicos

#### Método de difusión en agar (Kirby - Bauer)

Es el método recomendado por la CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) para poder realizar la prueba de sensibilidad a los antibióticos y es el método que se encuentra más descrito en forma completa ya que están respaldadas por datos clínicos reproducibles, consta con la característica de ser accesible económicamente y puede ser utilizado por los todos laboratorios en el mundo, el fundamento de este método consta de utilizar un medio de cultivo nutritivo no selectivo que ayude al crecimiento bacteriano, se llega a utilizar el medio Müller Hinton ya que presenta buena reproducibilidad lote a lote y su contenido de inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina son bajos, posteriormente se inocula el microorganismo a estudiar a la superficie de una placa con el agar Müller Hinton, sobre el cual se van a colocar discos antibióticos con una concentración conocida, estas placas se van a incubar por 16 a 18 horas ya que es el tiempo que se demora el *Staphylococcus aureus* en poder reproducirse a una temperatura de 35 a 37 °C que simula la temperatura corporal humana, durante este periodo el antibiótico va a estar afectando el crecimiento de esta bacteria hasta que ya no sea capaz de poder inhibir el crecimiento del microorganismo en estudio. El resultado que se obtiene es un área sin crecimiento bacteriano la cual se puede medir en milímetros de

diámetro, según la CLSI se puede considerar que la bacteria es sensible, intermedicamente sensible o resistente al antibiótico que se quiere probar sensibilidad.<sup>7,36</sup>

Para que estos resultados sean confiables, se deben cumplir ciertos parámetros:

- Medio de cultivo: Agar Müeller Hinton debe cumplir con los siguientes parámetros:
  - Repartir 60 ml – 70 ml del agar de manera que quede en 4 mm de grosor de la placa.
  - pH: 7.2 a 7.4 si el pH es bajo puede reducir la potencia de los antibióticos y si es muy alto pueden aumentar la potencia.
  - Cationes divalentes: las variaciones de calcio y magnesio pueden afectar los resultados con las tetraciclinas y aminoglucósidos.
- Inoculo joven: ajustar la turbidez equivalente a 0.5 en la escala de Mc. Farland lo cual equivale a  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml.
- Discos de antibióticos de papel filtro Whatman n°1 de 6 mm de diámetro.

### 3.3 Definición de términos básicos

- **Quimioterapia:** procedimiento terapéutico que emplea sustancias químicas, suele consistir en una combinación de medicamentos administrados por vía oral o por vía intravenosa. De cualquier forma, se considera un tratamiento sistemático porque los fármacos entran en la circulación sanguínea y llegan a todas las regiones del cuerpo.

- **Halo de inhibición:** zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen. Es una medida de la potencia del antibiótico frente al germen.
- **Antibiograma:** Método o prueba que determina la sensibilidad de los gérmenes a los antibióticos.
- **Infección comunitaria:** Son aquellas enfermedades, generalmente comunes, que se adquiere en la vida diaria. Entre ellas son más fácilmente identificables los brotes que ocurren en colectivos ya sean colegios, restaurantes.
- **Principios activos:** sustancias con actividad biológica que tienen a capacidad de interactuar con nuestro organismo y sus distintos sistemas, al margen de la procedencia biológica o sintética de ciertos componentes.
- **Producto natural:** es un compuesto químico producido por un organismo vivo en la naturaleza.
- **Dendrología:** rama de la botánica que estudia la identificación, clasificación y distribución de las plantas, árboles y arbustos.
- **Endospermo:** tejido nutricional formado en el saco embrionario de las plantas con semillas, sirve como fuente de nutrientes para el embrión durante la germinación.

## **CAPÍTULO IV METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### 4.1 Tipo y nivel de la investigación

#### 4.1.1 Tipo de investigación

Analítico: debido a que se realizó la interpretación de datos para determinar que tara genero mayor efecto inhibitorio.

Transversal: debido a que la investigación se realizó en un determinado tiempo y las variables fueron observadas en un solo momento después de transcurrir 24 horas después de haber realizado el cultivo.

Prospectivo: la medición de la variable se realizó desde el punto de inicio en adelante.

#### 4.1.2 Nivel de Investigación

Descriptivo: Se describieron diferentes tamaños de halos de inhibición en las placas de cultivo con cepas de *Staphylococcus aureus*.

Comparativo: En el presente estudio se comparó el efecto antibacteriano de una misma especie de *Caesalpinia spinosa*, pero de dos regiones diferentes.

## 4.2 Método y Diseño de la investigación

### 4.2.1 Método de la investigación

Deductivo: Partiendo de datos generales podemos deducir que el extracto acuoso de Trujillo tiene mayor efecto, ya que el tipo de tierra donde crece tiene menos contaminación y mayor cantidad de minerales.

### 4.2.2 Diseño de la investigación

Experimental: debido a la introducción y manipulación de los extractos acuosos para la determinación del efecto antibacteriano, ya que se cuenta con un grupo de control positivo constituido por Oxacilina y Vancomicina además de un grupo experimental representado por el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) a una concentración de 25 uL.

## 4.3 Población y Muestra de la Investigación

### 4.3.1 Población.

- *Caesalpinia spinosa* (tara) de Lima.
- *Caesalpinia spinosa* (tara) de Trujillo.

La verificación taxonómica se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. (Anexo Figura 25).

#### 4.3.2 Muestra

- 10 g *Caesalpinia spinosa* (tara) De Lima.
- 10 g *Caesalpinia spinosa* (tara) De Trujillo.

#### 4.4 Técnicas e instrumento de la recolección de datos

##### 4.4.1 Obtención del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa*

La recolección de las vainas de *Caesalpinia spinosa* se realizó en el distrito de La Libertad en el departamento de Trujillo y en el distrito de Huarochirí en el departamento de Lima en el mes de septiembre del año 2017, en el tiempo de maduración de la *Caesalpinia spinosa* que es donde llegan a tener una alta concentración de taninos.

La extracción acuosa de la *Caesalpinia spinosa* se realizó en las instalaciones del laboratorio cosmético Juman (ver anexo, figura 19), la cual nos brindó los equipos que utilizamos totalmente calibrados para realizar nuestra investigación.

Se seleccionaron aquellas vainas que estuvieron sin algún tipo de daño físico, se limpiaron con agua y alcohol, se llevó a la estufa durante 4 horas a 70°C donde posteriormente se pulverizó con un mortero, se obtuvo un aserrín de *Caesalpinia spinosa* con características de finura, olor a café y sabor amargo. Se realizaron pruebas sensoriales al aserrín de *Caesalpinia spinosa* de ambas regiones y la que tuvo mayor sabor amargo (que es una característica astringente de la *Caesalpinia spinosa*) fue la muestra de Trujillo.

Una vez que fueron pulverizadas las muestras se procedió a pesar 10 g del aserrín de *Caesalpinia spinosa* de cada región, a estas se le agregó 50 mL de agua destilada, dejándolas reposar durante 4 horas

en Baño María a 67 °C a continuación se filtraron con papel Whatman N° 41, 4 ,2 para poder obtener un extracto puro.

Por falta de equipo de liofilización se tuvo que modificar el método de secado de las muestras, por lo cual la solución resultante se llevó a secar en estufa a una temperatura de 50 °C durante 8 horas donde se obtuvo un residuo semisólido, se llegó a tomar posteriormente 1 ml de la muestra de cada región y se llevó a estufa a 100°C para secar la muestra, donde se obtuvo una relación de rendimiento, por cada 1mL de extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* hay 0.83 mg de tara (obteniendo un rendimiento de 30%) posteriormente fue guardado a temperatura de 2°C registrado por un termohigrometro en un frasco de vidrio cubierto con papel aluminio hasta el momento de su utilización.

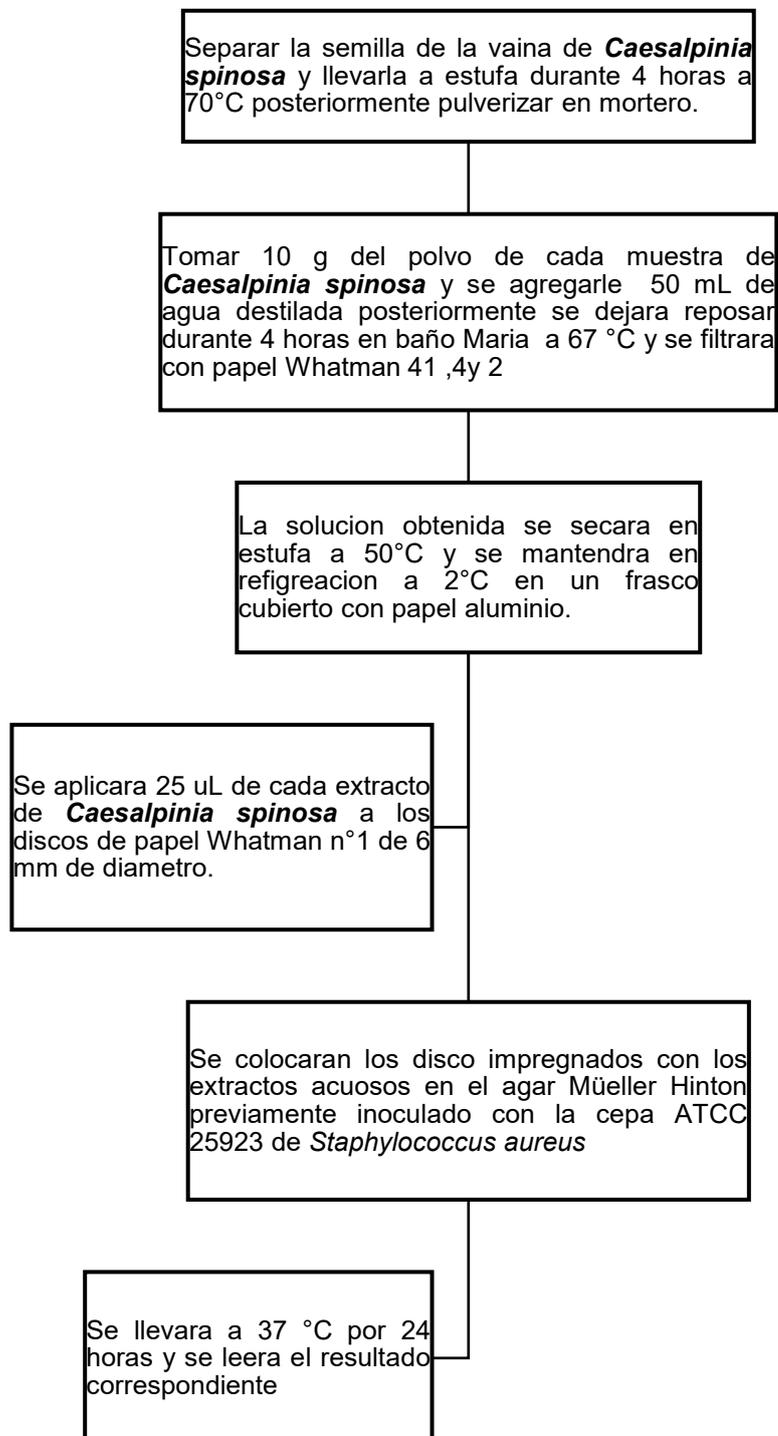
#### 4.4.2 Instrumentos

Para la siguiente investigación se utilizó:

- Ficha de recolección de datos microbiológico. (Ver figura 25 en anexos).

#### 4.5 Procedimiento de extracción de la muestra:

##### Flujograma de trabajo



Fuente: Elaboración propia 2017

#### 4.5.1 Análisis fitoquímico de los metabolitos secundarios de la *Caesalpinia spinosa* (tara)

En una solución del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* se le realizaron las siguientes pruebas para determinar metabolitos secundarios que presenta el recurso vegetal.

a) Determinación de taninos:

- Gelatina – cloruro de sodio: en 1 mL de la muestra se le agrego 3 gotas del reactivo y posteriormente se centrifugo quedando en el fondo un precipitado color blanco confirmando la presencia de taninos.

b) Determinación de flavonoides:

- Cloruro férrico: se colocó en un tubo de ensayo 1 mL del extracto acuoso con una pequeña limadura de magnesio y con un gotero se le adicionaron 3 gotas de HCl concentrado. Después de 10 minutos en reposo no hubo presencia de coloración naranja indicando la presencia de flavonoides.

c) Determinación de quinonas:

Se trituro en un mortero vainas de tara para poder obtener un polvo fino para realizar los siguientes ensayos:

- Solubilidad en NaOH al 5%: se introdujo en un tubo de ensayo 10 mg del polvo de la muestra y se le añadió 0.2 mL de etanol y 0.4 mL de NaOH al 5%, hubo cambio de coloración que indicio una presencia de compuestos quinonicos.
- Reacción de Bornträger: se tomó un gramo del polvo fino de tara y se trató con NaOH al 5% en caliente, posteriormente se filtró y se dejó enfriar, se le añadió HCl al 20 % para poder acidificar la reacción. Para continuar se llegó a separar la base bencénica y se agregó NH<sub>4</sub>OH y no hubo coloración rosada o roja que indicara la presencia de antraquinonas.

d) Determinación de alcaloides:

- Reactivo de Dragendorff: para poder preparar el reactivo se disolvió 8 gramos de  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en 20 mL de  $\text{HNO}_3$  y se mezcló con 50 mL de una solución acuosa que contenía 27.2 gramos de KI donde se dejó reposar la solución, posteriormente se decantó y se llevó a un volumen de 100 mL. Se agregaron unas cuantas gotas del reactivo recién preparado a nuestra muestra de polvo de tara y no hubo aparición de precipitado naranja.
- Reactivo de Mayer: para preparar el reactivo se disolvió 1.36 gramos de  $\text{HgCl}_2$  en 60 mL de agua y se le adicionaron 10 mL de una solución que contenía 5 gramos de KI y se diluyó hasta tener un volumen de 100 mL. Al agregar esta solución a la muestra de tara se observó un precipitado blanco.

e) Determinación de Cumarinas:

- NaOH 10%: se añadieron 2 gotas del extracto acuoso de tara en una tira de papel Whatman y se le agregó una gota de NaOH al 10%, se pasó a observar una fluorescencia verde amarillenta bajo una lámpara UV a 365 nm indicando la presencia de cumarinas fijas.

#### 4.5.2 Ensayos microbiológicos:

a) Preparación del Agar Müeller Hinton

Se preparó el medio de cultivo a partir de la base deshidratada con las indicaciones del fabricante, se autoclavó y se dejó enfriar hasta los  $45^\circ\text{C} - 50^\circ\text{C}$ , se estandarizó el medio de cultivo (ver anexo figura 23) y se midió el pH con, el cual nos dio un valor de 7.2 a temperatura ambiente, según lo estipulado por el Instituto Nacional de Salud, el grosor de la placa fue de 4 mm.

b) Preparación del inóculo

Con un asa de kollé se tomaron colonias de la cepa previamente identificada de *Staphylococcus aureus*, se transfirió a un tubo que contenía 5mL de agua estéril para inóculo (Marca Beckman Coulter, Sterile Inoculum Water, 3mL (60/Pk).

Las colonias en él tubo fueron homogenizadas y se estandarizo por comparación de turbidez en un colorímetro modelo (Siemens MicroScan Turbidity Meter B1018-66) la cual mide la absorbancia a 625 nanómetros y nos dio como resultado en el colorímetro 0,5 en la escala de Mc Farland que corresponde a  $10^8$  células/mL.

c) Preparación de los discos difusión y determinación de la sensibilidad antimicrobiana

Para esta prueba se utilizó el método de inoculación directa, el cual consta de utilizar la suspensión anteriormente estandarizada de la prueba de Mc. Farland sin previa incubación, se sumergió un hisopo estéril el cual se roto varias veces en la solución estandarizada, posteriormente ejerciendo una ligera presión sobre las paredes del tubo se trató de evitar el exceso de inóculo en él hisopo.

Con el hisopo se inculó las placas de agar Müeller Hinton haciendo rotar el hisopo, logrando hacer un estriado en cuatro direcciones sobre toda la placa, después se dejó secar por 15 minutos.<sup>7</sup> Para poder agregar los extractos acuosos de *Caesalpinia spinosa* a los discos de papel Whatman número uno de 6 mm de diámetro, se utilizó una micropipeta con una punta de 25 uL, la cual nos sirvió para agregar dicha concentración de cada uno de los extractos acuosos de las vainas de *Caesalpinia spinosa* procedente de Lima y Trujillo.

Esta concentración se vertió los discos y se dejó secar durante 15 minutos. Obteniéndose un total de 30 discos impregnados a la misma concentración (15 discos de Lima y 15 discos de Trujillo). Posteriormente utilizando una pinza estéril se colocaron los discos y se aplicaron en la superficie de las placas del agar Müller Hinton con *Staphylococcus aureus* haciendo una ligera presión para permitir un contacto homogéneo. Estas placas fueron llevadas a incubar a 37 °C por 24 horas después de la cual se realizó la lectura de presencia de los halos de inhibición y la medición del diámetro (en milímetros) de los mismos.<sup>36</sup>

#### 4.5.3 Procesamiento estadísticos de datos

- SPSS

La aplicación SPSS Statistical Package for the Social Sciences, que en su traducción al castellano quedaría como “Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales” permite realizar análisis de tipo estadísticos y gestión de información que permite trabajar con datos de procedentes de distintos formatos que puede generar desde gráficos sencillos de distribuciones y estadísticos de tipo descriptivo como por ejemplo la tabulación y frecuencias de cruce, estadísticas de dos variables, además pruebas T, ANOVA y de correlación. Hasta un tipo de análisis estadístico complejo que permiten determinar relaciones de dependencia e independencia, establecer clasificaciones de variables, producir comportamientos.<sup>37</sup>

- MiniTab

Es un programa estadístico diseñado para poder ejecutar distintas funciones estadísticas desde básicas, complejas y avanzadas. Que incluye análisis de datos de tipo exploratorio, análisis de varianza, tamaño de muestra, tabulación cruzada, regresión y simulaciones.<sup>38</sup>

Se utilizó para el procesamiento de datos estadísticos el programa MINITAB ver 18 e IBM SPSS Statistics 24, de la cual se usó: ANOVA, así como gráfico de cajas (box plot) se tomó significancia el porcentaje menor a 0.05 con intervalos de confianza al 95 %.

Se uso:

- Estadística Descriptiva: Se calculó la media y desviación estándar.
- Estadística Analítica: para determinar el efecto *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* sobre *Staphylococcus aureus*, se utilizó un análisis de varianza de un diseño aleatorio para el efecto antibacteriano analizado por el halo de inhibición, luego se realizó una prueba de comparaciones múltiples, prueba de Anova con un nivel de significancia del 5 %

## **CAPÍTULO V**

### **PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

#### 5.1 Análisis de cuadros y gráficos

Las pruebas preliminares de actividad por el método de Kirby – Bauer nos proporcionó los datos sobre el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* de la biovariedad de Lima y Trujillo frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, observándose sensibilidad frente a este. Los datos son descritos en los cuadros siguientes.

Cuadro 1 Prueba fitoquímica de identificación de metabolitos secundarios de la *Caesalpinia spinosa*

METABOLITO SECUNDARIO	REACCION	RESULTADO
<b>TANINOS</b>	Gelatina – Cloruro de sodio	+
<b>FENOLES</b>	Cloruro Férrico	+
<b>FLAVONOIDES</b>	Reacción de Shinoda	-
<b>QUINONAS</b>	NaOH al 5 %	+
	Reacción de Bornträger	-
<b>ALCALOIDE</b>	Reactivo de Dragendorff.	-
	Reactivo de Mayer	+
<b>CUMARINAS</b>	NaOH 10%	+

Fuente: Elaboración propia 2017

Leyenda: (+) Presencia, (-) Ausencia

Las pruebas fitoquímicas se realizaron siguiendo la metodología de Miranda <sup>39</sup> se pudo determinar la presencia de metabolitos secundarios en el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* mediante pruebas cualitativas de coloración y precipitación.

Tras realizar las pruebas se pudo determinar la presencia de: Taninos, Fenoles, Quinonas, Alcaloides y Cumarinas.

- Taninos: en presencia de cloruro férrico mostro precipitado blanco.
- Fenoles: en presencia de cloruro férrico mostro coloración negro azulado, la cual significa que proviene del ácido pirogálico.

- Quinonas: en presencia con NaOH a 5% presento un cambio de color de verde a amarillo.
- Alcaloides: en presencia con el reactivo de Mayer presento un precipitado blanco.

Cuadro 2 Actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa*

Cultivos	Diámetro de Halos en (mm)	
	Extracto acuoso	
Repeticiones <i>S. aureus</i>	Lima 25 uL	Trujillo 25 uL
1) 25923	25	27
2) 25923	22	26
3) 25923	25	27
4) 25923	25	27
5) 25923	22	26
6) 25923	25	27
7) 25923	23	25
8) 25923	26	28
9) 25923	25	26
10)25923	22	26
11)25923	25	27
12)25923	22	27
13)25923	25	26
14)25923	25	27
15)25923	23	28

Media	24	26.6
-------	----	------

Fuente: Elaboración propia 2017

En el cuadro N° 2 se muestran los resultados obtenidos de las pruebas microbiológicas realizadas, los halos de inhibición fueron medidos en milímetros, se trabajó a una sola concentración para los extractos acuoso de *Caesalpinia spinosa* que fue 25 uL mediante el método de disco difusión la cual se repitió 15 veces para cada extracto acuoso, se llegó a obtener una media para el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* de Lima que fue de 24 mm de diámetros y para el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa de* Trujillo fue 26.67 mm.

Cuadro 3 Análisis de varianza – ANOVA

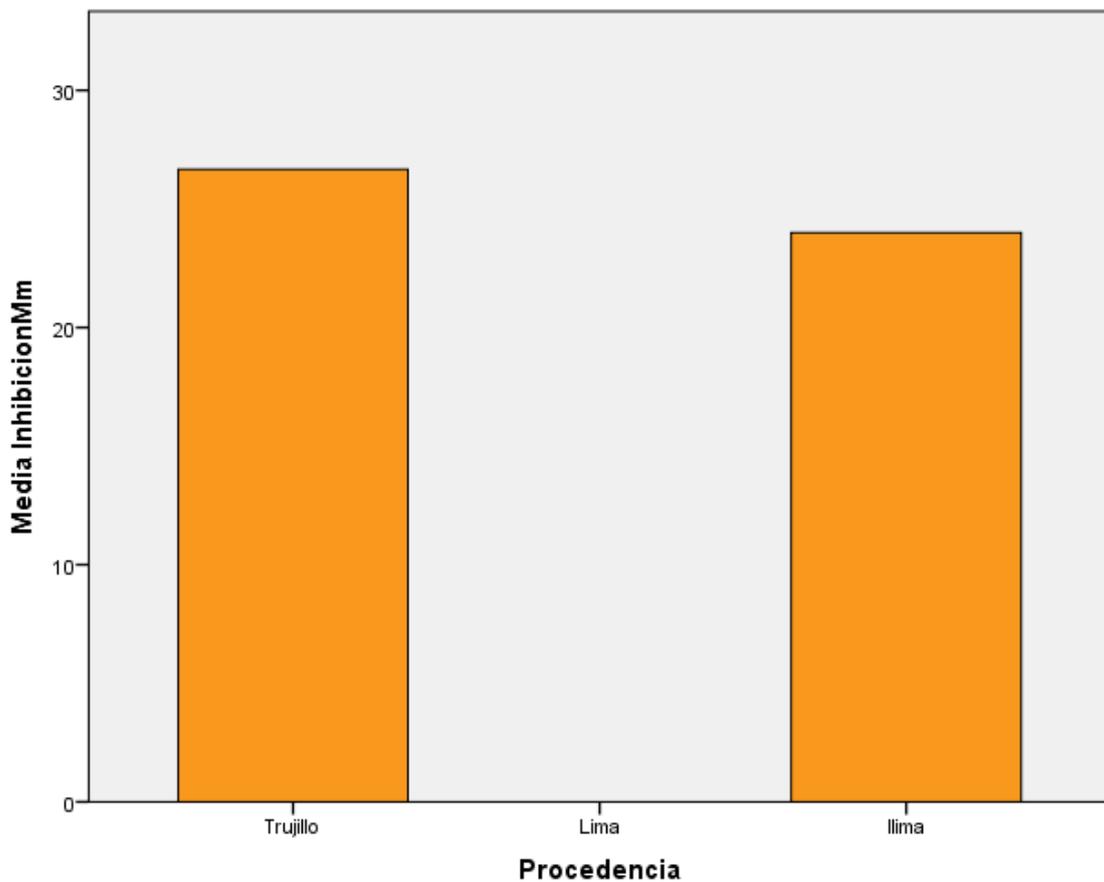
ANOVA					
Inhibición en mm					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	416,642	3	138,881	84,27	,000
Dentro de grupos	59,333	36	1,648		
Total	475,975	39			

Fuente: Elaboración propia 2017

En el cuadro N° 3 se muestra el análisis de varianza, donde se utilizó el promedio de los halos de inhibición de los extractos acuosos de *Caesalpinia spinosa* de ambas regiones frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, el valor resultante obtenido de la significante fue de 0.0004821, siendo evaluado con un grado de confiabilidad al 95 % con la significancia  $\leq 0.05$ . Por lo cual el resultado que se obtuvo es aceptable para las condiciones de esta investigación, ya que al obtener una significante menor a 0.05, nos dice que existe diferencia entre cada muestra con su actividad antimicrobiana.

Gráfica 1 Gráficas de medias

En este grafico de medias se interpreta lo siguiente: la media del halo inhibición obtenido de la muestra de Trujillo es la que tiene mayor medida con 26.67 mm de diámetro posteriormente la de Lima con una media de 24 mm de diámetro.

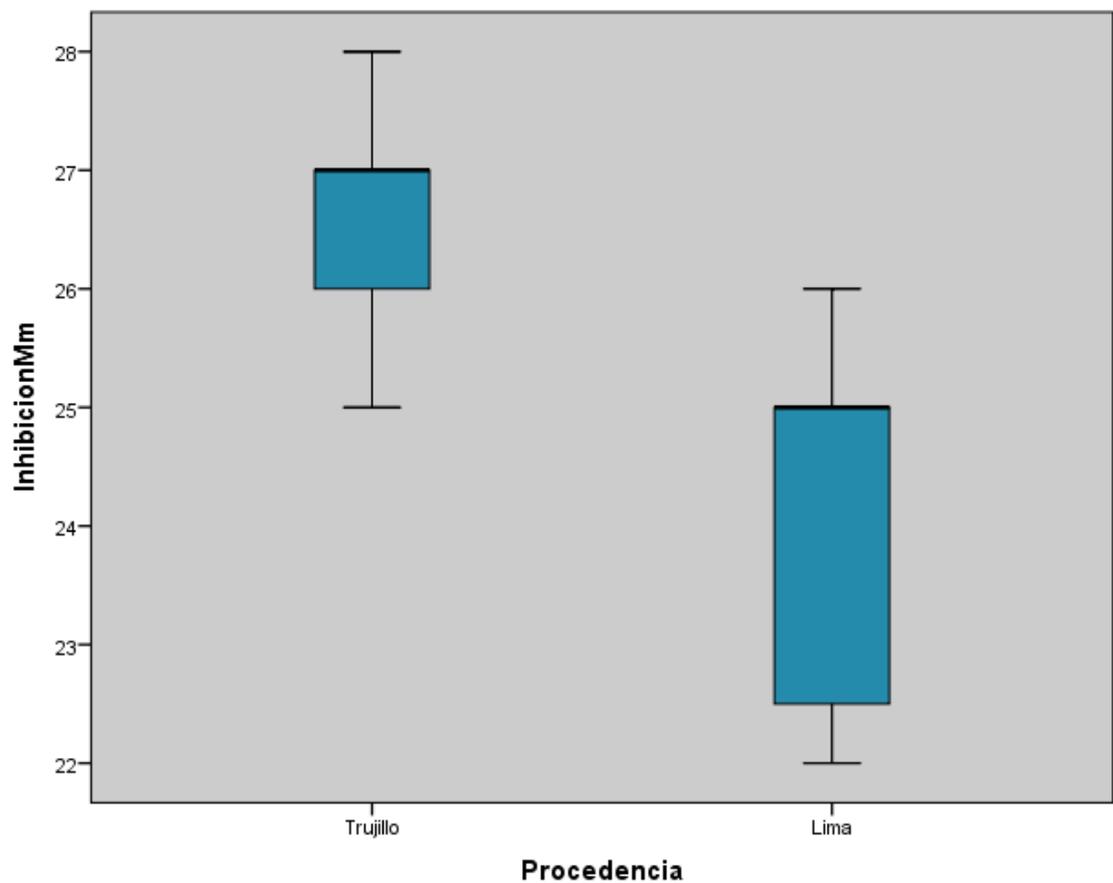


Fuente: Elaboración propia 2017

## Gráfica 2 Graficas de Cajas

Interpretación:

- Los datos obtenidos de Lima fueron datos heterogéneos en comparación de los datos obtenidos de Trujillo que fueron más homogéneos.
- Todos los grupos presentaron una distribución asimétrica a la izquierda.



Fuente: Elaboración propia 2017

## 5.2 Discusión de los resultados

En nuestro país desde épocas ancestrales se ha utilizado con fines de tratar diferentes males, las diversas plantas medicinales que se cultivan en nuestro ámbito territorial. Para poder determinar una eventual actividad antimicrobiana, se emplea métodos microbiológicos como el disco difusión en agar, que consta de impregnar discos de papel filtro Whatman número 1 con 6 mm de diámetro con una concentración del extracto vegetal, posteriormente se aplica la muestra a los discos y se incuba por 37°C hasta unas 24 horas. El efecto antibacteriano se consideró positivo cuando se presenciaron halos de inhibición del crecimiento del microorganismo.

En el presente estudio *in vitro* se comparó la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* de dos regiones diferentes del Perú que fueron de Lima y Trujillo frente a una cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC (25932), llegando a demostrar que ambos extractos acuosos presentan actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, se utilizó un grupo de control positivo de uso clínico con la cual se demostró que existe diferencia significativa entre los extractos acuosos de *Caesalpinia spinosa* de estas dos regiones en lo que se refiere al efecto antibacteriano ya que el extracto cuenta con mayor concentración de metabolitos secundarios pues no fue trabajado en diferentes concentraciones, dando como resultado una media de halo de inhibición para Trujillo de 26.6 mm y para Lima 24 mm y el grupo de control positivo fue inferior con 16.6 mm para la Oxacilina y 21.2 mm para la vancomicina.

El efecto inhibidor que pueden presentar los extractos vegetales sobre diferentes microorganismos va a depender de sus principios

activos, en el caso de la *Caesalpinia spinosa* ya que aún no está demostrado su comportamiento químico se puede inferir que posiblemente una alta concentración de los taninos dentro de las vainas puede realizar la actividad antibacteriana ya que los taninos tiene la característica de poder precipitar proteínas , las enzimas se ven afectadas y precipitadas interfiriendo en diversas rutas metabólicas bacterianas.

En la investigación realizada por José María Guevara y Juan Carlos Guevara la cual se titula Evaluación del cocimiento de diferentes biovariedades de *Caesalpinia spinosa* frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, el objetivo fue evaluar el efecto antibacteriano de tres diferentes biovariedades de tara en forma de cocimiento, las tres biovariedades de *Caesalpinia spinosa* que se utilizaron fueron provenientes de Huarochirí, Huamanga y Tarma, mostro que el cocimiento proveniente de Huamanga fue la que presento mayor actividad antimicrobiana (mayor diámetro de inhibición) para *Staphylococcus aureus* sensible y resistente a oxacilina, Tarma alcanzo el segundo lugar y como ultimo la proveniente de Huarochirí obtuvo 10.71 mm de diámetro para la cepa sensible y 14.07 mm de diámetro para la cepa resistente a oxacilina. Al comparar nuestros resultados obtenidos del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* proveniente de Lima (Huarochirí) con la tara de Huarochirí de la investigación de los hermanos Guevara, se puede determinar que al utilizar otro método de extracción como el método de extracción acuosa se puede obtener una mayor concentración de los metabolitos secundarios que realizan la acción antimicrobiana, también podemos diferenciar que al utilizar 25 uL del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* se obtiene un mejor resultado *in vitro* en la acción inhibitoria que a 50 uL del cocimiento de *Caesalpinia spinosa*.

En el estudio realizado por Marco Antonio Zárate, quiso evaluar el efecto *in vitro* antibacteriano del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* aisladas de pacientes del hospital regional Docente de Trujillo, Concluyo que para el *Streptococcus pyogenes* es mejor utilizar el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* que utilizar amoxicilina y cotrimoxazol y para *Escherichia coli* tiene mejor sensibilidad el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* que los antibióticos de uso clínico como la gentamicina. y el ciprofloxacino, así mismo con esta investigación confirmamos que el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* puro tiene un mejor resultado que los grupos de control clínico.

En la investigación realizada por René Añanca, determino el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, concluye que el extracto acuoso presenta acción inhibitoria para ambas cepas de microorganismos, también determino que para el *Staphylococcus aureus* se necesita mínimamente 12.5 mg/ml para poder inhibir el crecimiento bacteriano del *Staphylococcus aureus*, comparando sus resultados con nuestra investigación podemos corroborar la acción antibacteriana del extracto acuoso frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*, pero obtuvimos una mayor inhibición con la concentración de 25 uL que es menor a la que utiliza Añanca en su investigación obteniendo un resultado de halos mayores a lo que él presenta.

En el estudio realizado por Mariella Huarino, busco determinar el efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* sobre la flora salival mixta y concluye que el extracto alcohólico de *Caesalpinia*

*spinosa* es sumamente sensible, también que a mayor concentración del extracto se utilice mayor será el diámetro del efecto inhibitorio y con el grupo de control de clorhexidina al 0.12% y alcohol de 70° existe diferencia significativa positiva para el extracto. Con nuestra investigación a base de extracto acuoso comparamos los resultados obtenidos con el extracto alcohólico y confirmamos que hay una similitud en los resultados pero que se obtiene mejores resultados con el extracto alcohólico,

En la actualidad es común el uso de las plantas medicinales por conocimientos empíricos, aún quedan muchas por estudiar y encontrar métodos experimentales precisos para estos. En las plantas hay muchos principios activos que el hombre debería aprovechar y guiar las investigaciones para obtener diferentes alternativas y curar enfermedades.

## CONCLUSIONES

1. Se demostró *in vitro* que el extracto acuoso de las vainas de *Caesalpinia spinosa* de ambas regiones (Lima y Trujillo) tuvieron acción antibacteriana, llegando a presentar inhibición en el crecimiento bacteriano de las cepas de *Staphylococcus aureus*.
2. El extracto acuoso de las vainas *Caesalpinia spinosa* que se obtuvo en Lima presentó actividad antibacteriana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*, se utilizó el método de disco difusión para evaluar la sensibilidad de la cepa frente al extracto acuoso llegando a dar una media inhibición de 24 mm de diámetro.
3. El extracto acuoso de las vainas *Caesalpinia spinosa* que se obtuvo en Trujillo presentó la mayor actividad antibacteriana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*, utilizando el método de disco difusión para evaluar la sensibilidad de la cepa frente al extracto llegó a dar una media de inhibición de 26.6 mm de diámetro.
4. Ambos extractos acuosos de *Caesalpinia spinosa* demostraron tener efecto antibacteriano frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* obteniendo una media de 26.6 mm de diámetro para la muestra de Trujillo en comparación de los 24 mm que resultó de la muestra de Lima, evidenciando que la muestra de Trujillo tuvo un mayor efecto antibacteriano.

## RECOMENDACIONES

1. Se recomienda utilizar menor concentraciones a 25 uL para no sobrecargar el disco de papel whatman ya que puede alterar el resultado en la placa con el agar Müller Hinton.
2. Se sugiere utilizar como técnica de extracción el método de extracción hidroalcolico ya que permitirá obtener una mayor concentración de metabolitos secundario como los taninos.
3. Se recomienda realizar más estudios para ampliar el espectro de actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa*.
4. Enfrentar el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* con bacterias intrahospitalarias para poder introducir las dentro del tratamiento clínico como nueva alternativa antibiótica.
5. Realizar estudios clínicos del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* para poder determinar las concentraciones mínimas letales y mínima inhibitoria.
6. Realizar más estudios que comparen las propiedades de las plantas medicinales de una misma especie para poder determinar en qué zona geográfica tiene mayor cantidad de metabolitos con efecto farmacológico

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud - Perú. Protocolo : Estudio Prevalencia de infecciones Intrahospitalarias. Protocolo. Lima: Ministerio de Salud, Lima; 2014.
2. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. Revista Peruana de Biología. 2012; 19(3).
3. Rojas Lazo O, Rojas Pérez N, Diaz Chuquiruna G. Forestacion piloto con tara en Cajamarca. Revista de la Facultad de Ingeniería Industrial. 2010 Jul; 13(1).
4. Guevara G JM, Guevara G JC, Guevara D JM, Béjar V, Huamán A, Valencia E, et al. Evaluacion del cocimiento de diferentes biovariedades de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles y resistentes a oxacilina. An Fac med. 2014; 75(2).
5. Zárate A A. Efecto *in vitro* antibacteriano del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* "tara" sobre cepas de Streptococcus pyogenes y escherichia coli aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo en el año 2014. Pueblo Continente. 2015 Aug; 26(1).
6. Huarino Acho M. CyberTesis. [Online]. Lima; 2011 [cited 2017 21 07]. Available from:  
[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2809/1/Huarino\\_am.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2809/1/Huarino_am.pdf).
7. Añanca Cotrado R. Efecto antibacteriano invitro del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y Streptococcus pyogenes. Tesis para optencion de titulo

- profesional. Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann , Tacna; 2009.
8. Kondo k, Takaishi Y, Shibata H, Higuti T. PubMed. [Online].; 2017 [cited 2017 07 10. Available from:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16428032>.
  9. Kloucek P, Polesny Z, Svobodova B, Vlkova E, Kokoska L. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Caller'ia District. Journal of Ethnopharmacology. 2005; 99.
  10. Ricci RAG. Evaluación de taninos y goma del fruto de la tara *Caesalpinia spinosa* (molina) Kuntze proveniente de las lomas de Atiquipa , Arequipa - Perú. In Tesis para optar el Título de Ingeniero Forestal; 2010; Lima. p. 7.
  11. Asocam. Asocam. [Online].; 2010 [cited 2017 7 20. Available from:  
<http://www.asocam.org/biblioteca/files/original/5e0c5545065d8fca9741ed9ef4923e84.pdf>.
  12. EcuadorForestal. <http://ecuadorforestal.org/>. [Online].; 2017 [cited 2017 08 24. Available from:  
<http://ecuadorforestal.org/download/contenido/tara.pdf>.
  13. Cabello Liu I. Monografía: Tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. Monografía. Lima: PROMPERU, Lima; 2010.
  14. Siccha A. Estudio comparativo sobre hidrocoloides y contenido tanico en tres Caesalpinias peruanas: charán , tara y uña de gato.. Tesis para optar el grado de Magister en Química. lima: PUCP, Lima; 1993.
  15. Siccha A. Ceterminacion cuantitativa de Galactomananos en la gomas de Tara , Charán y uña de gato , por cromatografia de gases. Lima:

- Sociedad Quimica del Peru, Lima; 1994.
16. Cabello I. Tamizaje Fitoquimico de Cuatro muestras de Hojas. Resultados no Publicados. 2009.
  17. Lock O. Métodos de investigacion fitoquimica. Fondo Editorial PUCP. 1994.
  18. Montenegro Chipana A. Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre *porphyromonas gingivalis*. Para optar titulo profesional de cirujano dentista. Lima: UNMSM, Lima; 2014.
  19. Loel de Ugaz O. Investigacionm fotoquimica: Metodos en el estudio de productos naturales. 2nd ed. Lima: PUCP; 1994
  20. Instituto de Ecología y Plantas Medicinales. Manejo Racional de Plantas medicinales -. Archivo Botanica. 1999; 33.
  21. Evans W. Farmacognosia. 15th ed. Mexico: Interamericana Mexico; 2004.
  22. Harrison J. Farmacognosia. 14th ed. Buenos Aires: Panamericana; 2000.
  23. Rawat A. Antimicrobial Activity of *Thalietrum foliolosum*. 1992; 22.
  24. Jawetz E. Manual de Microbiologia Medica. 15th ed. Mexico: Manual Moderna; 2000.
  25. Bergey. TGW. [Online].; 1994 [cited 2017. Available from: <http://www.tgw1916.net/Staphylococcus/aureus.html>].
  26. Sanchez L. Saphylococcus Un patogeno de gran virulencia. Revista

- Medica. 1997.
27. Restrepo , Cols Y. Enfermedades Infecciosas. 11th ed. Colombia: Medellín; 2000
28. Alvarez Lerma F, Palomar M, Insausti J, Olaechea P, Cérda E. Infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en pacientes críticos en unidades de cuidados intensivos. Medicina Clinica Barcelona. 2006;(17).
29. Ciriano E, Olargorta Garcia S. Síndrome del shock tóxico: clínica y diagnóstico. Revista de Asociacion Mexicana de Medicina critica y terapia intensiva. 2013 Sep; 28(3).
30. Divo A. Microbiología Medica. 5th ed. Mexico: Mexico; 2000.
31. Gomes J, Garcia E, Hernandez A. Servicio de Medicina Interna- Infecciosas. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Esp Quimioter. 2015; 28(1)
32. Paredes F, Roca JJ. Acción de los antibióticos Perspectiva de la medicación antimicrobiana. OFFARM. 2004 Marzo; 23(3).
33. Valsecia M.  
[https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/cap30\\_betalact.pdf](https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/cap30_betalact.pdf). [Online]. [cited 2017 10 19. Available from:  
[ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS](#)
34. Digemid. CAF DIFEMID. [Online]. [cited 2017 10 19. Available from:  
<http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Oxacilina.pdf>
35. Cardenas M. Efecto sinérgico antibacteriano in vitro del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) y del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas de

- Escherichia coli. Tesis para obtencion de Quimico Farmaceutico. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2017
36. INS. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR EL METODO DE DISCO DIFUSION LEO , LECCA GARCIA L, editors. LIMA: INS; 2002.
  37. IBM. IBM SPSS Statistics. [Online].; 2017 [cited 2017 11 10. Available from: <https://www.ibm.com/pe-es/marketplace/spss-statistics>.
  38. MINITAB. Minitab. [Online].; 2017 [cited 2017 11 10. Available from: <http://www.minitab.com/es-mx/>.
  39. UNIVERSIDAD DE LA HABANA INSTITUTO DE FARMACIA Y ALIMENTOS. Miranda Martínez. METODOS DE ANÁLISIS DE DROGAS Y EXTRACTOS. CUBA 2002.
  40. Duraffourd c, d' hervicourt I, la praz jc. cuadernos de fitoterapia clínica. 1° edición. París: editorial masson sa; 1983

# Anexos

**MATRIZ DE CONSISTENCIA - Anexo 01**

Título de proyecto de tesis: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ACUOSO DE TARA (*Caesalpinia spinosa*) PROCEDENTE DE LIMA Y TRUJILLO FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus*.  
 Bachiller: Dennis Alexis Rivera Vilchez Asesor: Q.F Miguel Grande

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	NIVEL Y METODO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) procedente de la zona de Lima y de Trujillo frente a cepas ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p><b>Problemas Específicos</b>  <b>P.E.1</b> ¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) procedente de Lima en cepas ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p><b>P.E.2</b> ¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) procedente de Trujillo en cepas ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p><b>P.E 3</b> ¿Cuál de los extractos acuosos de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) tendrá mayor actividad antibacteriana?</p>	<p>Demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) procedente de la zona de Lima y de Trujillo frente a cepas ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>Objetivos Específicos</b>  <b>OE1</b> Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) procedente de Lima en cepas ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>OE2</b> Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) procedente de Trujillo en cepas ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>OE3</b> Determinar que extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) tendrá mayor actividad antibacteriana.</p>	<p>El efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) obtenido de Trujillo será diferente a la de Lima por el tipo de clima de donde se obtuvo.</p> <p><b>Hipótesis Especificas</b>  <b>HE1</b> El extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) obtenida de Lima tendrá actividad antibacteriana in vitro frente a las cepas ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>HE2</b> El extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) obtenida de Trujillo tendrá actividad antibacteriana in vitro frente a las cepas ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>HE3</b> El efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) de Trujillo presentará mayor efecto inhibitorio.</p>	<p><b>Tipo de Investigación:</b>                      Analítico                      Transversal                      Prospectivo</p> <p><b>Nivel de Investigación:</b>                      Descriptivo                      Comparativo</p>	<p><b>Método de Investigación:</b>                      Deductivo</p> <p><b>Diseño de investigación:</b>                      de                      No Experimental</p>	<p><b>Variable Independiente:</b>                      Extracto acuoso de tara.</p> <p><b>Variable Dependiente:</b>                      Efecto antibacteriano</p>	<p><b>Población:</b>  <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara)                      De Lima</p> <p><i>Caesalpinia spinosa</i> (tara)                      De Trujillo.</p> <p><b>Muestra:</b>                      10 g <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara)                      De Lima</p> <p>10 g <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara)                      De Trujillo</p>

Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 1 Vainas de *Caesalpinia spinosa* Obtenida de Trujillo.



Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 2 Vainas *Caesalpinia spinosa* Obtenida de Lima



Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 3 Vainas de *Caesalpinia spinosa* llevadas a la estufa



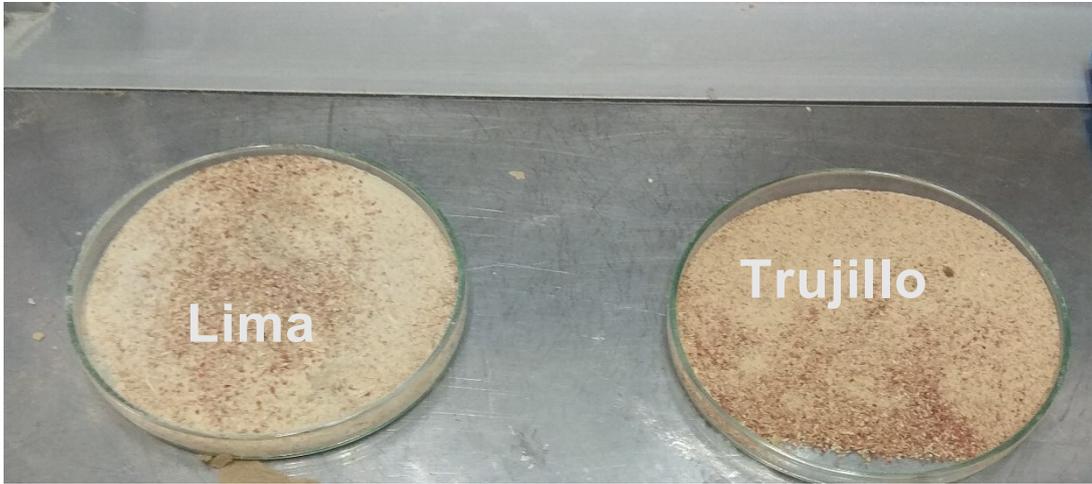
Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 4 Vainas de *Caesalpinia spinosa* llevadas a 70 °C



Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 5 Vainas de tara pulverizadas



Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 6 Esterilización de los frascos y agua a 121 °C a 15 min.



Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 5 Polvo de tara con 50 mL de Agua



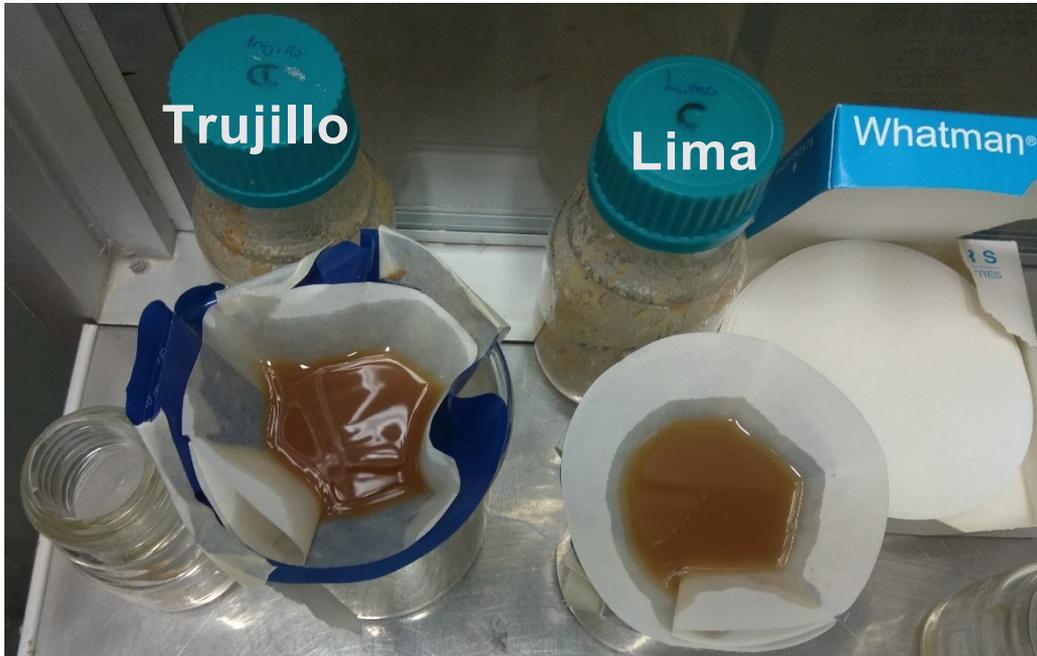
Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 6 Reposo en baño maría a 67 °C por 3 horas



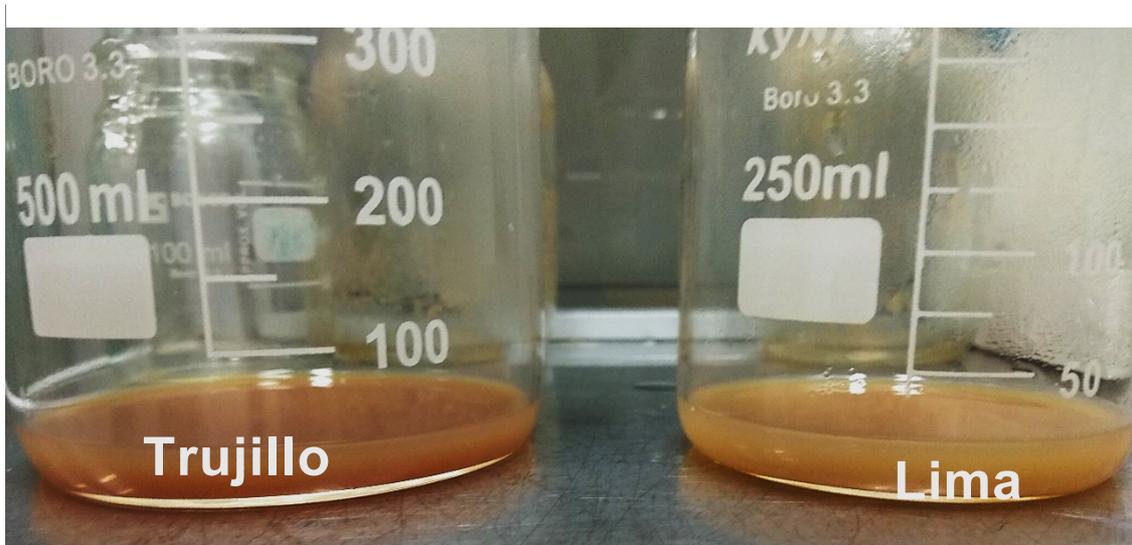
Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 7 Filtración con papel Whatman 41, 4 y 2



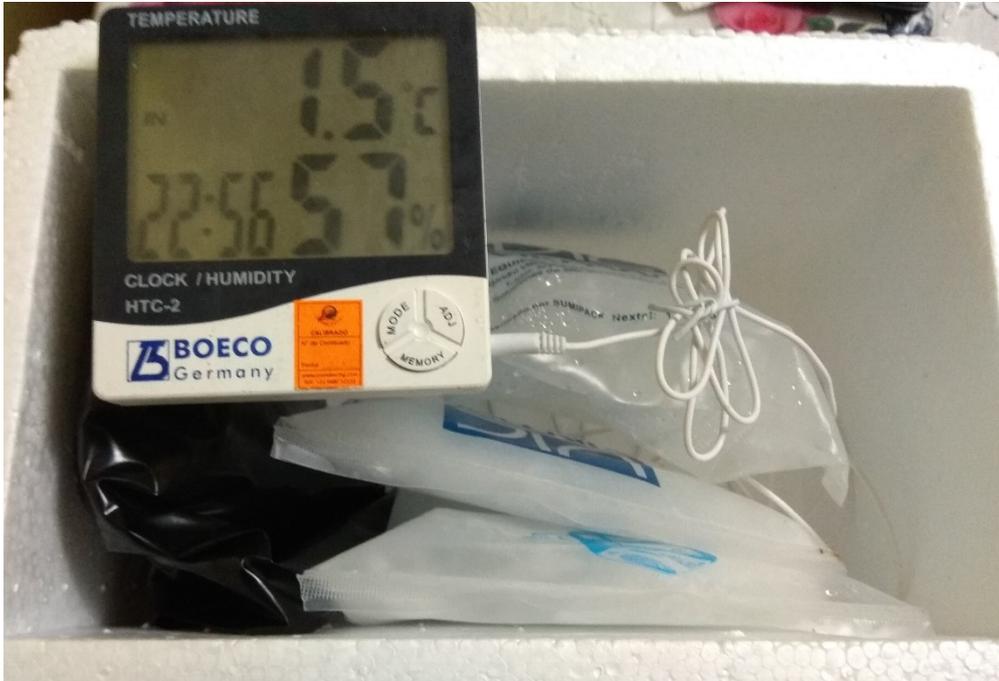
Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 8 Extracto acuoso de tara posterior a filtrado



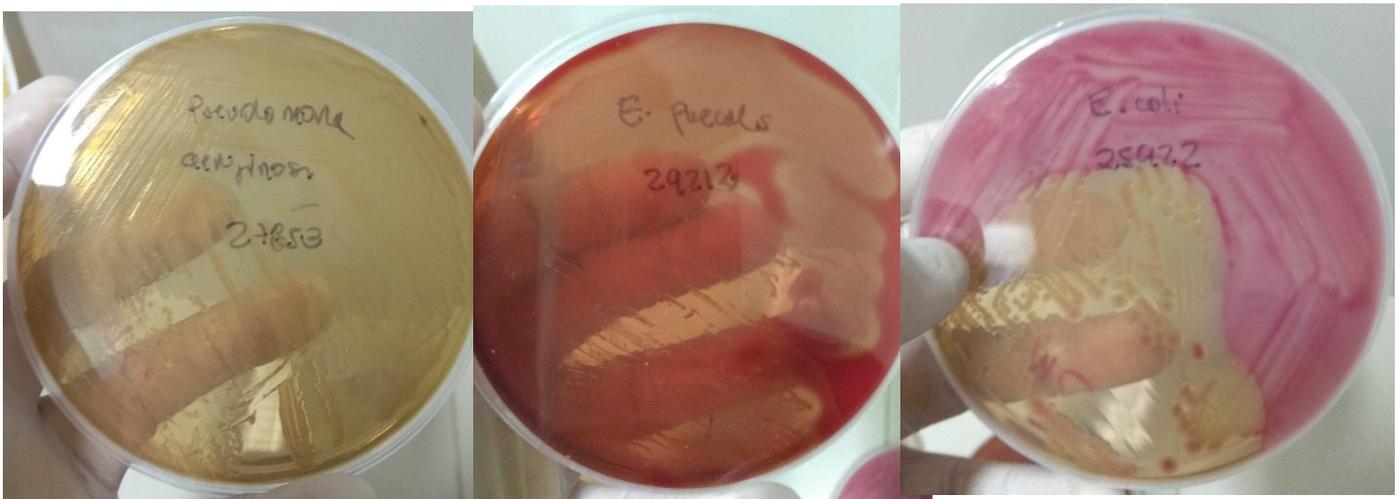
Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 9 Cadena de frio de 1 a 2 °C



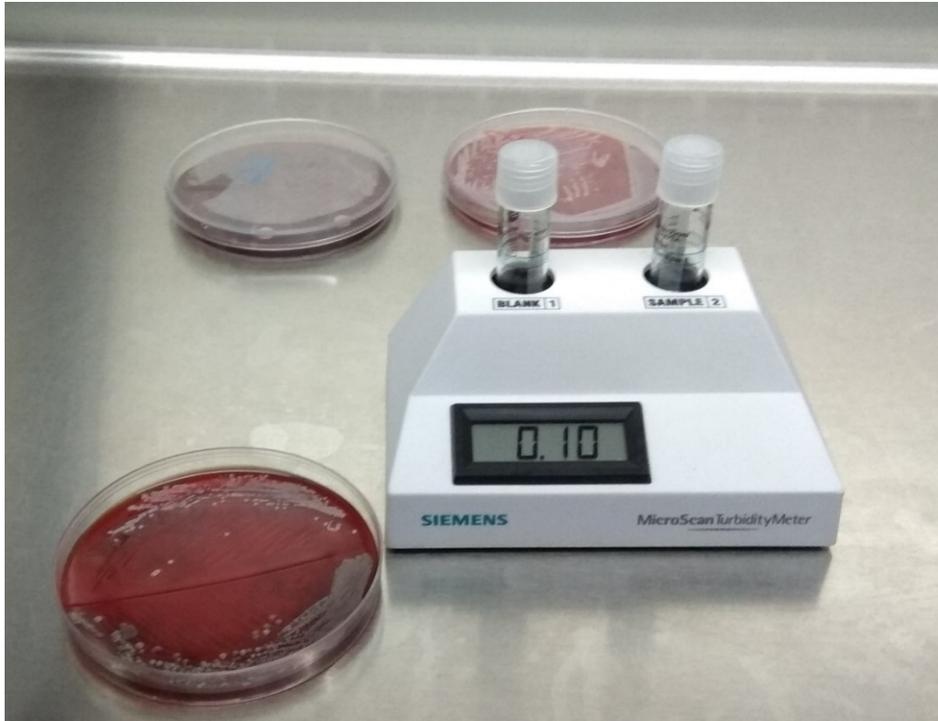
Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 10 Estandarización del medio de cultivo Müller Hinton.



Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 11 Escala de Mc Farland



Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 12 Inoculación del extracto acuoso



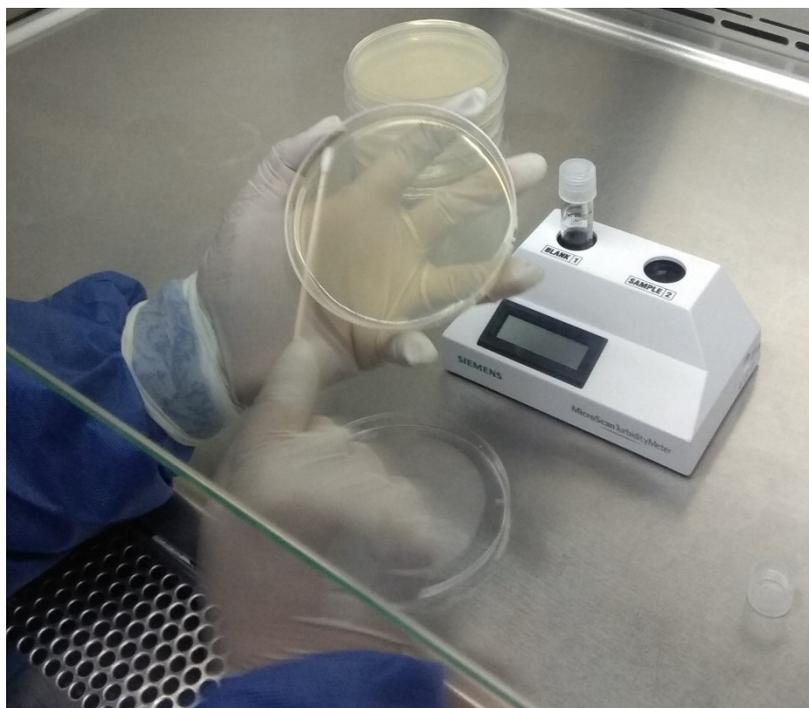
Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 13 Determinación de la sensibilidad



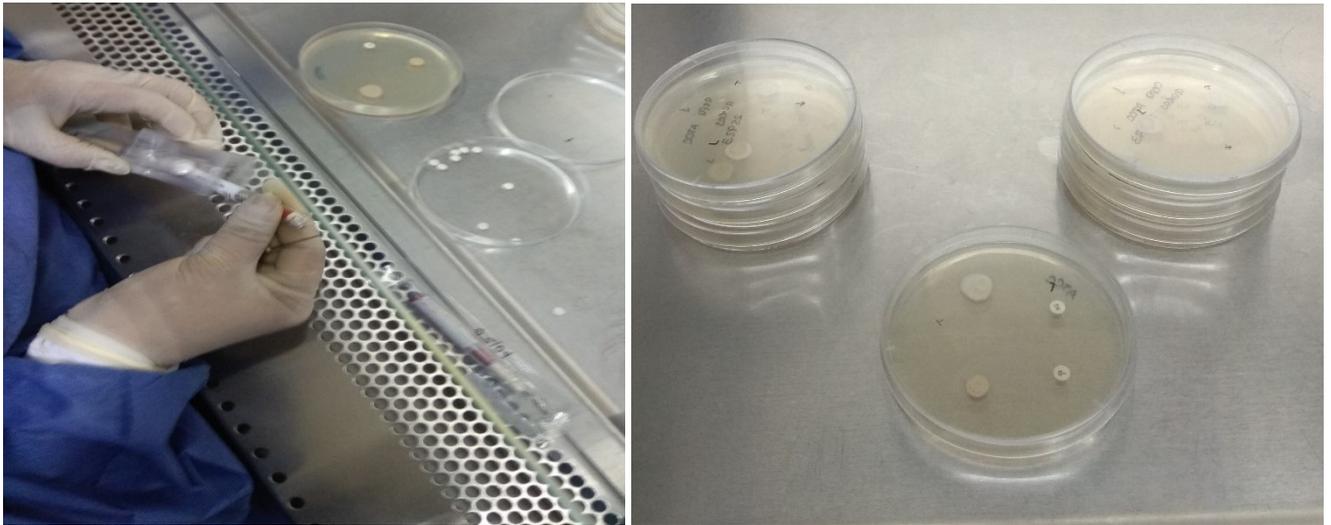
Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 14 Inoculación en las placas de Müller



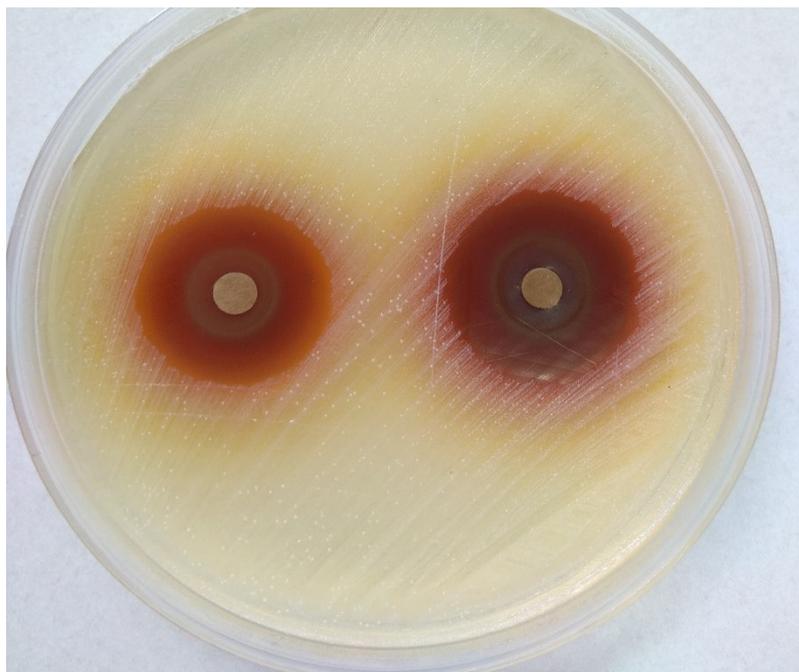
Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 15 Aplicación de discos



Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 16 Resultados



Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 17 Certificado de extracción acuosa



**CERTIFICADO DE REALIZACIÓN DE INVESTIGACION**

**Apellidos, nombre:** Rivera Vílchez, Dennis Alexis

**Referencia de la ayuda:** Q.F.: Miguel Vera Muñoz

**Referencia del proyecto:** Extracción acuosa de la *caesalpinia spinosa*

**EMPRESA:** LABORATORIOS PRODUCTOS JUMAM

**DEPARTAMENTO:** CONTROL DE CALIDAD

El Jefe de Control de calidad de Laboratorios Productos Jumam certifica que el investigador Dennis Alexis Rivera Vílchez identificado con dni 70552657, a quien se refiere el presente documento ha realizado la investigación desde el día 04 de octubre del 2017 hasta el día 06 de octubre del 2017.

Equipos utilizados:

- Balanza analítica.
- Estufa esterilizadora.
- Baño maría.

Se anexa la ficha técnica y los certificados de calibración de cada equipo al reverso del presente documento.

Nombre y apellidos del firmante: Miguel Vera Muñoz

Cargo: Jefe de Control de Calidad

Fecha: 06/10/17

PRODUCTOS JUMAM E.I.R.L.  
.....  
Q.F. Miguel Vera Muñoz  
C.G.F.P. N° 12180  
Jefe de Control de Calidad

.....  
Firma y sello

CORREO ELECTRONICO

controldecalidad@jumamperu.com

Fuente: Laboratorio Jumam 2017

Figura 18 Ficha Técnica de la estufa

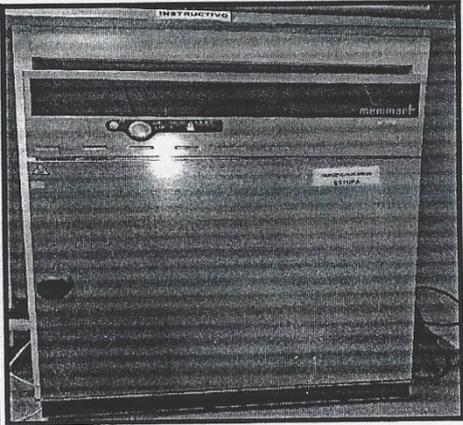
 LABORATORIOS JUMAM E.I.R.L. <b>FICHA TÉCNICA</b>					
DENOMINACIÓN TÉCNICA		CÓDIGO DE EQUIPO	ÁREA DE UBICACIÓN	CONTROL DE CALIDAD	
ESTUFA ESTERILIZADORA		CCA-024	SUB-ÁREA	FISICOQUIMICO	
			BLOCK PISO	5TO	
DATOS DE FABRICACIÓN					
FABRICANTE		MARCA		MEMMERT	
PROCEDENCIA		MODELO		UNE 400	
Nº DE SERIE	C408.2302	FECHA DE FABRICACIÓN	2007	FECHA DE PUESTA EN MARCHA	05-10-2010
FUNCIONES Y USO					
ATEMPERADO DE MUESTRAS					
ESPECIFICACIONES TÉCNICAS					
VOLTAJE : 250 V FRECUENCIA : 60 HZ PESO : 35 KG VOLUMEN INTERNO : 53 LTS  <u>CONDICIONES AMBIENTALES:</u> RANGO DE TEMPERATURA DE TRABAJO: 0°C ± 350°C TIEMPO DE PROGRAMACION: MIN  <u>MEDIDAS DE CÁMARA INTERIOR:</u> ALTURA : 400 mm ANCHO : 400 mm FONDO : 330 mm CARGA MÁXIMA TOTAL: 90 Kg					
COMPONENTES DEL EQUIPO			REPUESTOS DE ALTA ROTACIÓN		
1. CABLE DE ALIMENTACIÓN ELÉCTRICA. 2. TERMOSTATO. 3. TEMPORIZADOR. 4. RESISTENCIA ELÉCTRICA. 5. SWITCH DE ENCENDIDO APAGADO (POWER OFF/ON)			1. TERMOSTATO. 2. TEMPORIZADOR. 3. RESISTENCIA ELÉCTRICA.		
MEDIDAS DE SEGURIDAD					
COMPUESTO DE ACERO INOXIDABLE RESISTENTE, TENER CUIDADO CON COMPUESTOS DE CLORO.					
CALIBRACIÓN: <input checked="" type="checkbox"/>		MANTENIMIENTO: <input checked="" type="checkbox"/>		SEGÚN INFORME Y CERTIFICADO	

Figura 19 Ficha Técnica del baño María

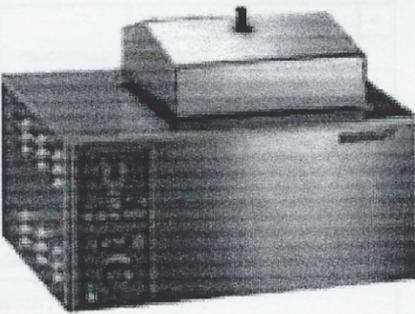
 LABORATORIOS JUMAM E.I.R.L. <b>FICHA TÉCNICA</b>				
DENOMINACIÓN TÉCNICA		CÓDIGO DE EQUIPO	ÁREA DE UBICACIÓN	CONTROL DE CALIDAD
BAÑO MARÍA		CCA-005	SUB-ÁREA	MICROBIOLOGIA
			BLOCK PISO	5TO
DATOS DE FABRICACIÓN				
FABRICANTE	MEMMERT MBBH + Co. KG	MARCA	MEMMERT	
PROCEDENCIA	ALEMANIA	MODELO	WB 14	
Nº DE SERIE	1404.0231	FECHA DE FABRICACIÓN	FECHA DE PUESTA EN MARCHA	JUNIO 2005
FUNCIONES Y USO				
CONFIERE TEMPERATURA UNIFORME A UNA SUSTANCIA LÍQUIDA O SÓLIDA O PARA CALENTARLA LENTAMENTE, SUMERGIENDO EL RECIPIENTE QUE LA CONTIENE EN OTRO MAYOR CON AGUA U OTRO LÍQUIDO QUE SE LLEVA A O ESTÁ EN EBULLICIÓN.				
ESPECIFICACIONES TÉCNICAS				
VOLTAJE 230 V ± 10% FRECUENCIA 60 HZ CORRIENTE 7.8 AMP. POTENCIA 1800 WATTS VOLUMEN 14 L. PESO 16 K. CONDICIONES AMBIENTALES: TEMPERATURA AMBIENTAL 5°C A 40°C HUMEDAD RELATIVA (MAX.) 80% RANGO DE TEMPERATURA DE TRABAJO: 5°C POR ENCIMA DE LA TEMPERATURA AMBIENTAL				
COMPONENTES DEL EQUIPO				
1. CARCAZA EXTERIOR DE ACERO INOXIDABLE 2. CÁMARA DE TRABAJO DE ACERO INOXIDABLE 3. RESISTENCIA 4. VÁLVULA DE DESCARGA 5. INTERRUPTOR PRINCIPAL 6. TERMOSTATO 7. INDICADOR DE TEMPERATURA			1. RESISTENCIA 2. TERMOSTATO 3. INDICADOR DE TEMPERATURA 4. VÁLVULA DE DESCARGA.	
MEDIDAS DE SEGURIDAD				
COMPUESTO DE ACERO INOXIDABLE RESISTENTE, TENER CUIDADO CON COMPUESTOS DE CLORO.				
CALIBRACIÓN: <input checked="" type="checkbox"/> MANTENIMIENTO: <input checked="" type="checkbox"/>			SEGÚN INFORME Y CERTIFICADO	

Figura 20 Ficha Técnica de la balanza analítica

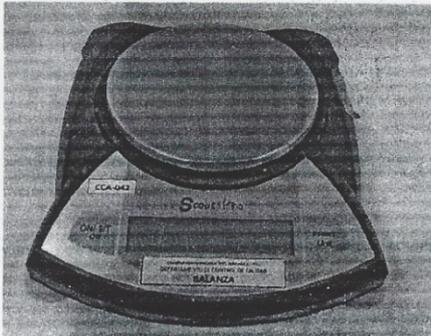
DENOMINACIÓN TÉCNICA		CÓDIGO DE EQUIPO	ÁREA DE UBICACIÓN	CONTROL DE CALIDAD
<b>BALANZA ANALÍTICA SCOUT PRO Y PESA DE 200 G</b>		<b>CCA-042</b>	SUB-ÁREA	MICROBIOLOGIA
			BLOCK PISO	5TO
DATOS DE FABRICACIÓN				
FABRICANTE	OHAUS CORPORATION	MARCA	OHAUS	
PROCEDENCIA	USA	MODELO	SP602	
Nº DE SERIE	B549806346	FECHA DE FABRICACIÓN	FECHA DE PUESTA EN MARCHA	ABRIL 2016
FUNCIONES Y USO				
INSTRUMENTO QUE SE UTILIZA PARA EL PESAJE.				
ESPECIFICACIONES TÉCNICAS				
CAPACIDAD MÁXIMA: 600 gr. DIVISION MÍNIMA : 10 gr. TIPO : ELECTRÓNICA Dimensiones de la carcasa: 19,1 x 5,4 x 21 cm Tamaño de la cacerola (dia) 4-3 / 4 "(12.1 cm) Legibilidad: (g) 0,1 Linealidad: (g) ± 0,1 Repetitividad: (g) ± 0,1 Unidades de pesaje g, kg, oz, lb, lb: oz, t, dwt Alimentación: (VAC) 230 Batería 4 pilas AA (no incluidas) Indicador de Estabilidad: Sí				
COMPONENTES DEL EQUIPO				
1. PLATILLO Ó PLATAFORMA SUPERIOR 2. CORAZA INFERIOR 3. BATERÍA DE 9V 4. DISPLAY			1. BATERÍA DE 9V	
MEDIDAS DE SEGURIDAD				
PARA MEJORES RESULTADOS MANTENER LIMPIO EL EQUIPO. VERIFICAR SIEMPRE EL NIVEL DE LA BURBUJA.				
CALIBRACIÓN: <input checked="" type="checkbox"/>		MANTENIMIENTO: <input type="checkbox"/>		SEGÚN CERTIFICADO

Figura 21 Ficha de control de calidad del medio de cultivo

## CONTROL DE CALIDAD

### Agar Mueller Hinton

Control de profundidad, ph , contenido de timidina y cationes

**Agar Mueller Hinton**

Lote : ..... Fecha de Vencimiento: ...../...../.....  
 Fecha de Preparación : ...../...../..... Fecha de Apertura: ...../...../.....

**Control de profundidad y pH de la placa**

Profundidad de la placa	I	II	pH	Conforme: .....
	III	IV		

Fecha de Siembra: ...../...../..... Fecha de Lectura: ...../...../.....

**Control de contenido de Timidina**

Cepa Control: Enterococcus faecalis ATCC 29212

Disco de antibiótico	Concentración	Marca	Lote	Fecha de vencimiento	Halo(*) obtenido	Conforme
Trimetropin / Sulfametoxazol						

(\*) El halo debe ser  $\geq 20$ mm

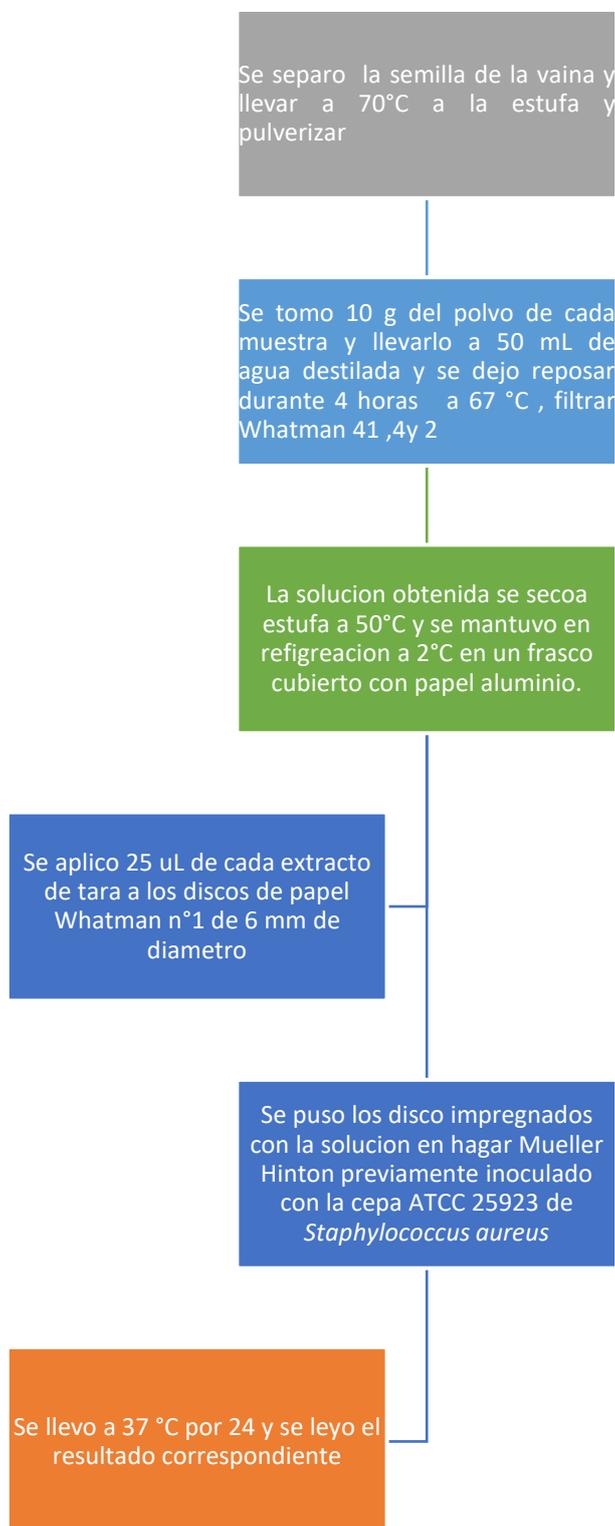
**Control de contenido de Cationes Divalentes (Ca<sup>++</sup>, MG<sup>++</sup>)**

Cepa Control: Pseudomona aeruginosa ATCC 27853

Disco antibiótico	Concentración	Marca	Lote	Fecha de Vencimiento	Halo (*)Obtenido	Conforme

Fuente: Laboratorio Biocare 2017

Figura 22 Diseño de trabajo



Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 23 Clasificación taxonómica

  **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**

---

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

**CONSTANCIA N° 251-USM-2017**

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (frutos) recibida de **Dennis Alexis RIVERA VILCHEZ**; estudiante de la Facultad de Medicina Humana y Ciencia de la Salud, Especialidad Farmacia y Bioquímica de la Universidad ALAS PERUANAS, ha sido estudiada y clasificada como: ***Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze*** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: ROSIDAE**

**ORDEN: FBALES**

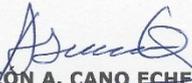
**FAMILIA: CAESALPINACEAE**

**GENERO: *Caesalpinia***

**ESPECIE: *Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze***  
Nombre vulgar: "Tara"  
Determinado por Mag. Asunción A. Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 06 de noviembre de 2017

  
**Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/ddb

Fuente: UNMSM MUSEO DE HISTORIA NATURAL 2017

Figura 24 Ficha de recolección de datos de Marcha Fitoquímica

METABOLITO SECUNDARIO	REACCION	RESULTADO
TANINOS	Gelatina – Cloruro de sodio	
FENOLES	Cloruro Férrico	
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	
QUINONAS	NaOH al 5 %	
	Reacción de Bornträger	
ALCALOIDE	Reactivo de Dragendorff	
	Reactivo de Mayer	
CUMARINAS	NaOH 10%	

Fuente: Elaboración propia 2017

Figura 25 Ficha de recolección de datos microbiológicos

Cultivos	Diámetro de Halos en (mm)	
	Extracto acuoso	
Repeticiones	Lima 25 uL	Trujillo 25 uL
<i>S. aureus</i>		
1) 25923		
2) 25923		
3) 25923		
4) 25923		
5) 25923		
6) 25923		
7) 25923		
8) 25923		
9) 25923		
10) 25923		
11) 25923		
12) 25923		
13) 25923		
14) 25923		
15) 25923		
Media		

Fuente: Elaboración propia 2017

