



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA ACADÉMICA DE MEDICINA HUMANA**

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia Spinosa* "tara" SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON OXACILINA.

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR

LUISA VANESA CHÁVEZ BURGOS

ASESORES

Dra. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ

Mg. Blgo. JAIME ABELARDO POLO GAMBOA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

TRUJILLO- 2018

DEDICATORIA

A mi hijo

Emanuel Darío por ser mi más grande inspiración y motivación para concretar este sueño, por estar a mi lado a lo largo de todo este proceso.

A mi esposo

Por su amor, apoyo y comprensión.

A mis padres

Por estar conmigo en todo momento, por enseñarme a crecer, por su amor y apoyo incondicional y ser las bases que me ayudaron a llegar hasta aquí, en especial a mi padre que está en la presencia de Dios.

A mi familia

Por estar a mi lado en todo este tiempo, brindarme su cariño y por alentarme a la realización de este proyecto, en especial los hermanos de mi padre.

A mis amigos

Por brindarme su apoyo y grandes enseñanzas.

Luisa Vanesa Chávez Burgos

AGRADECIMIENTO

A DIOS

Por ser la razón de mi existir, por ser mi fortaleza y mi apoyo incondicional para lograr mis objetivos trazados, por proveer todos los medios necesarios para llevar a cabo esta hermosa carrera de servicio y amor a los demás.

ASESORES

Dra. María Rocío del Pilar Llaque Sánchez, Mg. Jaime Abelardo Polo Gamboa y al Mg. Julio Cesar Rodríguez por su paciencia, entrega y dedicación para hacer realidad la ejecución de esta tesis.

UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO

Por darme la oportunidad para realizarme profesionalmente permitiendo que adquiriera diferentes enseñanzas a través de los grandes maestros que he tenido a lo largo de la carrera.

Luisa Vanesa Chávez Burgos

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, LUISA VANESA CHÁVEZ BURGOS con DNI 45945222, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* “tara” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON OXACILINA, son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Luisa Vanesa Chávez Burgos

Trujillo, diciembre del 2018.

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* “*tara*” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON OXACILINA, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

Luisa Vanesa Chávez Burgos

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* "tara" contra cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina (1µG). Se trabajó con las siguientes diluciones (100%, 75%, 50%, 25%, con grupos de control positivo y neutro (suero fisiológico) se realizaron 10 repeticiones por cada grupo estudiado. Encontrándose: efecto inhibitorio de *C. spinosa* desde la dilución del 25% (27,5 mm DS: 1.080), al 50% (27,8 mm; DS: 1,751), al 75% (32,6 mm; DS: 1,578) y al 100% (34.5 mm. DS: 1,716), se observa que al aumentar la concentración el efecto inhibitorio es mayor, el análisis ANOVA (0.000) y Tukey muestra que el estudio es altamente significativo, los grupos estudiados fueron homogéneos y el mayor efecto antimicrobiano fue para el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa*, superando el efecto antibacteriano de oxacilina (31.5 mm; DS: 1,269). Se concluye que *Staphylococcus aureus* es sensible a *C. spinosa*, según lo considerado por el estándar M100 del CLSI (21 mm) en todas sus concentraciones y a partir de la concentración del 75% supera el efecto inhibitorio de oxacilina. Este extracto etanólico podría ser utilizado como un coadyuvante con oxacilina en el tratamiento contra *Staphylococcus aureus*.

Palabras claves: Efecto antimicrobiano *Caesalpinia spinosa*.

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the antibacterial effect (*in vitro*) of ethanol extract of *Caesalpinia spinosa* “tara” against strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 compared to oxacillin (1 μ G). Dilutions were used of 100%, 75%, 50%, and 25%, plus positive and neutral (physiological saline) control groups. 10 repetitions were performed for each group studied. The inhibitory effects of *Caesalpinia spinosa* from dilutions were measured at 25% (27.5 mm DS: 1.080), 50% (27.8 mm, DS: 1.751), 75% (32.6 mm, DS: 1.578) and 100% (34.5 mm DS. 1.716); it is observed that as the concentration percentage increases, there is a greater inhibitory effect. The ANOVA analysis (0.000) and Tukey-test show that the study is highly significant, the studied groups were homogeneous, and the greatest antimicrobial effect was found in the use of ethanol extract of *Caesalpinia spinosa*, surpassing the antibacterial effect of oxacillin (31.5 mm; DS: 1.269). It is concluded that *Staphylococcus aureus* is susceptible to *Caesalpinia spinosa*, according to the M100 standard from CLSI (21 mm), in all the concentrations used, and from the concentration at 75% it exceeds the inhibitory effect of oxacillin. This ethanol extract could be used as an adjunct treatment alongside oxacillin against *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Antimicrobial effect, *Caesalpinia spinosa*.

ÍNDICE

PÁGINAS PRELIMINARES

Página del jurado	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Declaratoria de autenticidad.....	iv
Presentación	v
Resumen.....	vi
Abstract.....	vii
Índice.....	viii

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad problemática	1
1.2. Trabajos previos	3
1.3. Teorías relacionadas al tema.....	5
1.4. Formulación del problema.....	8
1.5. Justificación del estudio	8
1.6. Hipótesis	8
1.7. Objetivos.....	9

II. MÉTODO

2.1. Diseño de investigación.....	10
2.2. Variables Operacionalización	11
2.3. Población y muestra	12
2.4. Técnicas procedimientos e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	13
2.5. Métodos de análisis de datos	14
2.6. Aspectos éticos	14

III. RESULTADOS.....

IV. DISCUSIÓN

V. CONCLUSIONES

VI. RECOMENDACIONES.....

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....

VIII. ANEXOS.....

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

La resistencia bacteriana es uno de las preocupaciones sanitarias con más trascendencia en el sistema de salud. La Organización Mundial de la Salud ha levantado la alerta acerca de la resistencia farmacológica en antibióticos considerados de elección en la terapia de las patologías por *Staphylococcus aureus* especialmente de infecciones severas tratadas en hospitales. Se estima que las personas que padecen patologías ocasionadas por *S. aureus* resistentes a la *meticilina*, sus posibilidades de fallecer alcanzan el 65% en comparación con los que no tienen infecciones sin resistencia antibiótica.¹

El *S. aureus* es, tal vez, la bacteria más cambiante entre los patógenos, tiene la facultad de ocasionar enfermedades tóxicas, infectar diversos órganos o sistemas produciendo secreciones purulentas, lesiones necróticas, bacteriemia, incluso trombosis en los vasos. Llega a reproducirse dentro de las células, ocasionando cronicidad de la infección aguda, reactivándose posteriormente, afectando el tejido dérmico como las mucosas, a partir del cual infectan el entorno y se transmiten a otras personas. Aproximadamente 91% de aislamientos de *S. aureus* productoras de betalactamasas que bloquean el accionar de la penicilina. El 80% de las cepas pertenecientes a *S. aureus* son sensibles a las fluoroquinolonas como el moxifloxacino que es en promedio 6 veces más efectivo que la levofloxacina y éste es 3 veces más efectivo que la ciprofloxacina.²

La medicina alternativa constituye un elemento con arraigo popular en el tratamiento de las enfermedades infecciosas, especialmente si el producto natural es de origen nacional como la *Caesalpinia spinosa* conocida como la Tara, la cual crece de forma silvestre en bosques y sistemas agroindustrial forestal, En el Perú se cultiva en diferentes regiones como La Libertad, Cajamarca, Lambayeque, también en la zona interandina de Lima, siendo su producción anual cerca de 3,000 toneladas. El Perú es el mayor productor de

Caesalpinia Spinosa, representado más del 82% de su producción en el mundo y el 18% es producido por Ecuador, Bolivia, Chile y Colombia. Siendo la región Cajamarca la que aporta la mayor producción de *Caesalpinia Spinosa* en el territorio peruano, ocupando la segunda posición en la exportación de productos agrícolas después del café.³

La *Caesalpinia Spinosa* es usada con frecuencia en el tratamiento tradicional para tratar el dolor faríngeo, sinusitis; infección de la vagina, así como micosis; conjuntivitis; heridas de larga data, dolores estomacales, enfermedades diarreicas; incluyendo resfríos comunes, además de disminuir la hipercolesterolemia. Por lo cual ya en nuestro país se han realizado investigaciones al respecto, uno de ellos fue evaluar la bondad antibiótica del extracto alcohólico de las vainas de la *C. spinosa* sobre bacterias Gram positivas presentes es la microflora bacteriana de la saliva, encontrándose que a mayores concentraciones del extracto alcohólico de *C. spinosa* (de 6,25 mg/mL a 75 mg/mL) los resultados de inhibición fueron satisfactorios.⁴

1.2. TRABAJOS PREVIOS

Montenegro A, et al (Lima, 2016), estableció la actividad antimicrobiana del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* in vitro dividido en 5 concentraciones (6.25; 12,5; 25; 50 y 75 mg/mL) sobre *Porphyromonas gingivalis*. Para obtener el extracto de la planta, se aplicó el método de difusión in vitro usando para tal fin el Alcohol de 96°. Se obtuvieron entre los resultados que el extracto de tipo alcohólico de *Caesalpinia spinosa* es útil como bactericida en la *P. gingivalis*; al considerar el incremento de la concentración no mantenía correlación proporcional con su incremento de diámetro del halo de inhibición. El test estadístico de Kruskall- Wallis calificó como que existieron estadísticamente diferencias entre las distintas concentraciones de *Caesalpinia spinosa*. Se consideró en el presente trabajo que para un halo inhibitorio límite de 8-14 mm se usó una concentración de *C. spinosa* de 12.5 obteniéndose como resultado 75%, y para un halo inhibitorio sumamente sensible de >20 mm la misma concentración de *C. spinosa* de 12.5 obteniéndose como resultado 25%.⁵

Guardia G, (Trujillo, 2016), su estudio experimental tuvo la finalidad de establecer el accionar bactericida in vitro del extracto etanólico del *Caesalpinia spinosa*, en cepas de *estreptococos mutans* dispuestas en 10 placas. El promedio del halo de inhibición del *estreptococo mutans* fue 8.1 mm a la concentración del 40%, de 14.8 mm a una concentración de 60% y de 16.9 a una concentración del 80%. El promedio de unidades formadoras de colonia obtenidas en las diluciones fue -3 UFC a la concentración del 40%, -2 UFC a la concentración del 60% y -1UFC promedio a la concentración del 80%.⁶

Terán Y, et al (Trujillo, 2016), evaluaron la acción in vitro del extracto oleoso de la fruta de *Caesalpinia spinosa* sobre el *Staphylococcus aureus metilino resistente*. Tuvieron resultados positivos, extractos oleosos de hojas de *Caesalpinia spinosa* cuyas diluciones fueron 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0.156, 0.078, 0.039, 0.019 y 0.009 % respectivamente. Se obtuvo que el efecto inhibitorio sobre los *S. aureus* fueron parecidos en las diluciones del 0.156%

del aceite esencial, mientras que para *S. aureus* ATCC 25923 fue 0.039%; las CMBs para *S. aureus* ATCC 4330 y HRDT347 son idénticos con concentraciones de 0.312%, mientras que para *S. aureus* ATCC 25923 fue 0.156%.⁷

Guevara J, et al (Lima, 2014). Comprobó la acción bactericida in vitro de 3 especies de *Caesalpinia spinosa* contra ciertas cepas de *S. aureus* que presentan sensibilidad y resistencia a la oxacilina. Al analizarse y compararse el halo inhibitorio de la placa de cefoxitina para *S. aureus* sensible a oxacilina (260 ± 3 mm) con la *Caesalpinia spinosa* de la zona de Huarochirí (11 ± 2.5 mm), la cefoxitina obtuvo alta inhibición, con diferencias significativa ($p < 0,001$). Referente a la *Caesalpinia spinosa* Tarmeña (22 ± 7 mm) y la Huamanguina (23 ± 7.2 mm), mientras que la cefoxitina por su lado obtuvo mayor inhibición ($p = 0,02$ y $p = 0,01$, respectivamente). Tras diferenciar los promedios del halo inhibitorio del disco de cefoxitina de los *S. aureus* que tuvieron resistencia a la oxacilina (9.1 ± 7.5 mm) con la tara de Huarochirí (14.1 ± 5.9 mm), la cefoxitina representó mayor inhibición, con diferencias significativas ($p = 0.007$). Por otro lado, la Tarmeña (25.2 ± 7.2 mm) y Huamanguina (26.1 ± 7.3 mm) obtuvieron promedios de halo inhibitorio mayor al principio activo cefoxitina ($p < 0.005$).⁸

1.3. TEORÍA RELACIONADA AL TEMA

El tipo *Staphylococcus* pertenece al grupo de cocos que son Gram positivos, que se encuentran únicos o pareados, en tétradas, o conformando racimos, etimológicamente proviene de la palabra griega “staphyle” cuyo significado es racimo de uva. Estas bacterias inmóviles, sin esporulación ni cápsula, son anaerobias facultativas. Un gran porcentaje de estas bacterias producen catalasa. La familia de los *Staphylococcus* lo conforman 32 especies, de las cuales la mitad afectan a los humanos formando parte de la microbiota de mucosas y piel en personas, y otras se encuentran hallan en muchas aves y mamíferos. Algunas especies patógenas se vuelven virulentas cuando hay predisposición, existe un sistema inmunológico deprimido en el huésped o en presencia de cuerpos extraños. Cada especie de *Staphylococcus* presenta un lugar específico en el individuo donde colonizan, los más importantes clínicamente son: *S. aureus* y *S. lugdunensis*; *S. intermedius*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* que son en su mayoría responsables de múltiples y variadas infecciones por dispositivos e infecciones urinarias, siendo éstos menos infecciosos.^{9,10}

El diagnóstico se realiza basándose en información clínica, microbiológica y epidemiológica los cuales sirven en la orientación del diagnóstico, requiriéndose aislar e identificar el *S. aureus* obtenidos de muestras microbiológicas.¹⁰

Normalmente el *S. aureus* no ocasiona procesos infecciosos, pero puede presentarse en individuos con sistema inmunológico comprometido, es decir, dado el caso de la persistencia bacteriana en el huésped ocasiona riesgos de enfermedad. Los signos y síntomas desencadenados por las infecciones producidas por *S. aureus* son producidas por pirógenos siendo superantígenos, las cuales están ligadas a zonas invariables del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) tipo 2, presentadoras de antígenos y de linfocitos T, liberándose citoquinas en dicha célula produciendo lesión en la superficie celular, originando el shock tóxico, trayendo como efecto disminución de la

presión arterial, liberando citoquinas. *S. aureus* tiene sustancias proteicas que inhiben la fagocitosis y opsonización defensivo. Por otro lado, el *S. aureus* produce moléculas inhibitorias del reclutamiento neutrófilico, fagocitosis y detección bacteriana.¹¹

La *Caesalpinia spinosa* (Tara), viene siendo estudiada por su actividad antimicrobiana y antioxidante, La mayoría de los autores reportan la presencia de taninos hidrolizables (los cuales son provenientes del ácido gálico) en los frutos de *Caesalpinia spinosa*, los cuales se caracterizan por tener anillos fenólicos. La tara, *Caesalpinia spinosa*, es un vegetal nativo del País, con altas concentraciones de taninos, usadas en la antigüedad. La medicina alternativa, es usada por la propiedad antibiótica, cicatrizial y astringente. Se demostró que el extracto de tipo alcohólico de la fibra de *Caesalpinia spinosa*, tiene acción antibacteriana con cifras de concentración mínima inhibitoria de 5 mg/mL para *S. aureus*.¹²

La *Caesalpinia spinosa*, presenta actividad antibacteriana frente a *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans* *S. aureus*, *E. coli*, *Penicillium sp.* Como también el *Aspergillus sp.*, dependiente de escenarios ecológicos, y su accionar es dependiente de una serie de metabolitos que se hallan en dicho vegetal. El estudio químico de la *Caesalpinia spinosa* depende del lugar de procedencia, porque varían las concentraciones de flavonoides, taninos y diversos péptidos. Además existen modificaciones del accionar bactericida acorde con el área geográfica de donde procede.¹³

Dentro de las propiedades químicas de la *Caesalpinia spinosa* se encuentran, los fenoles de tipo ácido. Presentan muchas actividades antimicrobianas y farmacológicas, como analgésica, antioxidante, colerético entre otros. El componente eugenol tiene acción antiséptica y anestésica local. El tanino se ubica tanto en la raíz, corteza, como también los folios de dicho vegetal, con acción antibacteriana, astringente y antiséptica. Desde la antigüedad se usó en la curtiembre, muchas veces se aplican por tener propiedades como astringente, vasoconstrictor en los sangrados y como cicatrizante para la

quemadura. Usado también para procesos diarreicos y como antídotos en ciertas intoxicaciones. Además, tiene quinonas producidas mediante la oxidación de los fenoles, atribuyéndosele actividad antibiótica.¹⁴

Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles ampliamente distribuidos en varios sectores del reino de las plantas superiores, especialmente en las familias *Leguminosae*, *Rosaceae*, *Polygonaceae*, *Fagaceae*, *Rhizophoraceae*, *Myrtaceae* y *Melastomataceae*. Tienen dos propiedades fundamentales: astringente y curtiente, esta última propiedad se debe a su capacidad para unirse a macromoléculas como hidratos de carbono y proteínas; además precipitan con sales de metales pesados, proteínas y alcaloides. Existen 2 tipos: Taninos hidrolizables (gálicos o pirogálicos), los cuales se hidrolizan con facilidad tanto por ácidos, álcalis y por vía enzimática; y Taninos condensados o proantocianidinas. Poseen cinco características generales: a) solubilidad en agua, b) masa molecular entre 500 y 3000-5000, c) estructura y carácter polifenólico (12-16 grupos fenólicos y 5-7 anillos aromáticos por cada 1000 unidades de masa molecular relativa), d) complejación intermolecular y e) características estructurales.¹⁵

Flavo proviene del latín flavus, y significa de color entre amarillo y rojo, son pigmentos naturales en los vegetales y protegen al organismo del daño producido por rayos ultravioletas, polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos. Poseen un variable contenido de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. Así al consumirlos obtenemos de ellos propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes. De esta última, principalmente, radica su función en el sistema nervioso, pues se ha visto relación de protección en enfermedades neurodegenerativas. Se han identificado más de 5.000 flavonoides, entre los que se pueden destacar: .Citroflavonoides, Flavonoides de la soja o isoflavonoides, Proantocianidinas, Antocianidinas, Ácido elágico, Catequina y Kaemferol.¹⁶

1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Tiene actividad antibacteriana el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina a la concentración de 1 µg, en un estudio in vitro?

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

A lo largo han existido una serie de estudios que establecen las propiedades antibacterianas de la *Caesalpinia spinosa*, sin embargo, son pocas las investigaciones acerca de sus diluciones del extracto etanólico y el *Staphylococcus aureus*, teniendo en cuenta la virulencia de esta bacteria y su característica de resistencia contra varios fármacos y que dicho problema va en aumento.

Los resultados servirán para plantear nuevas estrategias con el uso de la medicina alternativa, considerando su concentración mínima inhibitoria, como también el diámetro del halo inhibitorio, constituyendo las bases para una propuesta terapéutica.

1.6. HIPÓTESIS

Hi. - El extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* tiene actividad antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con Oxacilina a la concentración de 1 µg, en un estudio in vitro.

Ho. - El extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* no tiene actividad antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con Oxacilina a la concentración de 1 µg, en un estudio in vitro.

1.7. OBJETIVOS

1.7.1. General

Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con Oxacilina a la concentración de 1 µg, en un estudio in vitro.

1.7.2. Específicos

- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una dilución del 100%
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una dilución del 75%
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una dilución del 50%
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una dilución del 25%
- Establecer el efecto antibacteriano de la oxacilina a dosis de 1 µg.

II. MÉTODO

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Tipo de investigación: Básica

Diseño de investigación:

Experimento con repeticiones múltiples, con post prueba

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	X6	O6

Donde:

RG1-6: Grupos de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

X1: Extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* al 100%

X2: Extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* al 75%

X3: Extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* al 50%

X4: Extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* al 25%

X5: Control negativo (Suero fisiológico, DMSO)

X6: Control positivo (oxacilina 1µg)

O1-6: Efecto antibacteriano (halo de inhibición).

2.2. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN

Variable Independiente: agente antibacteriano

- Agente antibacteriano no farmacológico: Extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa*
- Agente antibacteriano farmacológico: Oxacilina (Gold estándar).

Variable Dependiente: Actividad antibacteriana

- Si efecto antibacteriano: aumento del halo de inhibición
- No efecto antibacteriano: disminución del halo de inhibición

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Agente antibacteriano</p>	<p>Sustancia cuyas propiedades son capaces de eliminar agentes bacterianos o la inhibición de su crecimiento o proliferación. ¹⁸</p>	<p>Se considerara 3 concentraciones 100%, 75%, 50% y 25%, además de un control positivo (oxacilina) y un control negativo (suero fisiológico)</p>	<p>G1 G2 G3 G4 G5 G6</p>	<p>Cualitativa nominal</p>
<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Actividad antibacteriana</p>	<p>Es la inhibición del crecimiento o desarrollo de bacterias debido a la acción del extracto de tipo alcohólico de <i>C. spinosa</i>.²⁰</p>	<p>Se considerará un diámetro de halo inhibitorio en mm según el estándar M100.s27 del CLSI.²⁰</p>	<p>1- Resistente \leq 22 mm 2- Sensibles \geq 22mm.</p>	<p>Cualitativa nominal</p>

2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

Población: Lo conformaron cepas de *Staphylococcus aureus* que se cultivaron en placas Petri, en el Laboratorio de Biología de la universidad César Vallejo.

Muestra:

Tamaño de muestra: En el estudio se aplicó la fórmula para diferencia de promedios, obteniéndose 10 repeticiones por cada grupo de experimentación. (Ver anexo 01)

Unidad muestral: Cada placa Petri donde se cultiva el *S. aureus*.

.

Unidad de análisis: Cada cultivo de *S. aureus*.

Muestreo: Las cepas utilizadas en el estudio, se seleccionaron considerando un muestreo aleatorio simple de las colonias, dentro de las mismas colonias sujetas a experimentación por cada grupo estudiado.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios De Inclusión: se incluyeron

- Cultivos de *S. aureus* de la misma cepa.
- Cultivos que tengan la misma cantidad y tamaño de la colonia de *S. aureus*.

Criterios De Exclusión: fueron excluidas

- Placas contaminadas con otras otras bacterias

2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

TÉCNICA: Se realizó la observación directa del crecimiento de las colonias de *S. aureus* ATCC 25923.¹⁷

PROCEDIMIENTO: Se consideró lo siguiente:

a) Tipificación de la planta:

La planta fue identificada taxonómicamente por el Herbario Antenor Orrego - HAO. (Anexo 02)

b) Método de obtención:

Se obtuvo el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa*, mediante el método de maceración en etanol.¹⁸ (Anexo 03)

c) Procedimiento cultivo:

Se utilizó el medio de cultivo agar Muller-Hinton, para el cultivo de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en la prueba de susceptibilidad, de acuerdo a las recomendaciones del CLSI a través del estándar M02-A12.25.¹⁹ (Anexo 03)

d) Procedimiento para evaluar sensibilidad:

Se evaluó la susceptibilidad antibacteriana siguiendo las normas y procedimientos establecidos en los estándares M02-A1225 y M100-S2826 del CLSI.²⁰ (Anexo 03)

INSTRUMENTO:

Se utilizó un formato para el recojo de información en donde se indicó el número de placas de petri, concentraciones y diámetros del halo inhibitorio entre las 48 horas hasta las 72 horas. (ver anexo 3)

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO:

En cuanto al proceso de validación de la ficha para recolectar la data se realizó a través de la opinión de tres profesionales de salud, conformados por médicos especialistas, los que analizaron la pertinencia del instrumento en relación a la claridad y al cumplimiento de los objetivos de la investigación. (Ver anexo 04)

2.5.MÉTODO DE ANÁLISIS

La información recolectada en la ficha de recolección se procesó en una base de datos. Los datos que se recolectaran será a través de una hoja Excel, para posteriormente analizarse mediante en el programa IBM-SPSS versión 25.0.

Para evaluar la significancia estadística el estudio y determinar la concentración más eficaz se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y para establecer las diferencias significativas entre grupos de estudio y encontrar el mayor diámetros del halo inhibitorio se aplicó la prueba post ANOVA de Tukey.

2.6.ASPECTOS ÉTICOS

En este presente trabajo se tomó en cuenta las medidas de bioseguridad determinadas por el ministerio de salud. Así mismo se consideró la aprobación del comité de investigación de la facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo.

III. RESULTADOS

Tabla 01: Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “*tara*” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina 1µg, en un estudio in vitro

DATOS DESCRIPTIVOS

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
100%	10	34.50	1.716	0.543	33.27	35.73	32	37
75%	10	32.60	1.578	0.499	31.47	33.73	30	34
50%	10	27.80	1.751	0.554	26.55	29.05	26	31
25%	10	27.50	1.080	0.342	26.73	28.27	26	29
Oxacilina	10	31.50	1.269	0.401	30.59	32.41	29	33
Total	60	25.65	11.910	1.538	22.57	28.73	0	37

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver.25

Tabla 02: Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “*tara*” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina 1 µg, en un estudio in vitro

ANÁLISIS DE VARIANZA

ANOVA					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8268.150	5	1653.630	879.764	0.000
Dentro de grupos	101.500	54	1.880		
Total	8369.650	59			

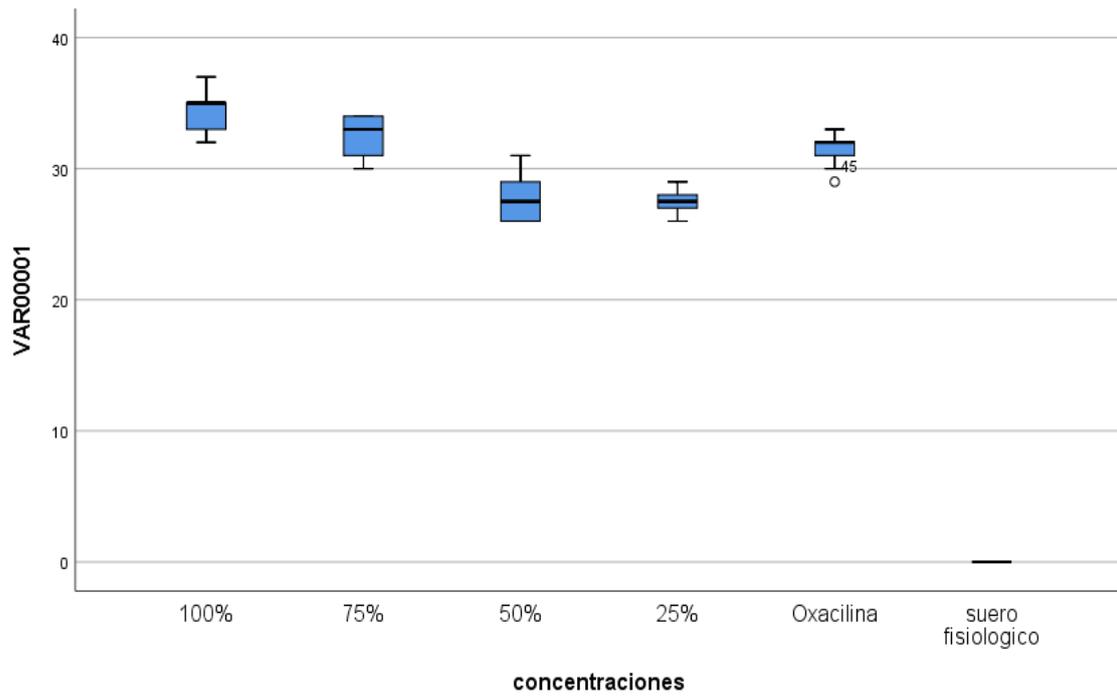
Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25

Tabla 3: Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “*tara*” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina 1 µg, en un estudio in vitro

ANALISIS DE HOMOGENEIDAD DE LOS DATOS: TUKEY

concentraciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
suero fisiologico	10	0.00			
25%	10		27.50		
50%	10		27.80		
Oxacilina	10			31.50	
75%	10			32.60	
100%	10				34.50
Sig.		1.000	0.996	0.478	1.000

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25



Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver. 25

GRÁFICO 01. Actividad antibacteriano del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* "tara" sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina 1µg, en un estudio in vitro.

IV. DISCUSIÓN

Con el objetivo de evaluar el “Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina 1µg, se desarrolló el presente estudio experimental in vitro. Para lo cual se hizo la obtención del extracto etanólico de la *Caesalpinia spinosa*, en diluciones del 100%, 75%, 50% y 25%, se comparó con el patrón de oxacilina 1µg y un control negativo con suero fisiológico.

Tabla 01. Se observa efecto antibacteriano de *C. spinosa* desde la dilución del 25% (27,5 mm; DS: 1.080 DE: ±0.54. IC 95%: 33.27 - 35.73, rango: 32-37), al 50% (27,8 mm; DS: 1,751 DE: ±0.34. IC 95%: 26.73 – 28.27, rango: 26-29), al 75% (32,6 mm; DS: 1,578 DE: ±0.50. IC 95%: 31.47 - 33.73, rango: 30-34) y al 100% (35 mm, DS: 1.716 DE: ±0.54. IC 95%: 33.27 - 35.73, rango: 32-37), se evidencia que al aumentar la concentración del extracto, el efecto inhibitorio es mayor. Con los valores obtenidos se comprueba que *Staphylococcus aureus* es sensible a *C. spinosa*, según lo considerado por el estándar M100 del CLSI (22 mm). Incluso al 100% y 75% el efecto antibacteriano supera al del oxacilina (31.5 mm; DS: 1,269 DE: ±0.40. IC 95%: 30.59 – 32.41, rango: 29-33).

Los hallazgos son refrendados por el análisis de varianza “ANOVA” (tabla 02) donde se obtiene que el valor obtenido (ANOVA=0.000) indica que el experimento estadísticamente es altamente significativo (ANOVA menor de 0.01). La prueba Post ANOVA de Tukey (Tabla 3) donde se evalúa la homogeneidad de los grupos, el más alto halo de inhibición del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “tara” a las concentraciones de 75% y 100%, siendo incluso mayor que los de la Oxacilina. Al observar el gráfico 01, se visualiza mucho mejor la comparación de las medias de los diferentes grupos de diluciones comparados con la oxacilina, donde se aprecian valores más altos a la concentración al 100% del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “tara”; confirmándose que las medias de los halos de inhibición de la tara son mucho mayores que el de oxacilina incluso a diluciones del 25%.

Los trabajos sobre esta planta son escasos sin embargo se ha comparado con estudios como los de Montenegro A, et al⁵, quien comprobó la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de cinco concentraciones de *C. spinosa* sobre *Porphyromonas gingivalis*, cocobacilo gram negativo (halos de inhibición límite: de 8 mm-14 y sumamente sensible ≥ 20 mm); Guardia G.⁶, quien trabajo con otra bacteria del mismo grupo de Gram positivos, el *Streptococcus mutans*, halló halos de inhibición en todas las concentraciones y los tamaños aumentaron directamente proporcional a la concentración utilizada (8.1 mm a la concentración del 40%, de 14.8 mm al 60% y de 16.9 al 80%) valores que distan de los encontrados en el presente estudio; así mismo en un trabajo similar realizado por Terán Y, et al⁷, quien realizó el experimento con microdiluciones comprobó efecto inhibitorio de la tara sobre la viabilidad de cultivos SARM, las CMIs para *S. aureus* ATCC 43300 y HRDT347 es de 0.156%, para *S. aureus* ATCC 25923 es 0.039%; Guevara J, et al⁸ comprobó la acción bactericida in vitro de 3 biovariedades de *Caesalpinia spinosa* contra cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles y resistentes a la oxacilina. Los tres cocimientos presentaron actividad antimicrobiana contra cepas de *S. aureus* (Tara de: Huarochiri: 10.71, de Tarma: 22.39 y de Huamanga: 22.52 mm).

En la presente investigación se determinó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* "tara" contra cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, posiblemente este efecto fue gracias a la composición que posee esta planta: taninos, son compuestos fenólicos solubles en agua, con pesos moleculares entre 500-3000, que además de dar las reacciones fenólicas usuales, poseen la habilidad de reaccionar y precipitar con alcaloides, gelatinas y otras proteínas. Como beneficio para el hombre posee un efecto antihemorrágico local, astringente y antibacteriano, este último efecto se produce al combinarse con las proteínas de la membrana celular de las bacterias provocando su respectiva desnaturalización. Los flavonoides son pigmentos de las flores, constituyen el grupo más amplio de los fenoles, y tienen propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes.

Por otro lado, las diferencias encontradas con los trabajos ya mencionados pueden ser posible porque se usó una mayor concentración de la planta, la procedencia de la planta que en este caso es originaria de La Libertad, la madurez de la planta, la forma del procedimiento y obtención del extracto etanólico. Incluso la composición terreno del área de cultivo influye en la calidad y composición de la planta.

V. CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa* tiene actividad antibacteriana en todas las concentraciones del extracto contra cepas de *Staphylococcus aureus*; a concentraciones mayores incluso su efecto antimicrobiano fue mayor de lo evidenciado por oxacilina.
- La concentración al 100% y 75% (34,5 y 32,6 respectivamente) obtuvieron un mayor diámetro del halo inhibitorio en relación a oxacilina que obtuvo una media de 31.5
- Al 50% y al 25% (27,8 y 27,5 respectivamente) se obtuvieron diámetros de halo inhibitorio similares y aunque presentaron actividad antibacteriana sobre el extracto etanólico de *C. spinosa*, no lograron superar el halo inhibitorio de la oxacilina que es considerado sensible según el CLSI.
- El halo de inhibición de Oxaciclina fue ≥ 31 mm, menor que las concentraciones del extracto etanólico de *C. spinosa* al 75% y 100%.

VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar otras investigaciones para ampliar el espectro de actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en concentraciones menores.
2. Se puede realizar estudios como tratamiento coadyuvante con otros antibióticos y bacterias Gram positivas y negativas.
3. Se recomienda profundizar estudios evaluando sus efectos con otros patógenos.
4. Se sugiere realizar estudios en modelos animales in vivo.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos. Nota descriptiva septiembre de 2016. OMS. Washington. 2016, disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
2. Mensa J, Soriano A, Llinares P, Barberán J, Montejo M, Salavert M, et al. Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. Rev Esp Quimioter 2013; 26 (Supl. 1):1-84. Disponible en: <http://public-files.prbb.org/publicacions/f2bbad80-cb68-0130-27bb-263316c03650.pdf>
3. Cotrina J. Experiencia de Producción y Comercialización de Tara Orgánica por la Asociación de Productores de Tara del Norte - APT del Norte. Lima; Proterra Perú SAC: 2012. Disponible en: http://www.sierranorte.gob.pe/docs/publicaciones/La_Tara_Oro_Verde.pdf
4. Huarino M. Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre flora salival mixta. Tesis. Escuela de Estomatología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima 2011 8Citado 2 de setiembre del 2016). Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2809/1/Huarino_am.pdf
5. Montenegro A, Ramos D. Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre *Porphyromonas gingivalis* Odontol. Sanmarquina 2016; 19(1): 7- 11 Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/05.v19i1.12175>
6. Guardia G. Efecto antibacteriano in vitro del caesalprina sponisa sobre estreptococo mutans ATCC 25175. Tesis. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de estomatología. Trujillo. 2016.
7. Terán Y, González J, Gómez K, Reyna L, Avila L. Efecto in vitro del aceite esencial de los frutos de *Caesalpinia spinosa* (molina) Kuntze, tara sobre la viabilidad de cultivos de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. Pueblo cont. Enero - junio 2015; 26(1):76-86

8. Guevara J, Guevara C, Béjar V, Huamán A, Valencia E, Abanto P. Evaluación 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):177-80 Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v75i2.8379>
9. Crossley KB, Jefferson KK, Archer G, Fouler VG. *Staphylococci in human disease*. 2nd Edition. Wiley-Blackwell; 2012.
10. Cervantes E, García R, Salazar P, Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* 2014; 61 (1): 28-40. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>.
11. De Leo FR, Diep BA, Otto M. Host defense and pathogenesis in *Staphylococcus aureus* infections. *Infect Dis Clin North Am.* 2009; 23: 17-34
12. Rojas N, Avilés R, Villacaqui E, Neira E, Ramos W, Santiago J. Tratamiento de quemaduras con películas obtenidas por radiación gamma que contienen extracto hidroalcohólico de tara (*Caesalpinia spinosa*) en animales de experimentación. *Dermatología peruana* 8Citado 23 de setiembre del 2016) 2011; vol 21 (1): 6-12. Disponible en: http://www.dermatologia.pe/web/file/publicaciones/3_bc51d4a0bd9b2bb_v21_n1.pdf
13. Araujo J, Salas R, Actividad antimicrobiana del extracto crudo de la vaina de *Caesalpinia spinosa* frente al *Staphylococcus aureus*. *Científica* 6 (2), 2009. Disponible en: https://www.cientifica.edu.pe/sites/default/files/cientifica6_2.pdf
14. Arraiza M. *Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales*. Madris; Universidad Politécnica de Madrid: 2012. Disponible en: <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema6.pdf>

15. Olivas F., et. al. Taninos hidrolizables; bioquímicos, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nut Hosp. México*. 2015; 31(1):55-66.
16. Martínez S., Gonzales J., Culebras J. y Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nut Hosp. España*. (2002) XVII (6) 271-278
17. Bowen C., Mardones M., Velásquez L. Guía de laboratorio de microbiología. Ecuador; 2014.
18. González V. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del amazonas. Colombia; 2004
19. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud; 2002. [citado: 25 de mayo del 2017]. Disponible en URL: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua_l%20sensibilidad.pdf
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Wayne PA 19087. USA 27th ed. CLSI Supplement M100-S26; 2017. [citado: 25 de mayo del 2017]. Disponible en URL: <http://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2017-M100-S27.pdf>
21. Dawson B. Trapp R. Bioestadística Médica, 4ta. ed. México: Manual Moderno; 2005
22. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos. Lima: Ministerio de salud, Instituto Nacional de Salud; 2005. [citado: 25 de mayo del 2017]. Disponible en URL: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1669.pdf>
23. Organización Mundial de la Salud. Manual de bioseguridad en el laboratorio. Malta. 3ra ed. Ginebra; 2005. pp: 47-50.

ANEXOS

ANEXO 1: Tamaño de muestra²¹

Se considerará un total de 10 muestras.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 P_1Q_1 + P_2Q_2}{(P_1 - P_2)^2}$$

$$z_{\alpha} = 2.58$$

$$z_{\beta} = 0.84$$

$$P_1 = 0.75$$

$$X_2 = 0.25$$

$$n = 9.485$$

Se utilizaron 10 muestras. ⁵

ANEXO 2:

a. Tipología de *C. Spinosa*

□ Reino: Plantae

□ División: Magnoliophyta

□ Clase: Magnoliopsida

□ Orden: Fabales

□ Subfamilia: Caesalpinioideae

□ Familia: Fabacea

□ Género: *Caesalpinia*

□ Nombres comunes: Taya, tara espinosa, algarroba, tanino, taro.



b. Procedimiento:

1. Tratamiento de la muestra

Las plantas frescas de Nombre científico "*Caesalpinia spinosa*", se obtuvieron del distrito de Poroto en la localidad de Shirán, en una cantidad de 2 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio de Microbiología "San José" ubicado en la ciudad de Trujillo, donde se seleccionaron las hojas con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la "muestra fresca" (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada y se llevó a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujaron manualmente las hojas secas hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como "muestra seca" (MS).



Foto N° 01: Vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara)



Foto N° 02: Peso electrónico de las vainas de tara

2. Obtención del extracto etanólico

El extracto etanólico de "*Caesalpinia spinosa*", se obtuvo por el método de maceración en alcohol etílico de 96°; para ello, se colocó en un frasco de vidrio 20 g de MS y 100 ml de alcohol etílico 96°, y se llevó a una estufa a 40°C por 8 días con agitación constante. Después, se hizo una doble filtración. Primero se filtró a través de una gasa estéril y segundo a través de un papel filtro Whatman N°41. Este filtrado, se regresó a la estufa por 1-2 días más, hasta que el filtrado se evaporó, por lo menos, 3/4 partes. De este modo, se obtuvo el extracto etanólico (EE) considerado al 100%; el cual, se reservó en un frasco de vidrio ámbar a 4°C hasta su utilización.



Foto N° 03: Frascos para maceración de Tara



Foto N° 04: Procedimiento de filtración para la obtención del extracto etanólico



Foto N° 05: Filtrado de la *C. spinosa*.

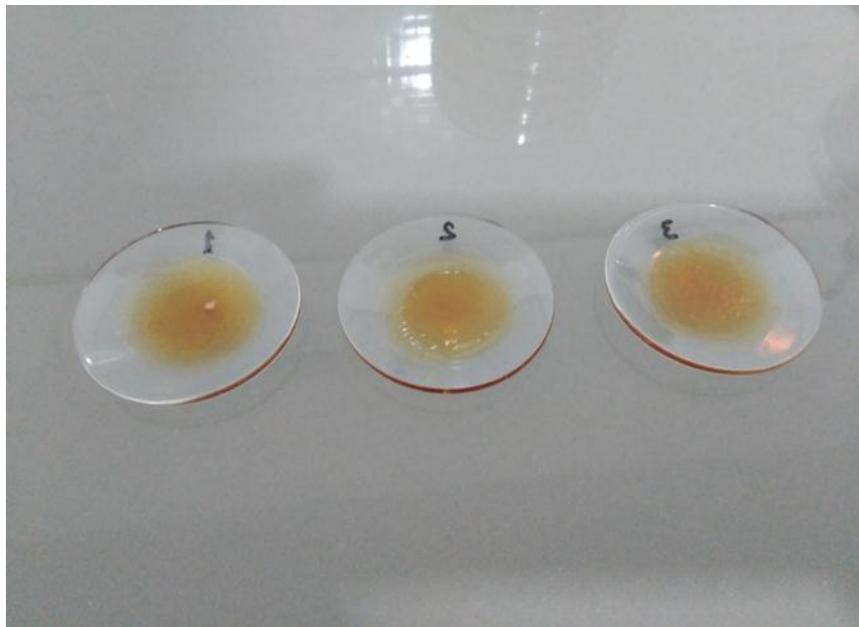


Figura 06: Ventilación con corrientes de aire frío en circuito cerrado en estufa

3. Preparación del medio de cultivo

Se utilizó agar Sabouraud como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.



Figura Nª 07: Colocación del inóculo (bacteria) en las placas petri.

4. Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M44-A2 y M60.

a) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Staphylococcus aureus*, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland (1-2 x10⁸ UFC/ml).

b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Staphylococcus aureus*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.

c) Preparación de las concentraciones del EE

A partir del EE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfoxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 μ L de EE y 250 μ L de DMSO al tubo de 75%, 500 μ L de EE y 500 μ L de DMSO al tubo de 50%, y 250 μ L de EE y 750 μ L de DMSO al tubo de 25%.

d) Preparación de los discos de sensibilidad con EE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 μ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 μ L de EE al 25% y se colocó en un disco, 10 μ L de EE al 50% en otro disco, 10 μ L de EE al 75% en otro disco y 10 μ L de EE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.

e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con EE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Staphylococcus aureus*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con nombre del antibiótico (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.

f) Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de EE de *Caesalpinia spinosa* y para el nombre del antibiótico. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M60 del CLSI.



Figura N^o 08: Extracción con pipeta del extracto etanòlico de *C. spinosa*



Figura N^o 09: secado de las placas Petri en la centrifuga

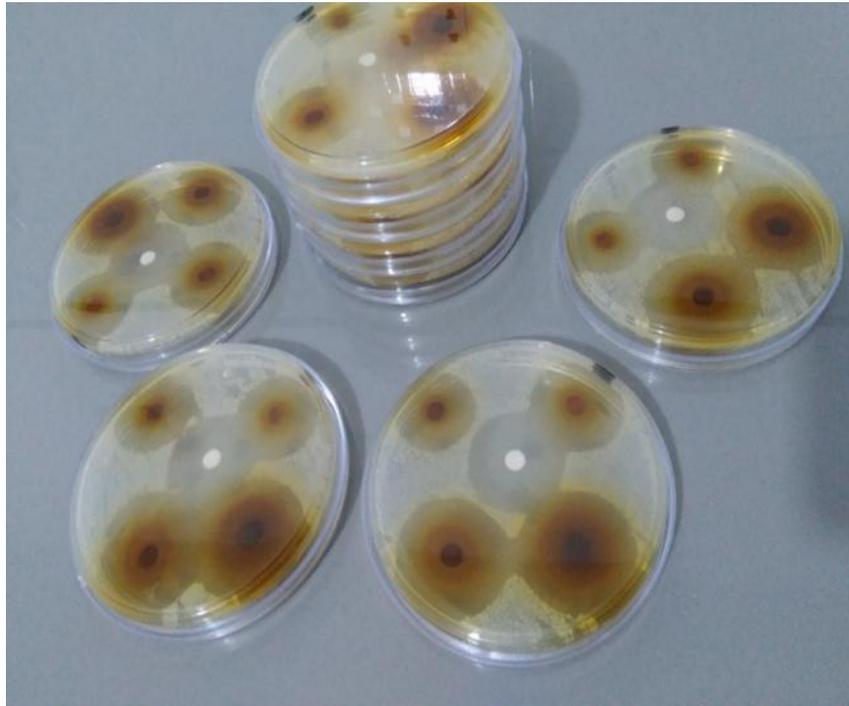


Figura N^o 10: Halos de inhibición de *C. spinosa* en relación a oxacilina en las placas petri a diferentes concentraciones

ANEXO 4: validación del instrumento

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

ZONA DE INHIBICIÓN (mm)						
Nº	Extracto etanólico de Tara				Oxacilina	suero fisiológico
	100%	75%	50%	25%		
1	37	30	27	28	32	0
2	35	31	28	28	30	0
3	33	34	29	29	33	0
4	37	34	31	28	33	0
5	32	32	26	27	29	0
6	35	31	28	26	32	0
7	33	34	26	27	31	0
8	35	34	30	29	31	0
9	35	32	26	26	32	0
10	33	34	27	27	32	0

Comparaciones múltiples

Variable dependiente:

HSD Tukey

(I) concentraciones		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
100%	75%	1.900*	0.613	0.035	0.09	3.71
	50%	6.700*	0.613	0.000	4.89	8.51
	25%	7.000*	0.613	0.000	5.19	8.81
	Oxacilina	3.000*	0.613	0.000	1.19	4.81
	suero fisiológico	34.500*	0.613	0.000	32.69	36.31
75%	100%	-1.900*	0.613	0.035	-3.71	-0.09
	50%	4.800*	0.613	0.000	2.99	6.61
	25%	5.100*	0.613	0.000	3.29	6.91
	Oxacilina	1.100	0.613	0.478	-0.71	2.91
	suero fisiológico	32.600*	0.613	0.000	30.79	34.41
50%	100%	-6.700*	0.613	0.000	-8.51	-4.89
	75%	-4.800*	0.613	0.000	-6.61	-2.99
	25%	0.300	0.613	0.996	-1.51	2.11
	Oxacilina	-3.700*	0.613	0.000	-5.51	-1.89
	suero fisiológico	27.800*	0.613	0.000	25.99	29.61
25%	100%	-7.000*	0.613	0.000	-8.81	-5.19
	75%	-5.100*	0.613	0.000	-6.91	-3.29
	50%	-0.300	0.613	0.996	-2.11	1.51
	Oxacilina	-4.000*	0.613	0.000	-5.81	-2.19
	suero fisiológico	27.500*	0.613	0.000	25.69	29.31
Oxacilina	100%	-3.000*	0.613	0.000	-4.81	-1.19
	75%	-1.100	0.613	0.478	-2.91	0.71
	50%	3.700*	0.613	0.000	1.89	5.51
	25%	4.000*	0.613	0.000	2.19	5.81
	suero fisiológico	31.500*	0.613	0.000	29.69	33.31
suero fisiológico	100%	-34.500*	0.613	0.000	-36.31	-32.69
	75%	-32.600*	0.613	0.000	-34.41	-30.79
	50%	-27.800*	0.613	0.000	-29.61	-25.99
	25%	-27.500*	0.613	0.000	-29.31	-25.69
	Oxacilina	-31.500*	0.613	0.000	-33.31	-29.69

ANEXO 5

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD PARA EL ESTUDIO EXPERIMENTAL

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD PARA EL ESTUDIO EXPERIMENTAL ²²⁻²³

AMBIENTE SEGURO:

Limpieza: se lavará con agua y detergente, luego sin éste, realizando una acción mecánica o de arrastre sobre las superficies. La limpieza se realizará antes de todos los procedimientos de desinfección y esterilización todas las áreas.

La limpieza se realizará con paños húmedos y el barrido por medio de escoba húmeda, con la intención de prevenir la resuspensión de los microorganismos que se encuentran en el piso. Se iniciará por las partes más altas, siguiendo la línea horizontal, descendiendo por planos.

Desinfección: Se realizará utilizando principalmente agentes químicos en estado líquido, como el alcohol a 70%, la pasteurización a 75°C y la irradiación ultravioleta.

Descontaminación: Se realizará un tratamiento químico aplicado a objetos que tuvieron contacto con sangre o fluido corporales, con el fin de inactivar microorganismos en piel u otros tejidos corporales.

Esterilización: Esterilización por vapor, esterilización por calor seco, esterilización por inmersión en productos químicos.

PROTECCIÓN CORPORAL

Se hará uso de mandiles o batas, siendo esta una prioridad multifactorial para el ingreso al área de trabajo, y en la realización de todos los procedimientos por parte de los integrantes del equipo.

Recomendaciones:

- Se usará bata, chaqueta o uniforme dentro de las instalaciones de trabajo (laboratorio).
- Esta ropa protectora será retirada inmediatamente antes de abandonar el laboratorio.
- Luego será transportada de manera adecuada a un lugar específico para posterior descontaminación y lavado.

PROTECCIÓN OCULAR Y TAPABOCA

- El uso de lentes y de mascarillas tiene como fin proteger las membranas de las mucosas de boca, nariz y ojos durante los procedimientos y actividades que puedan generar aerosoles, y salpicaduras de fluidos.
- Anteojos o lentes de Seguridad:
 - Permiten una correcta visión.
 - Tienen protección lateral y frontal, ventilación indirecta, visor de policarbonato, sistema antirrayaduras y antiempañantes.
 - Permiten el uso simultáneo de lentes correctores.
 - Son de uso personal.
 - Serán usados en todo momento durante los procesamientos de las muestras y el fraccionamiento de las unidades de fluidos. Cualquier excepción a esta regla, fue descrita en el programa de bioseguridad del servicio.

TAPABOCA:

- Es de material impermeable frente a aerosoles o salpicaduras.
- Es amplio de tal forma que cubre la nariz y toda la boca.
- Será utilizado por el equipo durante todo el tiempo manteniéndolo limpio y sin deformación.

PROTECCIÓN DE LOS PIES:

La protección se realizará para evitar lesiones producidas por sustancias corrosivas, descargas eléctricas, objetos pesados, así como para prevenir deslizamientos en pisos húmedos. Si cayera al suelo una sustancia corrosiva o un objeto pesado.

No se llevará ninguno de los siguientes tipos de calzados para transitar en el laboratorio:

- Zuecos
- Tacones altos
- Zapatos que dejen el pie al descubierto
- Se elegirá un calzado de cuero resistente que cubrió todo el pie. Este tipo de calzado proporcione una mejor protección.

PROTECCIÓN DE LAS MANOS

Se hará uso de guantes para prevenir o disminuir el riesgo de contaminación con los microorganismos de la piel del operador, como de la transmisión de gérmenes manipulados hacia el operador. Se lavarán las manos según técnica clínica con solución a base de clorhexidina y secadas antes del calzado de los guantes los cuales serán estériles.



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 39-2018-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que **Luisa Vanesa Chávez Burgos**, estudiante de la carrera profesional de Medicina Humana de la Universidad César Vallejo, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

***Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze (Fabaceae)**

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* "tara" contra cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina".

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 22 de octubre de 2018



Mg. Segundo Leiva González
Director
Museo de Historia Natural y Cultural

CONSTANCIA DE ASESORÍA DE PROYECTO DE TESIS

El que suscribe, Dr. Jaime Polo Gamboa docente de la Escuela Profesional de Medicina de la Facultad de Ciencias Médicas.

Hace CONSTAR

Que, de conformidad con el Reglamento para elaboración y evaluación de Proyectos de Tesis, el(la) estudiante Luisa Viana Charney Burgos de esta Superior Casa de Estudios, trabajó bajo mi asesoramiento el Proyecto de Tesis titulado:

ACTIVIDAD: ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE CAESALPINIA SPINOSA "tara" SOBRE CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC 25923 COMPARADO CON OXACILINA.

que será presentado para optar el Título Profesional de Médico Cirujano.

En tal virtud, asumo el asesoramiento del Proyecto mencionado en calidad de ASESOR ESPECIALISTA, tarea voluntaria y de cooperación académica con la Escuela de Medicina.

Expedido el presente a solicitud de la parte interesada sólo para fines académicos que estime conveniente.

Dado en la ciudad de Trujillo a los 05 días del mes de octubre del año 2018.

Firma y sello:

CPN: 6951




CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde la Srta. CHÁVEZ BURGOS LUISA VANESA estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del fruto de *Caesalpinia spinosa* "tara" contra cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina", durante los días 5 al 9 de agosto de 2018, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud de la estudiante, sólo para fines académicos, a los 12 días del mes de agosto de 2018.


José Luis Calla Queveaco
BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO
C.B.P. 0301

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo

Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo

☎ 769999 - 📠 948649844

✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/

CONSTANCIA DE ASESORIA DE DESARROLLO DE TESIS

La que suscribe **Dra. LLAQUE SÁNCHEZ MARÍA ROCÍO DEL PILAR**, identificada con DNI N° 17907759, Docente de la Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Académico Profesional de Medicina.

CERTIFICA:

Que, de conformidad con el reglamento para elaboración y evaluación de Ejecución de Tesis para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano, de la alumna: **LUISA VANESA CHÁVEZ BURGOS**, de esta casa de estudios, está trabajando bajo mi asesoramiento la Tesis titulada:

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* “tara” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, COMPARADO CON OXACILINA.

Que será presntado para optar el título anteriormente mencionado.

En tal virtud, asumo el asesoramiento de dicha ejecución, en calidad de asesor metodológico, tarea voluntaria y de cooperación académica con la Escuela de Medicina.

Expedido el presente a solicitud de la parte interesada para los fines académicos que estime conveniente, la Ciudad de Trujillo a los 23 días del mes de noviembre del 2018.

Llaque Sánchez María Rocío Del Pilar
DNI N° 17907759

ANEXO 4: validación del instrumento

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Nº	ZONA DE INHIBICIÓN (mm)					
	Extracto etanólico de Tara				Oxacilina	suero fisiológico
	100%	75%	50%	25%		
1	37	30	27	28	32	0
2	35	31	28	28	30	0
3	33	34	29	29	33	0
4	37	34	31	28	33	0
5	32	32	26	27	29	0
6	35	31	28	26	32	0
7	33	34	26	27	31	0
8	35	34	30	29	31	0
9	35	32	26	26	32	0
10	33	34	27	27	32	0


 Don Steve Hurtado E.
 CAP 2253
 Dr. Steve Hurtado


 Dr. Jaime Polo Gamboa
 CAP 6951
 Jaime A. Polo Gamboa
 MICROBIÓLOGO
 CAP 6951


 Dra. María Rocío del Pilar Llaque
 Sánchez