

**UNIVERSIDAD INCA
GARCILASO DE LA VEGA**



**FACULTAD DE CIENCIAS
FARMACÉUTICAS
Y BIOQUÍMICA**

**“EFECTO SINÉRGICO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL
EXTRACTO ACUOSO DE *Caesalpinia spinosa* (tara) Y DEL
EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LOS RIZOMAS DE
Polypodium picnocarpum C. (calaguala) EN CEPAS *Escherichia
coli*”**

**Tesis para optar el Título Profesional de Químico
Farmacéutico y Bioquímico**

BACHILLERES:

**MARIELA LUISA CÁRDENAS SALAS
PATRICIA DEL CARMEN QUINTANA FERNÁNDEZ**

ASESOR:

MG. Q.F. TOX. HENRY MONTELLANOS CABRERA

**LIMA – PERÚ
2017**

TÍTULO:

**“EFECTO SINÉRGICO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL
EXTRACTO ACUOSO DE *Caesalpinia spinosa* (tara) Y DEL
EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LOS RIZOMAS DE
Polypodium picnocarpum C. (calaguala) EN CEPAS *Escherichia
coli*”**

DEDICATORIA

A mi amado hijo Mateo Alejandro, el motor de mi vida, por ser mi inspiración y motivo de superación.

A mis padres Mayela y Eugenio, con todo mi cariño y amor para las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme fuerzas. A ustedes por siempre mi corazón.

A mis adorados hijos Alejandro y Axel, por la fuerza que me inspiran;

A mis padres Carlos y Betty, por contar siempre con su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por estar con nosotras en cada paso que damos, por permitirnos cumplir uno de nuestros objetivos.

A mi hermana Sonia por darme todo su apoyo.

A mi amigo Alex por confiar en mí y darme todo su apoyo.

Al Químico Farmacéutico Mario Neumann Pineda por su apoyo ofrecido en este trabajo, por su tiempo compartido y por impulsar el desarrollo de nuestra formación profesional.

ÍNDICE GENERAL

Índice de Tablas

Índice de Figuras

Índice de Anexos

Resumen

Abstract

Introducción..... 1

CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... 3

1.1. Descripción de la realidad problemática 3

1.2. Identificación y formulación del problema 4

1.2.1. Problema general 4

1.2.2. Problemas específicos 4

1.3. Objetivos de la investigación 4

1.3.1. Objetivo general 4

1.3.2. Objetivos específicos 4

1.4. Justificación de la investigación 5

1.5. Limitaciones de la investigación..... 5

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO 6

2.1. Antecedentes de la Investigación 6

2.1.1. Antecedentes nacionales 6

2.1.2. Antecedentes internacionales 12

2.2. Bases Teóricas 15

2.2.1. *Caesalpinia spinosa (tara)* 15

2.2.1.1. Descripción botánica de la *Caesalpinia spinosa (tara)* 15

2.2.1.2. Distribución geográfica de *Caesalpinia spinosa* 16

2.2.1.3. Hábitat 17

2.2.1.4. Ubicación taxonómica 17

2.2.1.5. Composición química de la tara 18

2.2.1.6. Taninos..... 18

2.2.1.7. Flavonoides 22

2.2.2. *Polypodium picnocarpum (calaguala)*..... 23

2.2.2.1. Descripción botánica	23
2.2.2.2. Hábitat	24
2.2.2.3. Ubicación taxonómica	24
2.2.2.4. Historia	24
2.2.2.5. Parte utilizada.....	25
2.2.2.6. Composición química	25
2.2.2.7. Acciones farmacológicas.....	25
2.2.2.8. Principios activos.....	30
2.2.3. Extractos	30
2.2.3.1. Definición de extractos	30
2.2.3.2. Obtención de extractos.....	30
2.2.4. <i>Escherichia coli</i>	31
2.3. Formulación de Hipótesis	35
2.3.1. Hipótesis general	35
2.3.2. Hipótesis específicas	35
2.4. Operacionalización de Variables e Indicadores	36
2.5. Definición de Términos Básicos.....	36
CAPITULO III. METODOLOGÍA	40
3.1. Tipo y Nivel de Investigación	40
3.2. Diseño de la Investigación	41
3.3. Población y Muestra de la Investigación	41
3.3.1. Población	41
3.3.2. Muestra	41
3.4. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	42
3.5. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos	42
CAPITULO IV. PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	48
4.1. Procesamiento de Datos: Resultados.....	48
4.2. Discusión de Resultados	59

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	60
5.1. Conclusiones	60
5.2. Recomendaciones	61
 Referencias Bibliográficas	 62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1	Halos de inhibición con el extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) en cepas <i>Escherichia coli</i> .	48
Tabla N° 2	Halos de inhibición con el del extracto hidroalcoholico de los rizomas de <i>Polypodium picnocalyx</i> C. (calaguala) en cepas <i>Escherichia coli</i> .	50
Tabla N° 3	Halos de inhibición con el extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) y del extracto hidroalcoholico de los rizomas de <i>Polypodium picnocalyx</i> C. (calaguala) en cepas <i>Escherichia coli</i> .	51
Tabla N° 4	Halos de inhibicion comparativos con las muestras de estudio	52
Tabla N° 5	Halos de inhibicion comparativos con las muestras de estudio	53
Tabla N° 6	Halos de inhibicion comparativos con las muestras de estudio	54
Tabla N° 7	Halos de inhibicion comparativos con las muestras de estudio	55
Tabla N° 8	Halos de inhibicion comparativos con las muestras de estudio	56
Tabla N° 9	Tamizaje fitoquímico extracto hidroalcoholio de los rizomas de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara)	57
Tabla N° 10	Tamizaje fitoquimico extracto hidroalcoholio de los rizomas de <i>Polypodium picnocalyx</i> C. (calaguala)	58
Tabla N° 11	Control positivo con gentamicina	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1	Flujograma de la extracción del extracto hidroalcoholico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> C.	43
Figura N° 2	Halos de inhibición de la tara expresados en mm	49
Figura N° 3	Halos de inhibición de la calaguala expresados en mm	50
Figura N° 4	Halos de inhibición de la sinergia de tara y calaguala expresados en mm	51
Figura N° 5	Halos de inhibicion comparativos al 2% con las muestras de estudio	53
Figura N° 6	Halos de inhibicion comparativos al 5% con las muestras de estudio	54
Figura N° 7	Halos de inhibicion comparativos al 10% con las muestras de estudio	55
Figura N° 8	Halos de inhibicion comparativos al 15% con las muestras de estudio	56
Figura N° 9	Halos de inhibicion comparativosal 20% con las muestras de estudio	57

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1	Matriz de consistencia.....	69
Anexo N° 2	Certificado <i>Polypodium picnocarpum</i>	70
Anexo N° 3	Certificado <i>Caesalpinia spinosa</i>	71
Anexo N° 4	Ficha de recolección de datos.....	72
Anexo N° 5	Testimonios fotográficos	74

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) y del extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* C. (calaguala) en cepas *Escherichia coli*. Metodología: experimental *in vitro*, mediante el método de difusión de discos embebidos con el extracto acuoso de tara y el extracto hidroalcoholico de calaguala, el efecto sinérgico se evidencio en placas con *Escherichia coli*. Resultados: Para el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) la medida de los halos, fueron: 2% (3.4mm), 5% (3.6mm), 10%(4.4mm), 15%(4.6mm), 20%(5.2mm). Para el extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* c. (Calaguala) la medida de los halos fueron 2% (2.6mm), 5% (2.0mm), 10%(2.4mm), 15%(2.8mm), 20%(2.2mm). Para la actividad sinérgica la medida de los halos de inhibición fueron 2% (3.2mm), 5% (3.0mm), 10%(4.4mm), 15%(3.8mm), 20%(3.2mm). Se utilizó un control positivo que fue gentamicina 80mg y 160mg y cloruro de sodio como blanco. Conclusiones: El extracto acuoso de tara y del extracto hidroalcoholico de los rizomas de Calaguala no tiene efecto antibacteriano sinérgico. A medida que se aumenta la concentración del extracto acuoso de tara y del extracto hidroalcoholico de los rizomas de Calaguala, se obtienen menor diámetro de halos de inhibición. Solo al 10% de la concentración del extracto acuoso de tara y del extracto hidroalcoholico de los rizomas de Calaguala, los halos presentan un mismo tamaño en comparación con la solución de tara, a mayor concentración no puede observarse mayor significancia.

Palabras clave: Efecto sinérgico, actividad antibacteriana, *Caesalpinia spinosa*, *Polypodium picnocalyx* C, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the *in vitro* antibacterial synergistic effect of *Caesalpinia Spinosa* (tara) aqueous extract and the hydroalcoholic extract of the rhizomes of *Polypodium Picnocarpum* c. (calaguala) in *Escherichia coli* strains. Methodology: *In vitro*, by the method of diffusion of discs embedded with the aqueous extract of Tara and the hydroalcoholic extract of calaguala, the synergistic effect was evidenced in plates with *Escherichia coli*. Results: For the aqueous extract of *Caesalpinia spinosa* (Tara) the measure of the halos were 2% (3.4mm), 5% (3.6mm), 10% (4.4mm), 15% (4.6mm), 20% (5.2mm). For the hydroalcoholic extract of the rhizomes of *Polypodium Picnocarpum* c. (Calaguala) were measured at 2% (2.6mm), 5% (2.0mm), 10% (2.4mm), 15% (2.8mm), 20% (2.2mm). For the synergistic activity, the inhibition halos were 2% (3.2mm), 5% (3.0mm), 10% (4.4mm), 15% (3.8mm), and 20% (3.2mm). Positive control that was gentamicin 80mg and 160mg and sodium chloride as white. Conclusions: The aqueous extract of Tara and the hydroalcoholic extract of the rhizomes of Calaguala DOES NOT have a synergistic antibacterial effect. As the concentration of the aqueous tara extract and the hydroalcoholic extract of the calaguala rhizomes increases, a smaller diameter of inhibition halos is obtained. Only at 10% of the concentration of the aqueous extract of tara and of the hydroalcoholic extract of the rhizomes of Calaguala, the halos have the same size in comparison with the tara solution; the higher concentration cannot be observed greater significance.

Key words: Synergistic effect, antibacterial activity, *Caesalpinia spinosa*, *Polypodium picnocarpum* C, *Escherichia coli*.

INTRODUCCIÓN

Una de las bacterias que normalmente encontramos en el intestino de los animales y del ser humano es *Escherichia coli* (E. coli). Algunas cepas de E. coli como E. coli productora de toxina Shiga, a través de los alimentos causan diversas enfermedades. Mediante el consumo de alimentos contaminados, puede transmitirse esta bacteria. En vista a la evidente resistencia bacteriana de las cepas de *Escherichia coli* a los medicamentos modernos como los aminoglucosidos (gentamicina) y con la necesidad de buscar otras alternativas para combatir la infección con menos efectos adversos, es que nos proponemos realizar esta investigación.

El efecto antibacteriano se define como la destrucción o impedimento del desarrollo de las bacterias a través del uso de diferentes productos químicos. En este sentido: “la aparición de la fitoterapia o terapia con plantas medicinales ha planteado la necesidad de estudiar esta actividad, en el marco científico”. En varias plantas se han visto empíricamente y determinado metodológicamente principios activos de naturaleza antimicrobiana diversa. Uno de estos recursos es la *Caesalpinia spinosa* (tara) y *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala).

Teniendo en cuenta que nuestra población necesita alternativas de costo reducido y alto beneficio para el tratamiento de lesiones que lo haría accesible a las clases más populares, se ha realizado una investigación dirigida a comprobar el efecto antibacteriano sinérgico del extracto acuoso de la tara y del extracto hidroalcoholico de los rizomas de calaguala.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) y de lo rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) frente a cepa de *Escherichia coli*, con la finalidad de incorporar el uso de plantas aplicadas en la medicina tradicional en el Perú, determinando el efecto farmacológico deseado y que se use como medicina alternativa.

Por ello la presente investigación consta de V capítulos y anexos.

En la presente investigación, en el Capítulo I se plantea el Problema y los objetivos de la investigación, así como la justificación y la limitación.

En el capítulo II, se tomarán en cuenta los antecedentes y bases teóricas de la investigación y se procederá a formular la hipótesis, definiendo los términos básicos.

En el capítulo III, se explicará de la metodología de investigación, el diseño, la población y las técnicas estadísticas para la realización de esta investigación.

En el capítulo IV, se presentarán y analizarán los resultados, así como la discusión de los mismos.

En el capítulo V, se mencionarán las conclusiones a las cuales se ha llegado en la investigación y se darán algunas recomendaciones.

Finalmente, se presentará la bibliografía y los anexos usados en el desarrollo de la investigación.

CAPÍTULO I:

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Un problema de salud mundial son las enfermedades infecciosas, en la que siempre el agente patógeno es una bacteria altamente resistente ⁽¹⁾

Una causa de la resistencia es el uso excesivo de antibacterianos, y eso generalmente se debe a la automedicación de los pacientes ⁽²⁾

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en su estrategia Salud para todos en el año 2000, busca la necesidad de incorporar a la salud pública los recursos y técnicas de la medicina alternativa. De esta forma, la medicina alternativa contribuye a la solución del problema de salud, así como aliviar la difícil adquisición y alto costo de medicamentos químicos, reemplazando a muchas de las antiguas y bien establecidas drogas vegetales ^(3,4).

La medicina tradicional ayuda en la búsqueda de alternativas terapéuticas; como por ejemplo la *Caesalpinia spinosa* (tara) cuyos estudios demuestran la existencia de actividad antibacteriana. ⁽⁵⁾

Los estudios demostraron importantes propiedades medicinales, así como en el caso del *Polypodium picnocarpum* c. (*calaguala*), que contiene calagualina con propiedades antivirales e inmunopresora usado en afecciones cutáneas y dermatológicas como la psoriasis. ⁽⁶⁾ Sin embargo, se sugiere seguir investigando más sobre estas plantas medicinales.

1.2. IDENTIFICACION Y FORMULACION DEL PROBLEMA

1.2.1. PROBLEMA GENERAL

¿Cuál es el efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) y del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) frente a cepas de *Escherichia coli*?

1.2.2. PROBLEMAS ESPECÍFICOS

1. ¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cepas de *Escherichia coli*?
2. ¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas de *Escherichia coli*?
3. ¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) y del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas de *Escherichia coli*?

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) y del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) frente a cepas de *Escherichia coli*.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cepas de *Escherichia coli*.
2. Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas de *Escherichia coli*.

3. Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) y del extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas de *Escherichia coli*.

1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El presente estudio permitió demostrar el uso tradicional del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) y el extracto Hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) frente a cepas de *Escherichia coli*, para dar una alternativa al problema de resistencia bacteriana y de esta manera la administración de remedios tradicionales podría mejorar el acceso a la atención de salud al ser usado en el sistema de salud, garantizando su control.

La creciente aparición de resistencia bacteriana trae como consecuencia que muchos de los antibióticos existentes pierdan su efecto terapéutico y con el aumento de las dosis ocasionan problemas relacionados con los medicamentos. Esto obliga a la población a encontrar nuevas alternativas de tratamiento en los productos naturales.

Este estudio buscó nuevas alternativas terapéuticas y utilizó una especie vegetal común en nuestro país. Frente a la pérdida de actividad de los medicamentos comunes esta investigación servirá de base para posteriores trabajos.

1.5. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

Las limitaciones de la presente investigación fueron principalmente la obtención de la cepa *Escherichia coli* y conseguir las muestras de estudio, calaguala que se consiguió del departamento de Junín y tara que se consiguió del departamento de Ancash. La compra del agar también fue una dificultad, ya que el producto no es muy comercial y tiene un costo elevado.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1 ANTECEDENTES NACIONALES

Mejía E. (2017), realizó un estudio experimental “Efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Escherichia coli*.” Trujillo. Objetivo: El propósito de este trabajo fue determinar el efecto sinérgico antibacteriano en placas de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *Eucalyptus globulus* sobre *Escherichia coli*. Metodología: mediante el uso de destilación se pudo obtener los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* y estos se expusieron a una cepa de *Escherichia coli*. Se prepararon varias concentraciones de estos aceites al 5%, 25%, 50%, 75%, 100% y se determinó con ellos la CMB. Luego, se comparó con ciprofloxacina. Resultados: se pudo observar que al 75% se demostró la CMB. Se halló además que todas las concentraciones tuvieron gran efectividad cepa de *E. coli*. Conclusión: los estudios demostraron que los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* tiene efecto bactericida sobre *Escherichia coli*.⁽⁷⁾

Méndez K. (2016), realizó un estudio experimental titulado “Efecto sinérgico *in vitro* de aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Escherichia coli*”. Objetivo: la finalidad de la investigación fue

demostrar el efecto sinérgico antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Escherichia coli*. Metodología: para recolectar los aceites se utilizó la destilación de arrastre de vapor de las plantas en estudio. Una cepa silvestre de *Escherichia coli* fue expuesta a estos aceites esenciales al 5%, 25%, 50%, 75%, 100% para obtener la concentración mínima bactericida (CMB) de los mismos. Posteriormente, se evaluó la interacción sinérgica de ambos aceites a concentraciones mínimas bactericidas mediante el método de difusión de discos modificado, utilizando a Ciprofloxacino como control positivo y a Tween 80 como control negativo. Resultados: la concentración máxima para los aceites esenciales estudiados estuvo alrededor de 75%, otras concentraciones también presentaron efecto sobre las cepas de estudio conclusión: se demostró que los aceites esenciales en estudio presentan actividad sinérgica sobre *Escherichia coli*.⁽⁸⁾

Apares R. (2016), realizó un estudio experimental titulado “Efecto Sinérgico Antimicrobiano de Aceite Esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina comparado con Amikacina en *Escherichia coli*, in Vitro. Objetivo: Con esta investigación he querido determinar el efecto sinérgico antimicrobiana de la asociación del aceite esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina, comparado con Amikacina sobre cepas de *Escherichia coli*. Metodología: Se realizó un estudio experimental cuantitativo donde se utilizó placas Petri conteniendo cepas de *Escherichia coli*, aceite esencial de orégano y Amikacina. Se aplicó el método de Kirby Bauer (discos de difusión) en 25 placas Petri. El grupo experimental fue tratado con aceite esencial de orégano y Amikacina. En el grupo control se utilizó Amikacina, luego se realizó la medición de los halos y se registraron los datos en la ficha de recolección de datos. Resultados: Se encontró los halos de inhibición para *Origanum Vulgare* de 30.8 mm y para Amikacina 30.0 mm, contra *Escherichia Coli*. Conclusiones: El aceite esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina tiene una diferencia entre ambos halos de inhibición de 0.8 mm. Encontrándose un valor levemente superior a favor de la combinación del aceite de *Origanum vulgare* y Amikacina, el cual no es significativo.⁽⁹⁾

Castro A. et al (2016), En su trabajo “composición química del aceite esencial de *Caesalpinia spinosa tara*” Objetivo: El propósito fue demostrar la actividad antioxidante y efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*. Metodología: una de las primeras acciones fue obtener el aceite esencial por arrastre de vapor y demostrar la composición, luego se evaluó frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668 la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana. Con la cromatografía de gases y espectrofotometría, se determinaron los componentes químicos. “La evaluación de la actividad antioxidante se realizó aplicando los métodos de 2,2–difetil-1-picrilhidracilo (DPPH) y del radical ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS⁺), determinándose que el IC₅₀ para los dos métodos fue > 200 µL/mL, utilizando como referente de captación para ambos trolox®, que presentó IC₅₀ 3,8 µg/mL)” Resultados: Sobre *Streptococcus mutans* concentraciones de alrededor de 100, 50 y 25%, dio positivo, formando halos de inhibición de 21, 18 y 16 mm. Ciprofloxacino, mostro un halo de 25 mm. Conclusiones: El aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* presenta una débil actividad antioxidante, y su actividad antibacteriana resultados significativos.⁽¹⁰⁾

Flores C. (2016), en su tesis experimental Efecto inhibidor del extracto etanólico de *caesalpinia spinosa (tara)* en comparación a hidróxido de calcio, paramonoclorofenol alcanforado y clorhexidina en gel al 2%, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. Objetivo: El propósito del estudio fue comparar sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara), y se pudo comparar con hidróxido de calcio, alcanforado, y clorhexidina al 2%,. Metodología: “Se empleó el método de difusión de disco. En el medio de cultivo Mueller Hinton, se sembraron *E. faecalis* y se agregaron los discos con el extracto y los controles, las placas se incubaron a 37°C, después de lo cual se realizó la medición de los halos de inhibición con una regla pie de rey a las 24 horas”. Resultados “La estadística utilizó la varianza y la prueba de Duncan para la comparación de los medicamentos con la concentración del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa (tara)* que presentó el mayor efecto inhibitorio”. Conclusiones: “El extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa*,

presenta igual efecto inhibitorio que la clorhexidina en gel al 2%, y un efecto significativamente mayor al del alcanforado e, hidróxido de calcio, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*".⁽¹¹⁾

Benites C. (2015), en su trabajo "Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre cepa de *Cándida albicans* ATCC 90028 Trujillo". Objetivo el propósito de la investigación fue evaluar la actividad antimicrobiano del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* frente a *Cándida albicans* ATCC 90028. Metodología: "Se llevó a cabo un estudio de tipo comparativo, longitudinal, prospectivo, experimental. La población estaba conformada por el conjunto de placas inoculadas con las cepas de *Cándida albicans*, aplicándoseles el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) observando su efecto antibacteriano para dichas cepas". Resultados: "En el presente trabajo se observó que el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) tuvo efecto inhibitorio in vitro frente a *Cándida albicans*, al utilizar las diferentes concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%), y este efecto se incrementa en relación directamente proporcional a las concentraciones utilizadas en el estudio, dando como CMI el 50%. Con respecto a los halos de inhibición, al medirlos según escala de Durafford, se logró obtener una sensibilidad media (++) en las concentraciones de 75% y 100% y una sensibilidad limite en las concentraciones de 25% y 50%." Conclusiones: "Se demuestra que el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) presenta efecto inhibitorio in vitro frente a cepas de *Cándida albicans* ATCC 90028, siendo la CMI del 50%".⁽¹²⁾

Centurión K. (2015), en su trabajo: "Efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* tara frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Objetivo: el propósito del presente estudio tuvo como objetivo demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa* (tara) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Metodología: "La muestra estuvo conformada por 64 observaciones, distribuidas en 4 grupos de 4 placas Petri cada uno, en cada placa se colocó el porcentaje de concentración de estudio, frente a tres controles: control positivo (Clorhexidina al 0.12%),

control negativo (Etanol) y un porcentaje de concentración similar (para comparación)". Resultados: "En una concentración de 30% del extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa (tara)* se vio un mayor halo de inhibición (34.5 mm)" Conclusiones: "El extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa (tara)* posee efecto antibacteriano *in vitro* sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 35668".⁽¹³⁾

Palomino K. (2014), en su trabajo de investigación "Efecto sinérgico *in vitro* entre el extracto etanólico de *solanum sessiliflorum (cocona)* y vancomicina sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina". Objetivo: demostrar en *Staphylococcus aureus* la sinergia del extracto etanólico de *Solanum sessiliflorum* en Vancomicina. Metodología: mediante el método de difusión de discos kirby Bauer se empleó para esta determinación. Conclusiones: después de determinar el tamaño de halo en los medios de cultivo con las cepas correspondientes, se pudo demostrar el efecto, los halos de inhibición midieron 26 mm, el cual es el mayor promedio de diámetro de inhibición (duraffourd) Resultados: la capas fueron sumamente sensibles a la concentración del extracto etanolico.⁽¹⁴⁾

Zárate M. (2014), En su trabajo "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 Objetivo: la finalidad del estudio fue demostrar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa (tara)* sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* aisladas del Hospital Regional Docente de Trujillo". Metodología: "En el estudio se tomaron 80 muestras de orina de pacientes con infección de vías urinarias por *Escherichia coli* y 80 muestras de adultos con faringo amigdalitis por *Streptococcus pyogenes*, se aplicó a las cepas aisladas el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa*, para observar el efecto antibacteriano *in vitro* para dichas cepas". Conclusiones: "Se demostró que el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa (tara)* comparado con amoxicilina presentó una alta sensibilidad, y comparado con Cotrimoxazol presentó el mismo efecto. Y 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” Resultados: “El extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) tiene efecto antibacteriano *in vitro* contra *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli*”.⁽¹⁵⁾

Huarino M. (2011), En su trabajo “Efecto Antibacteriano de *Caesalpinia Spinosa* (tara) Sobre Flora Saliva Mixta. Objetivo: “la finalidad de esta investigación fue ver el efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto alcohólico de la *Caesalpinia spinosa* (tara)” Metodología: se usó concentraciones de 6,25; 12,5; 25, 50 y 75 mg/mL aplicando método de difusión y se comparó con el antiséptico Clorhexidina 0.12 % y Alcohol 70°. Conclusiones: “Se demostró el efecto antibacteriano sobre flora mixta salival. Mediante el tamizaje fotoquímico demostró alta presencia de taninos, flavonoides, esteroides, triterpenos y saponinas”. Resultados: “Se concluye que se ha evidenciado el efecto antibacteriano sobre la flora mixta salival”.⁽¹⁶⁾

Añanca E. (2009), en su trabajo de investigación “Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*”. Objetivo El propósito de este estudio fue demostrar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara), Metodología: “En el ensayo se utilizaron cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* y soluciones a concentraciones de 17.5, 16.25, 15,13.75, 12.5, 11.25, 10, 8.75, 7.5, 6.25 Rg/ml”. Conclusiones: “Se demostró en la investigación que el extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) tienen la capacidad de disminuir el crecimiento de *S. aureus* y *S. pyogenes*”. Resultado: Los estudios demostraron que el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) tiene actividad antibacteriana “*in vitro*” contra *S. aureus* y *S. pyogenes*.⁽¹⁷⁾

Chávez L. (2008), en su trabajo de grado titulado “Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* a la Gentamicina en cultivos de *Escherichia coli*”. Objetivo: el estudio tuvo como propósito determinar el Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* a la Gentamicina en cepas de

Escherichia coli. Metodología se utilizó la técnica de discos de difusión de Kirby Bauer. Resultados: Los halos de inhibición del grupo Experimental resultaron 22,375 mm, mayores que los del grupo Control (20,75 mm). conclusiones: el aceite esencial de *Origanum vulgare* a la Gentamicina presenta actividad en cepas de *Escherichia coli*.⁽¹⁸⁾

Liu H. et al (2002), en su trabajo: “Evaluación de la Actividad Antibacteriana *in vitro* de los Extractos. Objetivo El propósito es determinar en *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebselia sp.* *Shigella flexneri* el extracto de *Caesalpinia spinosa* (tara) y *Eucalyptus sp.*(eucalipto). Metodología: se utilizó solvente acetona-alcohol y la técnica de difusión con disco. Conclusiones: Se observó actividad inhibitoria sobre cepas Gram positivas para el extracto de la vaina de tara más no para el de la semilla”. Resultado: Se comprobó la actividad antibacteriana del extracto de la vaina de tara.⁽¹⁹⁾

2.1.2 ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Haro A. (2015), en su “Estudio *in vitro* de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 100% e hipoclorito de sodio al 5,25% sobre el *Enterococcus faecalis*. Objetivo: Este estudio realizó *in vitro* una demostración de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de Tara 100% e hipoclorito de sodio 5,25% sobre el *E. faecalis*. Metodología: “Embeber sensidiscos con 50uL de cada solución y colocándolos en medios de cultivo Mueller Hilton previamente preparados con colonias jóvenes de *E. faecalis* ATCC 29212, incubando las muestras a 37°C de 24 a 72 horas”. Resultados “Obtenidos en halos inhibitorios demostraron que ambas soluciones fueron capaces de producir inhibición del crecimiento bacteriano; siendo durante las primeras 24 h el NaOCl 5,25% más efectivo en comparación con el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara).” Conclusiones: El extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 100% posee un efecto antimicrobiano mayor y prolongado en contraste con el NaOCl 5,25%, el cual presentó un efecto antibacteriano menor.⁽²⁰⁾

Winkelmann R. et al (2015), En su estudio: “Extracto de *Polypodium leucotomos* un informe sobre la eficacia clínica y la seguridad”. Objetivo: El propósito fue demostrar que varios extractos de *polipodium leucotomos* (PLE) aplicados tópicamente o tomados oralmente tienen varios efectos beneficiosos antioxidantes, fotoprotectores, antimutagénicos e inmunorreguladores. Metodología: Se incluyeron 19 estudios humanos y 6 estudios orales, se administró a dosis diarias que oscilaban entre 120 mg y 1080 mg. Resultados: El extracto de *Polypodium Leucotomos* es bien tolerado en todas las dosis administradas y asociados con un riesgo insignificante de efectos secundarios Conclusiones: PLE demostró eficacia clínica como antioxidantes. ⁽²¹⁾

Solivellas M. (2012), en su estudio “Extracto de *Polypodium leucotomos* de uso para prevenir y reducir el riesgo de enfermedades infecciosas en deportistas de alto rendimiento”. Objetivo: Este estudio evaluó la reducción de procesos infecciosos en atletas que usaron *Polypodium leucotomos*. Metodología; “El estudio comparó los atletas que tomaron 480 mg de Extracto *Polypodium leucotomos* (Armaya fuerte, Laboratorios Centrum, Alicante, España) dos veces al día durante 3 meses (n = 50) con un grupo control (n = 50) en la evaluación del inicio de procesos infecciosos y recaídas durante un período de 8 meses (junio de 2010 a enero de 2011)”. Resultados: “La aparición de procesos infecciosos en el grupo Extracto de *Polypodium leucotomos* fue menor en comparación con el grupo control (14% versus 56%). La recaída en el grupo Extracto *Polypodium leucotomos*, se observó en un solo atleta (14,2%) en comparación con diez atletas (37,5%) en el grupo control”. Conclusiones: Extracto *Polypodum leucotomos* ha demostrado ser útil en la prevención de procesos infecciosos, así como la reducción de episodios recurrentes en los atletas. ⁽²²⁾

Guevara T. (2011), en su trabajo de investigación “Elaboración y determinación de un gel para el acné”. Objetivo: fue determinar la eficacia in vivo de un gel para el acné a base de *calaguala* (*Campyloneurum amphostenon*). Metodología: Se realizó la extracción de los componentes activos de la planta seca mediante percolación y la cuantificación del

marcador químico se realizó mediante métodos espectrofotométricos obteniéndose resultados positivos. Resultados: El tratamiento de ocho semanas mediante controles semanales de conteo de granos y por simple visualización demostraron eficacia en comparación con el control OXY. Conclusiones: Existe una considerable mejoría en las personas con acné lo que afirma su eficacia terapéutica. ⁽²³⁾

Gudiel L. (2009), en su proyecto de investigación “Evaluación Fitoquímica y actividad antioxidante de *Polypodium triseriale* SW (calaguala)”. Objetivo: En su investigación determino el perfil antioxidante de la calaguala y metabolitos secundarios. Metodología: Se colectaron en los departamentos de Alta Verapaz. La extracción se realizó mediante percolación con etanol al 50% utilizando el rotavapor, se realizó el tamizaje fitoquímico mediante ensayos macro y semi-micro en cromatografía de capa fina (CCF) Resultados: “Se determinó la presencia de flavonoides y antocianinas, saponinas, principios amargos y cumarinas y flavonoides, la prueba estadística determinó que si existe diferencia significativa de la presencia de flavonoides entre rizoma y fronda del espécimen *P. triseriale* (calaguala) colectadas en ambas localidades, también determinó que no existe diferencia significativa entre los rizomas de ambas localidades”. Conclusiones: La investigación evidenció que si existe diferencia significativa en la composición química y actividad antioxidante entre rizoma y fronda del espécimen *P. triseriale* (calaguala) colectadas en las diferentes localidades. ⁽²⁴⁾

Sampaio F. (2009), En su trabajo “Acción antimicrobiana del fruto de *Caesalpinia ferrea* Martius”. Objetivo: determinar la acción antimicrobiana del fruto de tara en patógenos orales más comunes *Candida albicans*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S.oralis* y *Lactobacillus*. Metodología: fueron utilizados ampliamente como antimicrobiano para curar algunas infecciones orales. Resultados: “En este estudio se determinó la actividad antimicrobiana del extracto de la *C. ferrea* Martius contra los microorganismos patógenos orales más comunes. Los valores de la concentración mínima inhibitoria para *Candida albicans*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S.oralis* y *Lactobacillus casei* fueron de 25.0, 40.0, 66.0, 100.0, 66.0 µg/mL, respectivamente. Se utilizó la

clorhexidina como control positivo y solución salina como control negativo”. Conclusiones: El extracto de *C. ferrea Martius* inhibió el crecimiento *in vitro* de las bacterias patógenas orales. ⁽²⁵⁾

Eliades M. (2008), en su trabajo de investigación “Sinergismo entre ajoeno y ketoconazol en aislamientos de *Microsporum canis*. Un estudio preliminar mediante la determinación de la concentración inhibitoria fraccional (CIF)”. Objetivo: el propósito de la investigación fue demostrar en aislamientos de *Microsporum canis*, el efecto Sinergismo entre ajoeno y ketoconazol. Metodología: “Se usó la técnica de microdilución, siguiendo las recomendaciones descritas en el documento NCCLS M-38A con algunas modificaciones” Resultados: Las concentración inhibitoria fraccional obtenidos para cada una de las tres cepas estudiadas (valores de 0,18 - 0,36 μ M). Conclusiones: “Se demuestran la existencia de un efecto sinérgico muy potente cuando se combinan estas drogas, y configura un panorama muy prometedor para la realización de futuros estudios clínicos, donde se utilicen para el tratamiento de infecciones causadas por *M. canis*, tradicionalmente de difícil tratamiento”. ⁽²⁶⁾

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 *Caesalpinia spinosa* (tara)

2.2.1.1 Descripción botánica de la *Caesalpinia spinosa* (tara):

Es un árbol pequeño, de dos a tres metros de altura, de fuste corto, cilíndrico y a veces tortuoso, y su tronco está provisto de una corteza gris espinosa, con ramillas densamente pobladas. En muchos casos las ramas se inician desde la base dando la impresión de varios tallos. La copa de la tara es irregular, aparasolada y poco densa, con ramas ascendentes.

Sus hojas son en forma de plumas, ovoides y brillante ligeramente espinosa de color verde oscuro y miden 1.5 cm de largo.

Sus flores son de color amarillo rojizo, dispuestos en racimos de 8 cm a 15 cm de largo.

Sus frutos son vainas explanadas e indehiscentes de color naranja de 8 cm a 10 cm de largo y 2 cm de ancho aproximadamente, que contienen de 4 a 7 granos de semilla redondeada de 0.6 cm a 0.7 cm de diámetro, pero conforme madura va tomando tonalidades que van del amarillo al anaranjado- rojizo y de textura esponjosa.

Sus semillas son pequeñas, miden aproximadamente 0.8 cm de ancho por 1 cm de largo.

Inflorescencia con racimos terminales de 15 a 20 cm. de longitud de flores ubicadas en la mitad distal, flores hermafroditas, zigomorfas, cáliz irregular provisto de un sépalo muy largo de alrededor de 1 cm, con numerosos apéndices en el borde, cóncavo corola con pétalos libres de color amarillento, dispuestas en racimos de 8 a 20 cm de largo, con pedúnculos pubescentes de 56 cm de largo, articulado debajo de un cáliz corto y tubular de 6 cm de longitud; los pétalos son aproximadamente dos veces más grandes que los estambres.⁽²⁷⁾

Cada árbol de Tara puede rendir un promedio de 20 kg a 40 kg de vaina cosechándolos dos veces al año.

2.2.1.2 Distribución geográfica de *Caesalpinia spinosa*

La distribución natural de la tara en el Perú:

En la costa: En las colinas de suelo arcilloso o pedregoso, en la sección sur (Arequipa, parte de Ica) y en Lima (Cañete y Lima). En los Andes: En los andes occidentales del sur, en los valles de Corumas, de Cotahuasi, de Coracora y del río Lomas, entre una altura de 900 y 2000 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.). En las vertientes occidentales de los Andes de Perú central: En los valles del río Pisco, entre 800 y 2000 m.s.n.m., del río Rímac entre los 2400 y 2900 m.s.n.m. y en los Ocos entre 2300 y 2900 m.s.n.m.; en el Nepeña, entre 2000 y 2800 m.s.n.m. En el río Santa entre los 2000 y 2800 m.s.n.m. En los valles de Chuquicasa y sus originarios: Conchucos, Pampas, Santiago de Chucos entre 1550 y 2800 m.s.n.m. En el flanco izquierdo de los valles del Apurímac con límite superior de 3150 m.s.n.m. En los valles del Mantaro, la tara caracteriza las laderas desde Ayacucho hasta el río

Pongora, con alturas desde los 6 30' de latitud sur, se le encuentra entre los 2500 y 2900 m.s.n.m.⁽²⁷⁾

En los valles del Campoden, Salahual, Sunchubamba, del sistema de río Chicama; en el sistema del río Jequetepeque entre los 1800 y 2800 m.s.n.m. En las vertientes occidentales del extremo norte y los valles interandinos del mismo se encuentra la “tara” entre los 2000 y 2500 m.s.n.m. Sobre Olmos en las vertientes entre 1300 y 2200 m.s.n.m. En Querecotillo y Cutervo entre 1700 y 2200 m.s.n.m. Según Filomeno E. C., la tara se distribuye en los departamentos de Ancash, Apurímac, Ayacucho, Cuzco, Huánuco, Junín, Moquegua, Tacna y Lima.⁽²⁷⁾

2.2.1.3 Hábitat

La tara crece en los climas secos, cálidos y subcálidos de la costa, en la vertiente occidental de los andes y valles interandinos. La tara es una especie muy plástica en clima y suelo. No es exigente en suelos, se desarrolla por su sistema radicular circular, que le permite afrontar la sequedad del suelo, crece bien en suelos francos, franco-arenosos y pedregosos, con pH ligeramente ácido a medianamente alcalino (pH 6 – 7.5). Es frecuente encontrarla en suelos lateríticos muy erosionados. No tolera suelos alcinos ni soporta heladas.⁽²⁷⁾

2.2.1.4 Ubicación taxonómica

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

Taxonomía

División: MAGNOLIOPHYTA

Clase: MAGNOLIOPSIDA

Subclase: ROSIDAE

Orden: FABALES

Familia: FABACEAE

Género: *Caesalpinia*

Especie: *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze.

Nombre Vulgar: “Tara”

2.2.1.5 Composición química de la tara

Hojas: Contiene glicósidos, gomas, mucílagos, taninos (12.7% en la forma de taninos gálicos), antraquinonas: reína, sennósido, agliconas libres, C-glicósidos, aloe-emodina e iso-emodina, esteroides y flavonoides. Vainas: Contiene taninos hidrolizables (galotaninos) en un rango de 40% a 60% según las condiciones ecológicas en las que vegeta, la hidrólisis de estos taninos conduce a la separación del ácido gálico; asimismo se han aislado galato de etilo y cuatro galatos del ácido quínico 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.

Semillas: Del endospermo se ha separado la goma o hidocoloide galactomanánico en la que los componentes manométricas galactosa y manosa. ⁽²⁷⁾

2.2.1.6 Taninos

Los taninos son polímeros polifenólicos producidos en las plantas como compuestos secundarios y que tienen la habilidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas desempeñando en las plantas una acción defensiva frente a los insectos. Son astringentes (precipitan las proteínas) y curten la piel. Debemos mencionar que la astringencia se explica al unirse los taninos con macromoléculas y provocar la precipitación de las glicoproteínas ricas en prolina que contiene la saliva.

Químicamente se diferencian los taninos hidrolizables o hidrosolubles (pirogálicos: se hidrolizan en ácidos fenólicos y azúcares) y los taninos condensados no hidrosolubles (taninos catéquicos y los leucoantocianos; son polímeros muy difíciles de hidrolizar; los más ampliamente distribuidos en las plantas). Los taninos se presentan en especies de familias vegetales de todo el mundo, se han identificado aproximadamente 500 especies de plantas que contienen varias cantidades de taninos, entre las principales familias botánicas con

importancia en la obtención de taninos se pueden citar a las siguientes: Leguminosae, Rosaceae, Polygonaceae, Fagaceae, Rhyzophoraceae y Myrtaceae. Son polvos amorfos de color amarillento, aspecto grasiento, poco denso, solubles en agua y alcohol, e insolubles en éter, benceno y cloroformo; cuando se calientan a 210 °C se descomponen produciendo dióxido de carbono y pirogalol.

Es indudable la importancia que los taninos vegetales han adquirido a través de los años, conforme se ha profundizado su conocimiento y encontrado aplicaciones tan variadas. Quizás la aplicación más antigua es en la industria del cuero, para el proceso del curtido, aprovechando su capacidad de precipitar proteínas; ésta propiedad fue también aplicada en los tejidos vivos, constituyendo la base para su acción terapéutica, empleándolos en medicina, en tratamientos del tracto gastrointestinal y para las excoiraciones y quemaduras de la piel. En este último caso las proteínas forman una capa protectora antiséptica bajo la cual se regeneran los tejidos. También se prescriben como astringentes. Externamente, los preparados a base de drogas ricas en taninos, como las decocciones, se emplean para detener pequeñas hemorragias locales; en inflamaciones de la cavidad bucal, catarros, bronquitis, quemaduras, hemorroides, etc. Internamente, son útiles contra la diarrea, enfriamiento intestinal, afecciones vesiculares, y como contraveneno en caso de intoxicación por alcaloides vegetales. En los últimos años, en los que ha sido posible el aislamiento y determinación estructural de muchos de estos taninos, ha aumentado la investigación de sus actividades biológicas en base a las diferencias estructurales presentes. Desde el punto de vista biológico los taninos son sustancias complejas producidas por las especies vegetales que cumplen funciones antisépticas o de conservación.⁽²⁷⁾

Características

- Compuestos químicos no cristalizables cuyas soluciones acuosas son coloidales, de reacción ácida y sabor astringente.
- Precipitan con gelatina, albúmina y alcaloides en solución.
- Con sales férricas dan coloraciones negro azuladas o verdosas.

- Producen un color rojo intenso con ferricianuro de potasio y amoníaco.
- Precipitan a las proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a las enzimas proteolíticas. Ésta propiedad, denominada astringencia, fue mencionada anteriormente. ⁽²⁷⁾

Actividad terapéutica

Las acciones farmacológicas de los taninos están relacionadas con sus principales propiedades. Sus principales usos son:

- a) Antídotos en intoxicaciones por metales pesados y alcaloides.
- b) Astringentes, debido a su capacidad para precipitar proteínas de la piel (curtido de la piel), proteínas salivares, etc. Por su propiedad astringente se usa por vía externa como cicatrizantes y por vía interna antidiarreicos.
- c) Antisépticos, tienen una acción bactericida y bacteriostática. También ejercen un efecto antifúngico.
- d) Protectores, los taninos aplicados en forma de pomada de uso externo impermeabilizan la piel y la protegen de los agentes externos.
- e) Antioxidante, son capaces de captar radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica. Inhiben la auto oxidación del ácido ascórbico (Vitamina C).
- f) Hipocolesterolémicos, disminuyen los niveles de colesterol en sangre y aumentan su metabolismo.
- g) Antinutrientes, ciertos taninos disminuyen la eficacia de los alimentos porque inhiben las enzimas endógenas o porque se absorben y ejercen un efecto sistémico de precipitación de las proteínas de la dieta. ⁽²⁷⁾

Clasificación

En los vegetales superiores se distinguen, generalmente, dos grupos diferentes de taninos tanto por su estructura como por su origen biogenética: taninos hidrolizables y taninos condensados.

- **Taninos hidrolizables o pirogálicos**

Son oligo poliésteres de un azúcar (en general glucosa o de un poliol relacionado) y de un número variable de moléculas de ácido fenol (ácido gálico o su dímero, el ácido elágico). Los taninos hidrolizables son característicos de Dicotiledóneas.

Cuando se destilan en seco producen pirogalol. Al tratar los taninos hidrolizables con cloruro férrico (FeCl_3) aparece una coloración azul. Se hidrolizan con facilidad por la acción de los ácidos, bases o enzimas, en un azúcar, un polialcohol y un ácido fenolcarboxílico. Dependiendo del tipo de ácido que produce por la reacción se subdividen en: galotaninos (ácido gálico) y elagitaninos (ácido elágico o dilactona estable del ácido hexahidroxidifénico). Los núcleos bencénicos están unidos por medio de átomos de oxígeno. Como ejemplos de taninos hidrolizables, del subgrupo de galotaninos podemos mencionar al que se obtiene de los frutos de *C. spinosa*. Este tanino es fácilmente hidrolizable por la acción de la enzima tanasa. Esto permitió asignar la estructura de un éster poligaloílo del ácido quínico a dicho tanino, con un peso molecular aproximado de 800.7 ⁽²⁷⁾

- **Taninos Condensados**

Los taninos condensados son dímeros o polímeros flavánicos con uniones carbono – carbono entre las diferentes unidades de flavan-3-ol. Se forman por polimerización de catequinas y leucoantocianos. Además de encontrarse en Dicotiledóneas se producen en helechos y Gimnospermas. Son muy resistentes a la hidrólisis. Solo resultan afectados por hidrólisis ácida o enzimática y se convierten en antocianidinas, los cuales pueden polimerizar para formar los flobáfenos insolubles.

Por destilación seca se producen catecol (1,2-dihidroxibenceno). Por este motivo, reciben también el nombre de taninos catequices. Al tratar los taninos condensados con cloruro férrico (FeCl_3) aparece una coloración verde. Los taninos condensados se encuentran 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. ⁽²⁷⁾

2.2.1.7 Flavonoides

Los flavonoides proceden del metabolismo secundario de los vegetales de la ruta del ácido shikímico y la ruta de los policetidos. Los flavonoides están ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores y se encuentran prácticamente en todas las plantas superiores, sobre todo, en partes aéreas: hojas, flores y frutos. Algunos flavonoides son responsables del color amarillo de ciertas flores.

Características de los flavonoides

Son estructuras del tipo $C_6-C_3-C_6$, con dos anillos aromáticos (bencénicos) unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos ciclada a través de un oxígeno. Son estructuras hidroxiladas (OH) en el anillo aromático por lo tanto son polifenólicas.

Actividad terapéutica de los flavonoides

Las diferentes especies que contienen flavonoides poseen acciones Farmacológicas muy variadas.

- a. Acción vitamina P (factor antiescorbútico)
- b. Antihemorrágicos
- c. Antirrítmicos
- d. Protectores de la pared vascular o capilar
- e. Antiinflamatorios
- f. Antirradicales libres
- g. Antihepatóxicos
- h. Antibacterianos, antivíricos y antifúngicos
- i. Diuréticos y antiurémicos
- j. Antiespasmódicos

Clasificación de los flavonoides

Los flavonoides se clasifican en base a sus variaciones estructurales.

1. Con doble enlace entre las posiciones 2 y 3 :flavonas
2. Con doble enlace OH en 3 :Flavonoles
3. Sin doble enlace entre las posiciones 2 y 3: flavanonas
4. Con el anillo C abierto: chalconas
5. Con el anillo B en la posición 3: isoflavonoides
6. Con el anillo B en la posición 4: neoflavonoides
7. Antocianinas
8. Auronas

Existen también dímeros de flavonoides denominados diflavonoides.

2.2.2 *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala)

2.2.2.1 Descripción botánica

Se trata de un helecho perenne epífito (rara vez terrestre), perteneciente a la familia de las Polipodiáceas, caracterizado por presentar un rizoma rastrero cilíndrico y densamente escamoso, de 8-15 mm. de grosor, cubierto de una pilosidad marrón-amarillenta; hojas ovadooblongas, verde brillantes (la mayoría de las veces), amarillentas o azul-verdosas, de 30-120 cm de largo por 18-50 cm de ancho, divididas en varios segmentos lanciformes, oblongos de 10-30 cm de largo por 2-5 cm de ancho. Al pertenecer al grupo de plantas primitivas, no posee floración. Nota: Con el nombre de calahuala se conoce varias especies de *Polypodium*, tal es el caso de *Polypodium aureum* L. (*Phlebodium aureum* L.) o *Polypodium decumanum* Willd, entre las cuales existen mínimas diferencias desde el punto de vista botánico. ⁽²⁸⁾

Posee efectos depurativo de uso general que beneficia mucho al intervenir en los problemas de la piel, acné, dermatitis, eczema y en la psoriasis siendo esta actividad terapéutica junto con la acción antitumoral las fuentes inspiradoras de su estudio e investigación científica. La calaguala posee la

propiedad de incrementar las células T. supresoras sin alterar las células T. Hélder, lo que contribuye a normalizar el equilibrio orgánico en procesos autoinmunes o en enfermedades que cursan con inmunodeficiencia. ⁽²⁸⁾

2.2.2.2 Hábitat

La *calaguala* es oriunda de Centroamérica; extendiéndose desde México hasta Sudamérica (Bolivia y Brasil). Crece silvestre en sitios sombreados y húmedos, sobre troncos de palmeras, árboles de encino, en el suelo o sobre rocas cubiertas de musgo, en una altitud comprendida entre los 1.200-2.200 metros s.n.m.

Esta especie es muy diversa con respecto a los demás polipodios que trae Linneo en su *Species plantarum*. Se cree que esta planta es originaria del Perú y que se extiende por todos los bosques húmedos de Sudamérica es conocida con el nombre común de “Hierba de lagarto” debido a que el rizoma que crece sobre los troncos de los árboles adopta la forma de este animal. ⁽²⁸⁾

2.2.2.3 Ubicación taxonómica

Division: Pteridophyta

Clase: Polypodiopsida/Pteridopsida (disputado)

Subfamilia: Polypodioideae

Orden: Polypodiales

Familia: Polypodiaceae

Género: *Campyloneurum*

Especie: *Polypodium Picnocarpum* C (Sw.) FÉE

Nombre vulgar: “calaguala”

2.2.2.4 Historia

Estos helechos tienen una larga tradición de uso, especialmente en Honduras y Guatemala donde se cultivan. El nombre calaguala es una voz quechua que significa «adorno juvenil» en alusión a un probable uso ornamental por parte de los jóvenes indígenas cuando iban a bailar o danzar ceremonialmente. Una de las primeras descripciones correspondió a

Polypodium decumanum, la cual fue descrita por Willd en 1810. En 1967 Horvath y col. lograron aislar del rizoma de *P.leucotomos* un heterósido al cual denominaron calagualina (posteriormente se le dio el nombre de anapsos).⁽²⁸⁾

2.2.2.5 Parte utilizada

Rizoma (principalmente) y hojas (secundariamente). El rizoma tiene un sabor muy dulce (por la presencia de osladina), ligeramente agrio, y sin aroma.⁽²⁸⁾

2.2.2.6 Composición química

(Del rizoma)

Esteroides: ecdisterona, ecdisonas (una de ellas conocida como polipodoaureína). La α - ecdisona es un esteroide aislado inicialmente en palomillas de gusanos de seda. Saponinas: calagualina (heterósido compuesto por glucosa fructosa y una aglicona triterpénica), polipodinas A y B. Otros: mucílago (desoxihexosa), oleorresina, nitrato de potasio, osladina y almidón.⁽²⁸⁾

2.2.2.7 Acciones farmacológicas

Los rizomas han mostrado propiedad anti inflamatoria e insumo reguladora. Se ha comprobado su eficacia en el tratamiento de la presión alta, afecciones renales y artritis reumatoidea, ya que ayuda a eliminar las impurezas, a través de la orina. Además se consideran un laxante suave, que ayuda a resolver problemas de estreñimiento. Ayuda a bajar la fiebre en enfermedades eruptivas, a descongestionar los bronquios de flemas y reducir el dolor de pecho.⁽²⁸⁾

Dentro de la cultura ancestral la calaguala es usada por los nativos como un excelente remedio para los tumores malignos tomada en infusión, también se le atribuye actividad colagoga, laxante, debido a estos beneficios es utilizada en trastornos digestivos (dispepsia biliar, insuficiencia hepática y estreñimiento moderado), es recomendado por su gran efectividad para la eliminación de los parásitos intestinales.

Los estudios realizados con respecto a esta especie se ha llevado a cabo en las últimas décadas aun estando pendiente de completarse. Se constituye en un depurativo de uso general que beneficia mucho al intervenir en los problemas de la piel, acné, dermatitis, eczema y en la psoriasis siendo esta actividad terapéutica junto con la acción antitumoral las fuentes inspiradoras de su estudio e investigación científica. La calaguala posee la propiedad de incrementar las células T. supresoras sin alterar las células T. Hélder, lo que contribuye a normalizar el equilibrio orgánico en procesos autoinmunes o en enfermedades que cursan con inmunodeficiencia. ⁽²⁹⁾

El conocimiento del comportamiento del sistema inmunológico en procesos tales como artritis reumatóidea, vitíligo, psoriasis, esclerosis múltiple o esclerodermia, ha puesto en foco el papel que juegan en el curso de dichos procesos los linfocitos, linfoquinas y demás componentes inmunológicos. El rizoma de calaguala, por medio de una actividad incrementadora de los linfocitos T supresores, parece atenuar el curso de enfermedades inmunológicas de manera favorable. Para una mejor comprensión se dividirá los ensayos biológicos realizados de acuerdo al área estudiada. ⁽²⁹⁾

Actividad Inmunológica La estomatitis aftosa recidivante es un proceso que afecta a tejidos mucosos en ocasiones de una alteración o disminución de la inmunidad. En estos casos se ha observado en la fase pre ulcerosa un notable incremento en la población linfocitaria OKT-4 en una proporción 2/1 frente a las OKT-8.

Cuando ocurre la fase ulcerativa la relación linfocitaria OKT-4/OKT-8 se invierte a 1/10. Durante el proceso de resolución, la relación vuelve a invertirse transformándose en 10/1. Al respecto, la calagualina demostró en ensayos in vitro incrementar el número de linfocitos OKT-8, sin alterar la producción de OKT-4 y OKT-3. ⁽³⁰⁾

En un estudio clínico realizado sobre 20 pacientes con estomatitis aftosa recidivante los extractos de calaguala demostraron detener el proceso en la etapa pre ulcerativa. Por otra parte, el extracto acuoso del rizoma de

calaguala evidenció prolongar la supervivencia de aloinjertos cutáneos en ratones, al retrasar en varios días los cambios histológicos a nivel epitelial y conectivo referidos al rechazo de injertos. En un estudio sobre fenotipos celulares en sangre periférica de individuos sanos, la administración de Anapsos® (extracto acuoso obtenido del rizoma de calaguala) ejerce un efecto estimulante en la proliferación y/o activación de linfocitos T y en las células Natural Killers (NK).⁽³⁰⁾

Este resultado ayuda a comprender la probable actividad antitumoral y antiviral del producto tanto *in vitro* como *in vivo*. En otro estudio, el producto Anapsos® demostró poseer *in vitro*, un efecto modulador en la producción y en la liberación de citoquinas sobre las células mononucleares de individuos sanos. Por un lado evidenció un efecto inhibitorio sobre monocitos (principales células secretoras de interleukina 1 α) y por el otro demostró estimular a diversos clones de linfocitos T y probablemente IL-2, IL-10, para que produzcan y/o secreten sus respectivas citoquinas.⁽³⁰⁾

A nivel experimental se pudo observar que el producto exhibe una actividad antiangiogénica *in vivo* sobre ratas, a la vez que estimula la proliferación y activación de linfocitos natural killer junto a una inhibición en la producción de TNF- α e IL-6. Actividad Antitumoral A partir del aislamiento del heterósido calagualina (conocido como anapsos) y su constatación *in vitro* y en humanos de su actividad inhibitoria frente a una amplia gama de tumores, comenzó a despertar gran interés científico esta especie: En principio dicha sustancia demostró reducir la incorporación de nucleoproteínas y precursores en cultivos de tejidos tumorales por un mecanismo anabolizante opuesto a la acción de los citostáticos.⁽³⁰⁾

Ya en la década del '60 se habían publicado unos pocos casos de remisión de leucemias linfáticas a partir del empleo de tisanas con calaguala. Fue así que el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos inició los primeros ensayos con el rizoma de calaguala en diferentes tipos de tumores, los cuales no arrojaron resultados positivos. Tampoco en los laboratorios Merck se lograron resultados satisfactorios. No obstante la comprensión de

mecanismos inmunitarios puesto de manifiesto en años posteriores (ver ítem anterior) por la acción de esta especie, pueden abrir la puerta a nuevas investigaciones en este campo ⁽³⁰⁾

Área Dermatológica: En varios estudios randomizados, a doble ciego versus placebo, el extracto del rizoma de calaguala (Anapsos®) administrado por vía oral en dosis que variaron entre 80-720 mg/día, evidenció a lo largo de seis meses de tratamiento mejorar el curso clínico-estético de pacientes con psoriasis respecto a tratamientos convencionales. Cuando se administran extractos acuosos de *P. leucotomos* se observa un incremento del número de células CD8+ (linfocitos supresores/citotóxicos) en sangre periférica. Estos cambios, observados en pacientes psoriásicos, podían explicar la mejoría clínica evidenciada en esos casos. ^(29, 30)

Ensayos clínicos realizados a partir de la administración de Anapsos® (extractos del rizoma de calaguala) en forma oral, a razón de cinco cápsulas diarias sobre 36 pacientes portadores de psoriasis, demostraron que el producto produce una regulación del cociente CD4/CD8, así como de las catequinas alteradas (INF- α e IL-1 β), en particular en la psoriasis vulgar, psoriasis palmo-plantar y psoriasis invertida, procesos en los cuales estos factores juegan un papel inflamatorio/proliferativo muy acentuado. A su vez, el producto normalizó la maduración de los queratinocitos hiperactivados. En otro orden de cosas, la administración tanto oral y tópica de un producto que contiene extractos del rizoma de calaguala demostró una inducción melanocítica en pacientes portadores de vitíligo. ^(29, 30)

Por otra parte, la administración oral y tópica de extractos del rizoma de calaguala demostró en 21 voluntarios con vitíligo tomadores de 8-MOP prevenir quemaduras agudas y fototoxicidad inducidas por ese psoraleno, a la vez que evidenció disminuir células de Langerhans en piel humana. Ello indica que la administración conjunta de calaguala con tratamiento PUVA (Psoralen + Ultra Violeta - A) logra efectos protectores frente a una probable fototoxicidad yatrogénica en este tipo de tratamientos. Estudios *in vitro* sobre

cultivos de queratinocitos y fibroblastos humanos demostraron que los extractos de calaguala.

Los efectos principales de la calaguala están dotados de acción antivírica e inmuno supresora debido a su composición (EDIOL) inhibiendo la acción del factor de agregación plaquetario postula que la transcripción nuclear del factor-kB activado por (NF-kB) es bloqueado por calagualina. NF-kB, un factor de transcripción nuclear, fue identificado por primera vez en 1986 por Sen y Baltimore.

Una amplia investigación durante los últimos años ha indicado que este factor regula la expresión de varios genes que juegan un papel crítico en la inflamación, la replicación viral, la proliferación celular, tumorigénesis, y la inmunomodulación. Estas junto con otras evidencias dentro de la línea de investigación de la actividad sobre el sistema inmune, han hecho que esta planta actualmente se la utilice en el tratamiento de la psoriasis, cáncer y dermatosis atópicas. El efecto antitumoral tiene relación con la actividad de la calagualina (saponina). En los estudios experimentales se ha demostrado que esta planta favorece la síntesis de colágeno. ⁽³⁰⁾

Además esta especie presenta acción antiespasmódica y tranquilizante constituyéndose en la receta tradicional para ingerir después de los sobresaltos.

Otros autores también han mencionado que la planta posee actividad febrífuga, expectorante y diaforética. Cuando se la emplea para el tratamiento de la psoriasis es pertinente mencionar que pueden aparecer cuadros graves y que la dosificación de esta planta requiere un ajuste individual. Por último cabe mencionar que en el mercado existen especialidades farmacéuticas elaboradas a partir del extracto de esta planta.

⁽³⁰⁾

2.2.2.8 Principios activos

- Saponinas, calagualina formada por un cetosteroide.
- Aceite esencial.
- Ácido málico.
- Mucílagos.
- Taninos.
- Resinas.
- Minerales, hierro, potasio y calcio.
- Azúcares.
- Pentosas.
- Colorante amarillo.
- Fermentos amilolíticos.
- Almidón.

2.2.3 EXTRACTOS

2.2.3.1 Definición de extractos

El extracto es una mezcla de sustancias, esencias o principio activos obtenidos mediante métodos fitoquímicos a partir de un vegetal o animal, haciendo uso de instrumentos apropiados o solventes orgánicos como el agua, éter, entre otros para la separación del mismo, mediante técnicas como maceración, per coloración e infusión. ⁽³¹⁾

2.2.3.2 Obtención de extractos

- a. Maceración:** proceso solido - líquido que consisten en la obtención de sustancias a partir de un vegetal; en un recipiente opaco con un disolvente líquido, dejándole reposar el tiempo optimo a temperatura ambiente en un lugar fresco y oscuro, luego se tamiza y la parte líquida es donde se encuentran los principales analitos o esencia. ⁽³²⁾
- b. Percolación:** el extracto fluido es un extracto hidro-alcohólico cuya metodología es la percolación que consiste en empacar la droga vegetal previamente humectada en un percolador en la cual contiene

un regulador para controlar el goteo. Se dice que por cada gramo de droga vegetal se obtiene 1 ml de extracto alcohólico. ⁽³³⁾

- c. **Infusión:** la droga se extrae con agua caliente, pero sin someterla a ebullición o con agua fría. ⁽³⁴⁾

2.2.4 ESCHERICHIA COLI

Escherichia coli se describió por primera vez en 1885 por el pediatra alemán Theodore Escherich. Fue nombrada inicialmente como “*Bacterium coli commune*”, pero en 1919 fue renombrada con el nombre actual en honor a su descubridor (Kaper, 2005). ⁽³⁵⁾

Los representantes de esta especie son bacilos gramnegativos, oxidasa negativos, con un tamaño promedio de 1,1-1,5 µm de ancho y 2,0-6,0 µm de largo. De acuerdo a sus requerimientos de oxígeno son anaerobios facultativos y pueden ser móviles por la presencia de flagelos peritricos o no móviles (Scheutz y Strockbine, 2005). ⁽³⁵⁾

Desde el punto de vista taxonómico su clasificación es la siguiente:

Phyllis Proteobacteria

Clase Gammaproteobacteria

Orden Enterobacteriales

Familia Enterobacteriaceae

Género *Escherichia*

Especie *Escherichia coli* (Scheutz, 2005) ⁽³⁶⁾

E. coli es una bacteria que se encuentra normalmente en el tracto gastrointestinal de los seres humanos y animales de sangre caliente. “Debido a su elevada presencia en el tracto gastrointestinal y en las heces, la *E. coli* se utiliza como el indicador principal de contaminación fecal en la evaluación de la inocuidad de los alimentos y el agua, La mayoría de las *E. coli* son organismos comensales inofensivos cuando se encuentran en su hábitat intestinal natural”. Diferentes cepas de *E. coli* son patógenos gastrointestinales graves para los seres humanos, y algunas también son patógenos para animales jóvenes destinados a la producción de alimentos. Las *E. coli* patógenas se distingue de otras *E. coli* por su capacidad de

provocar enfermedades mediante mecanismos genéticamente controlados, como la producción de toxinas, la adhesión e invasión de células huéspedes, la interferencia con el metabolismo celular y la destrucción de tejidos. “La *E. coli* tiene la capacidad de intercambiar material genético por medio de elementos genéticos móviles, tales como plásmidos y bacteriófagos, como respuesta de adaptación a entornos nuevos y adversos y se cree que estos elementos genéticos contribuyen a la aparición de agentes patógenos con mayor virulencia, supervivencia ambiental y persistencia en los sistemas alimentarios”.⁽³⁷⁾

Las bacterias *E. coli* patógenas se dividen en seis grupos o variedades, según los mecanismos comunes de patogenicidad y síndromes clínicos: *E. coli* Shigatoxigénica (STEC) o *E. coli* verotoxigénica (ECVT), *E. coli* enterohemorrágica (ECEH), *E. coli* entero toxigénica (ECET), *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enteroagregativa (ECEA), y *E. coli* de adherencia difusa (ECAD). Las características de las variedades no son exclusivas y pueden ser compartidas por más de un grupo. En general, el período de incubación de la enfermedad de *E. coli* en los seres humanos oscila entre tres y ocho días, con la aparición de una variedad de síntomas gastrointestinales que van desde la diarrea leve hasta la diarrea sanguinolenta, la mayoría de las veces sin fiebre. Las personas y los animales infectados (con síntomas o sin ellos) pueden diseminar hasta 10⁶ a 10⁹ unidades formadoras de colonias (ufc) por gramo de heces.⁽³⁷⁾

Las siguientes son las principales características y diferencias entre las seis variedades. La STEC o ECVT provoca síntomas que van desde una diarrea suave hasta una diarrea sanguinolenta grave. La STEC produce citotoxinas denominadas verotoxinas (VT) o toxinas Shiga (Stx) (debido a su semejanza con la toxina producida por *Shigella* disentería). Hasta en un 10 por ciento de los casos, la infección puede transformarse en una enfermedad con riesgo vital como el SUH, particularmente en pacientes jóvenes y ancianos. La ECEH es un subconjunto de la STEC que se asocia generalmente a diarrea sanguinolenta y el SUH. La ECEH y la ECEP producen cambios en la célula

del epitelio intestinal denominados lesiones adherentes y destructoras (attaching y effacing).⁽³⁷⁾

Animales sanos como los bovinos, las ovejas, las cabras y los animales silvestres son portadores asintomáticos de la STEC y la ECEH. La ECET provoca normalmente diarrea acuosa en los niños y en los viajeros a zonas del mundo con deficientes condiciones de sanidad e higiene. La ECET se adhiere al intestino delgado mediante antígenos del factor de colonización y produce enterotoxinas semejantes a la toxina producida por el *Vibrio cholerae*, que son toxinas termoestables (ST) mediadas por plásmido o bien toxinas termolábiles (LT) mediadas por cromosomas. Estas enterotoxinas y sus respectivas variantes provocan una alteración del balance de cloruro de sodio en el intestino que da lugar a una intensa diarrea acuosa.⁽³⁷⁾

La ECEI penetra y se difunde entre las células intestinales, destruyéndolas y provocando una diarrea sanguinolenta similar a la disentería. La ECEP provoca una intensa diarrea acuosa y a veces sanguinolenta, particularmente entre los niños en los países en desarrollo. La ECEP se adhiere al epitelio intestinal alterando la función celular. La patología se asocia con la producción de lesiones adherentes y destructoras semejantes a las de la ECEH. La ECEP se diferencia de la STEC porque no produce Stx. La ECEA provoca diarreas acuosas y mucosas agudas y persistentes en los niños de corta edad. La ECEA se adhiere en la superficie celular formando una estructura agregativa característica. Una toxina termoestable enterotoxina agregativa codificada en plásmidos (EAST1) puede contribuir a los síntomas diarreicos. La ECAD tiene un perfil menos claro y provoca diarrea en niños de mayor edad. La ECAD se diferencia de la ECEA por su adherencia difusa a la superficie celular. Se reconoce que los rumiantes, principalmente el ganado bovino y los animales silvestres, son el principal reservorio natural de STEC, particularmente del serotipo ECEH O104:H4.⁽³⁷⁾ Los cerdos y aves no se consideran fuentes principales de infección por STEC en seres humanos en Europa. Normalmente se recurre a la identificación de tipos séricos mediante antisueros contra antígenos somáticos (O), flagelares (H) y capsulares (K) para diferenciar las cepas de

E. coli; ahora existen centenares de tipos de antígenos. Algunas variedades pertenecen a determinados serotipos, aunque no siempre de manera exclusiva. Existen combinaciones de variedades y/o serotipos asociados con mayor frecuencia a enfermedades transmitidas por los alimentos, como la ECEH perteneciente al serotipo O104:H4. Como no todas las cepas representan un riesgo para la salud pública, es importante distinguir los tipos patógenos basándose en la variedad y el serotipo. ⁽³⁷⁾

Los seres humanos “pueden contraer una infección con cepas patógenas mediante el consumo de alimentos y agua directamente contaminados con heces o contaminados como consecuencia de la contaminación cruzada con otras fuentes alimentarias, existe la posibilidad de contaminación a partir del contacto humano directo durante la preparación de los alimentos”. La epidemiología de *E. coli* patógena transmitida por los alimentos varía a través del mundo. ⁽³⁷⁾

En comunidades con condiciones de higiene y saneamiento deficientes, las ECET, ECEI y ECEP son prevalentes. Sin embargo, la *E. Coli* patógena transmitida por los alimentos también ha aparecido en comunidades con sistemas de higiene y saneamiento mejor organizados. “Los alimentos también pueden resultar contaminados de manera directa o por contaminación cruzada durante el crecimiento y la cosecha (hortalizas), la recolección (leche) o el sacrificio de animales y el faenado de la canal (carne), también se pueden contaminar durante la manipulación posterior a la cosecha, el transporte, la elaboración y la preparación”. ⁽³⁷⁾

La carne fresca y la leche cruda se consideran los vehículos comunes de la *E. coli*, especialmente de la cepa de ECEH O157:H7. La contaminación de la carne suele producirse durante el sacrificio del animal y el faenado del camal, como consecuencia de deficientes prácticas de higiene e inadecuadas normas higiénicas en los mataderos. De particular importancia son las fases de extracción de la piel, extracción de las vísceras y manipulación después del faenado, porque, de no controlarse debidamente, probablemente ocasionen la contaminación de la carne por las heces del

animal. “Las hortalizas frescas pueden resultar contaminadas por la *E. coli* por medio de las heces de los animales y los seres humanos, que pueden ingresar en los agro ecosistemas a través del estiércol inadecuadamente preparado, el uso de aguas grises y residuales no tratadas para el riego, la utilización de semillas contaminadas, las plagas de insectos y animales silvestres y los nematodos”. Los productos frescos contaminados que se consumen crudos han pasado a ser una fuente emergente de infección humana por *E. coli*. La *E. coli* puede sobrevivir en suelos contaminados hasta por 20 meses. “Además, puede sobrevivir durante largos períodos en las hojas y raíces de los cultivos. Las hojas más tiernas suelen ofrecen un hábitat mejor que las más maduras, y las hojas con mayores niveles de nitrógeno o las hojas y las frutas deterioradas aceleran la multiplicación de la *E. coli* y prolongan su supervivencia”.⁽³⁷⁾

2.3 FORMULACION DE HIPÓTESIS

2.3.1 HIPÓTESIS GENERAL

El extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (Tara) y el extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* C. (calaguala) tienen efecto sinérgico antibacteriano frente a cepas de *Escherichia coli*.

2.3.2 HIPOTESIS ESPECÍFICAS

- 1) Existe efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cepas de *Escherichia coli*.
- 2) Existe efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* C. (calaguala) en cepas de *Escherichia coli*.
- 3) Existe efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) y el extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* C. (calaguala) en cepas de *Escherichia coli*.

2.4 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES E INDICADORES

VARIABLE	CATEGORÍA	DIMENSIONES	INDICADOR
Variable Independiente Extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) Extracto hidroalcoholico de <i>Polypodium picnocarpum</i> C. (calaguala)	Razón del 2%,5%,10% 15%,20%	componentes activos	- Taninos - Fenoles - Flavonoides - Cumarinas - Quinonas - alcaloides
Variable Dependiente Efecto antibacteriano <i>in vitro</i>	Cepa de <i>Escherichia coli</i>	Cuantitativa	Diámetro del Halo de inhibición

2.5 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- **Antibacteriano**

El término se refiere a una sustancia cuyas propiedades son capaces de eliminar agentes bacterianos o la inhibición de su crecimiento o proliferación sin incurrir en el daño del objeto, ambiente u organismo que las porta. Son en esencia fármacos como es el caso de los antibióticos u otros agentes químicos capaces de combatir estos cuerpos. ⁽³⁸⁾

- **Bactericida**

Un efecto bactericida es aquel que produce la muerte a una bacteria y está provocado por alguna sustancia bactericida. Los organismos secretan sustancias bactericidas como medios defensivos contra las bacterias. Los antimicrobianos de efecto lísico o lítico (lisis) en las bacterias, provocan una reducción en la población. ⁽³⁸⁾

- **Bacteriostático**

Un efecto bacteriostático es aquel que, aunque no produce la muerte a una bacteria, impide su reproducción; la bacteria envejece y muere sin dejar descendencia. Un efecto bacteriostático está producido por

sustancias bacteriostáticas. Estas sustancias son secretadas por los organismos como medios defensivos contra las bacterias. ⁽³⁸⁾

- **Gentamicina**

Es un amino glucósido que se utiliza casi exclusivamente para tratar infecciones causadas por bacterias gram negativas y quedó demostrado que estas sustancias inhibían la multiplicación de los bacilos gram negativos y gram positivos, tanto in vitro como in vivo. ⁽³⁹⁾

- ***In vitro***

Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. La fecundación in vitro es un ejemplo ampliamente conocido. ⁽⁴⁰⁾

- ***Escherichia coli***

También conocida por la abreviación de su nombre, E. coli, es un bacilo gram negativo de la familia de las entero bacterias que se encuentra en el tracto gastrointestinal de humanos y animales de sangre caliente. ⁽⁴¹⁾

- **Cultivos**

En biología, bacteriología y específicamente en microbiología, un cultivo es un método para la multiplicación de microorganismos, tales como lo son bacterias en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado. Un cultivo es empleado como un método fundamental para el estudio de las bacterias y otros microorganismos que causan enfermedades en medicina humana y veterinaria. ⁽⁴¹⁾

- **Microbiología**

La microbiología es la ciencia encargada del estudio y análisis de los microorganismos, seres vivos pequeños no visibles al ojo humano también conocidos como microbios. Se dedica a estudiar los organismos

que son sólo visibles a través del microscopio: organismos procariotas y eucariotas simples. ⁽⁴²⁾

- **Tara**

Es un árbol pequeño, de dos a tres metros de altura, de fuste corto, cilíndrico y a veces tortuoso, y su tronco está provisto de una corteza gris espinosa, con ramillas densamente pobladas. En muchos casos las ramas se inician desde la base dando la impresión de varios tallos. La copa de la tara es irregular, aparasolada y poco densa, con ramas ascendentes. ⁽⁴³⁾

- **Calaguala**

Es nativa de Centroamérica y su territorio se extiende desde México a Sudamérica. El hábitat preferido por la calaguala son los bosques y zonas montañosas, donde suele crecer en rocas.

La calaguala contiene en su composición mucílago, en cantidad algo menor, resina roja, amarga y acre, también bastante abundante, sustancia que parece almidón, materia colorante, muy poco ácido málico, mucha sal de comer, cal y ácido silícico. ⁽²⁹⁾

- **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, se mide la potencia del antibiótico frente al germen. ⁽⁴⁴⁾

- **Agar**

Polímero sulfatado complejo de unidades de galactosa, extraído del *Gelidium cartilagineum*, *Gracilaria confervoides* y otras algas rojas asociadas. Se usa en forma de gel en la preparación de medios de cultivo sólidos para microorganismos, como laxante, para la elaboración de emulsiones y como medio de soporte para la inmunodifusión y la inmunoelectroforesis. ⁽⁴⁵⁾

- **Efecto antibacteriano in vitro**

Es aquel que produce la muerte o impide el crecimiento de una bacteria específica. Se puede observar al momento de la formación del halo de inhibición alrededor de la cepa. ⁽⁴⁶⁾

- **Extracto acuoso**

Preparación en agua de la sustancia de una planta o un animal que contiene la porción biológicamente activa sin el residuo celular. ⁽⁴⁷⁾

- **Extracto hidroalcoholico**

Son extractos líquidos concentrados, obtenidos de la extracción de una planta o parte de ella, utilizando como solvente alcohol y agua presentan sedimento, color y aroma característicos de la planta de la cual se obtienen. ⁽⁴⁸⁾

- **Bacterias Gram Positivas**

Las bacterias Gram positivas se tiñen de color purpura con la tinción Gram ya que el colorante queda atrapado en la capa de peptidoglucano (una estructura entrecruzada y gruesa que tiene forma de malla y rodea a la célula). ⁽⁴⁹⁾

- **Bacterias Gram Negativas**

Las bacterias Gram Negativas presentan una capa de peptidoglucano incapaz de retener el colorante cristal violeta, por lo que las células se tiñen con el colorante de contraste (safranina) y adquieren un color rojo. ⁽⁴⁹⁾

- **Cepa**

Una cepa es un conjunto de células homogéneas, o clones, que deriva de la reproducción de una célula inicial única, seleccionada y aislada. También suele referirse a las cepas como colonias puras de bacterias. ⁽⁵⁰⁾

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 TIPO DEL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

De acuerdo a las características y al alcance de los resultados, es un estudio de tipo:

- **Experimental:** Debido a la introducción y manipulación de los extractos para la determinación del efecto antibacteriano. ya que se cuenta con un grupo control positivo constituido por la gentamicina, un grupo control negativo representado el cloruro de sodio; y grupo experimental representado por el extracto acuoso *Caesalpinia spinosa* (tara) y del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en diferentes concentraciones 2%,5%,10%,15%,20%. Cada grupo debidamente representados por discos de papel filtros embebidos equilibradamente con las diferentes sustancias.
- **Transversal:** Debido a que el estudio se realizó en un determinado tiempo, ya que las variables fueron observadas en un solo momento después de transcurrir un corto periodo de tiempo con una aproximación de 72 horas después de realizado el cultivo.
- **In vitro:** Debido a que la investigación se lleva a cabo en medios de cultivo que sirven para el desarrollo de las bacterias y se manipulara de manera intencional las condiciones de la investigación.
- **Analítico:** Debido a que nos permite analizar los diferentes componentes que presentan los extractos y como estos influyen en la acción antibacteriana.

- **Descriptivo:** Debido a que nos permite describir los resultados obtenidos en la investigación durante el proceso de elaboración de los ensayos realizados.

3.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación se realizó con medios de cultivo cepas biológicamente activas y especies botánicas con actividad terapéutica.

Para la recolección de datos, se utilizará una ficha elaborada donde anotaran los datos obtenidos a través de una medición de los halos con el vernier o pie de rey.

Fueron realizadas en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, entre los meses de Octubre 2016 y Junio del 2017 con la asesoría Mg. Henry Montellanos Cabrera y en el laboratorio de fitoquímica realizamos, la marcha fitoquímica.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

3.3.1. POBLACIÓN

Caesalpinia spinosa (tara)

Polypodium picnocarpum C. (calaguala)

3.3.2. MUESTRA

Tara: 50mg

Calaguala: 100 mg

Se realizarán 5 secuencias de 5 placas cada uno para cada concentración y demostrar la actividad bacteriostática y la actividad bactericida (25 placas con agar)

Se utilizará un total de 75 placas con agar en la fase experimental.

Grupo control positivo: gentamicina 160 y 80mg.

Grupo control negativo: cloruro de sodio 0.09%

3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Instrumento de medición de precisión vernier o calibrador pie de rey

3.5 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

3.5.1. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

La identificación taxonómica de la ***Caesalpinia spinosa (tara)*** y ***Polypodium picnocarpum C. (calaguuala)*** se realizaron en el Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

A. EXTRACTO ACUOSO DE ***Caesalpinia spinosa (tara)***: (Método de Olga Lock Sing de Ugaz: Las Bases de la Fitoquímica.) ⁽⁵⁰⁾

Se usaron vainas de *C. spinosa* previamente procesadas. Colectadas las vainas de tara, estas fueron limpiadas.

Una vez limpias las vainas de *Caesalpinia Spinosa (tara)* se procedió a colocarlas en una estufa por 48 horas a 40°C para que esté libre de humedad.

Luego se procedió a separar las semillas de las vainas de *C. spinosa*, colocándolas en un mortero para su pulverizado. Se pesaron 50 gr. de polvo de las vainas de *C. spinosa*, se colocaron en un frasco de vidrio de color ámbar y se le agregaron 200 ml de agua, dejándose macerar por 1 semana, agitándolo todos los días.

El producto fue filtrado 3 veces, primero con papel filtro Whatmann N° 41, un segundo filtrado fue realizado con papel filtro Whatmann N° 2 y por último un tercer filtrado fue en papel Whatmann N° 1.

Se llevó nuevamente a la estufa para concentrar el filtrado x espacio de 3 días a 40°C

Luego el residuo fue clocado en un frasco de vidrio, de color ámbar para conservación y fue llevado a los laboratorios de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega para los ensayos microbiológicos.

A partir de la masa de extracto seco de *Caesalpinia Spinosa (tara)* se prepararon concentraciones de 2% 5% 10% 15% 20% las que fueron guardadas en frascos color ámbares estériles y conservados en refrigeración

hasta el momento en que dichas concentraciones sean colocados en discos de papel de filtro para probar su efecto antibacteriano.

B. EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LOS RIZOMAS DE *Polypodium picnocarpum* C. (*calaguala*) (Método de Olga Lock Sing de Ugaz: Las Bases de la Fitoquímica.) ⁽³²⁾

Se usaron los rizomas deshidratados y micro pulverizadas de *Polypodium Picnocarpum* procedentes del mercado de la Parada. Se pesaron 100g de hojas y se maceraron en 1000 mL de alcohol 75% por 7 días, luego se filtró y se colocó a la estufa a menos de 40 °C hasta eliminación del solvente y obtención de peso constante, luego se pesó y almaceno en un envase de vidrio color ámbar hasta su posterior uso.

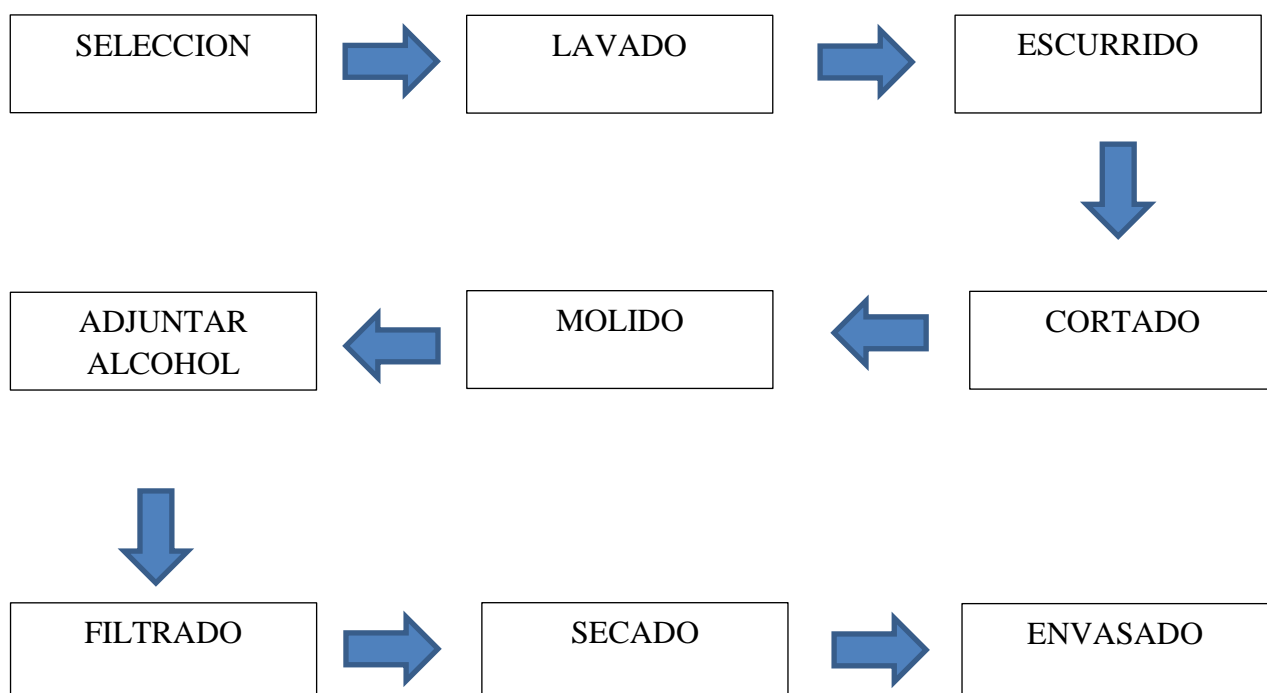


Figura N° 1: Flujograma de la extracción del extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C.

Análisis fitoquímico de metabolitos secundarios de *Caesalpinia spinosa* (tara) y *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) (método Domínguez 1973 tomado de KUKLINSKI C.) ⁽²⁾

A una solución de los extractos en estudio se realizará las siguientes pruebas en los laboratorios de la Universidad Ica Garcilaso de la Vega en colaboración con los asistentes de laboratorio de dicha facultad.

a) Determinación de taninos

Con gelatina – cloruro de sodio. A 1mL de muestra se agregará 3 gotas de reactivo, en un se centrifuga y si queda en el fondo un precipitado de color blanco confirma la presencia de taninos.

Con Cloruro Férrico o Alumbre férrico. A la muestra se agregará unas gotas de cloruro férrico; si se observa una coloración negra azulada nos indicara que el tanino pertenece a los derivados del ácido pirogálico, mientras que la coloración verde nos indicará que deriva de la catequina.

b) Determinación de flavonoides

Con R. Shinoda. En un tubo de ensayo se colocará 1mL de muestra con 1 limadura de magnesio pequeña, con un gotero se añadirá 3 gotas de HCl concentrado. Si se observa un intenso burbujeo por la reacción de las limaduras y la solución va adquiriendo una débil coloración naranja al principio; conforme va reaccionando más, la coloración naranja se va intensificando, hasta que después de 10 minutos la solución tiene un color anaranjado intenso indicara un resultado positivo.

c) Determinación de cumarinas

Se colocará 2 gotas de la muestra en una tira de papel Whatman o algodón y se añadirá sobre ella una gota de NaOH 10 %. La observación de fluorescencia verde amarillenta bajo la lámpara UV 365 nm indicara la presencia de cumarinas fijas.

d) Determinación de quinonas

Se pesará dos gramos de muestra y se triturara hasta un polvo muy fino en un mortero, luego se realizará los siguientes ensayos químicos:

Solubilidad en NaOH al 5%. En un tubo de ensayo se introducen 10 mg de la muestra, se añade 0,2mL de etanol y 0,4mL de NaOH al 5%. El cambio de coloración indicara la presencia de compuestos quinónicos.

Reacción de Bornträger. Un gramo de muestra se trata con NaOH 5% en caliente, se filtrará, enfriará y se acidulará con HCl 20%, se añadirá benceno, se agitará y se deja en reposo. Luego se separará la fase bencénica a la cual se le añadirá NH_4OH . La formación de una coloración rosada a roja, indicara la presencia de antraquinonas.

e) Determinación de alcaloides

Reactivo de Dragendorff. Se disolverá 8g de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 20 mL de HNO_3 se mezclará con 50 mL de una solución acuosa conteniendo 27,2 g de KI, se dejará reposar la solución, se decantará el sobrenadante y diluirá a un volumen de 100 mL. Al agregar unas cuantas gotas de este reactivo a una solución ácida de la muestra se observará la aparición de un precipitado que va del naranja al rojo.

Reactivo de Mayer. Se disolverá 1,36 g de HgCl_2 en 60 mL de agua y se adicionará 10 mL de una solución conteniendo 5g de KI y se diluirá hasta un volumen de 100mL. Al agregar un exceso de reactivo a una solución acidulada de la muestra se deberá observar la aparición de un precipitado de blanco a crema.

f) Determinación de azúcares

- Reactivo de Molish.- Forma parte de la composición del reactivo de Molish el α -naftol el mismo que se lo utiliza al 5 % en etanol de 96° por ello a temperatura ambiente en un tubo de ensayo se debe colocar la muestra o solución problema más el reactivo de Molish posteriormente se adiciona ácido sulfúrico (H_2SO_4) e inmediatamente aparece la formación de un anillo color violeta en la interface.
- Reactivo de Fehling.-los azúcares reductores, en medio alcalino, son capaces de reducir el ión Cu^{2+} de color azul a Cu^+ de color rojo. Para ello el grupo carbonilo del azúcar se oxida a grupo carboxilo. En medio fuertemente básico como en nuestro caso el NaOH el ión Cu^{2+} formaría

Cu (OH)₂ insoluble por eso añadimos tartrato sódico potásico que actúa como estabilizador al formar un complejo con el Cu²⁺.

Preparación de las placas con cultivo de *Escherichia coli* (Guía de microbiología universidad Mayor de San Marcos 2011)

- 1. Disolver los componentes del medio en agua destilada.-** En muchos casos se parte de un preparado comercial con todos los componentes deshidratados. Siguiendo las instrucciones del fabricante, añadir la cantidad de agua adecuada para conseguir la concentración deseada de los mismos. Si el medio contiene un agente solidificante (agar-agar) hay que calentar el preparado hasta la ebullición del mismo agitando de vez en cuando, para asegurar una completa disolución del agar (medios sólidos y semisólidos); para medios líquidos no es necesario calentar, únicamente se agita la mezcla hasta la completa disolución de la misma.
- 2. Esterilizar la disolución. -** Una vez disuelto el medio se debe esterilizar para evitar el crecimiento de contaminantes. Dependiendo de la forma en que vaya a utilizarse el medio, el procedimiento será diferente:
 - a. *Medios sólidos en placa.* - Tapar el matraz con tapón de algodón y cubrir con papel de aluminio. Llevar a esterilizar al autoclave (121⁰C) durante 15-20 minutos. Una vez estéril repartir en placas de Petri estériles y dejar en reposo para que solidifique.
 - b. *Medios líquidos.-* Una vez disueltos los componentes repartir en tubos a razón de unos 2-4 ml por tubo, tapar con tapón de aluminio y llevar a esterilizar en autoclave.
 - c. Sembrar el medio de cultivo seleccionado con la cepa que se va a realizar la parte experimental.

Desarrollo experimental

Inocular a cada placa sembrada con *Escherichia coli* con los extractos obtenidos mediante el método de excavación de cilindros en placas de la siguiente forma:

- Grupo 1:** control positivo – gentamicina 80mg y 160mg
- Grupo 2:** placa con medio de cultivo + cloruro de sodio
- Grupo 3:** placa con medio de cultivo + extracto acuoso de Tara (*Caesalpinia Spinosa*)
- Grupo 4:** placa con medio de cultivo + extracto hidroalcohólico de rizomas de *Calaguala* (*Polypodium picnocarpum C.*)
- Grupo 5:** placa con medio de cultivo + sinergismo de los 2 extractos

En la parte experimental se realizará 5 ensayos para tener una mejor observación y resultados que reportar.

- **Comparación con gentamicina**

La gentamicina es un aminoglucósido. Se emplea como antibiótico para erradicar infecciones contra bacterias sensibles. Sirve para tratar diversas enfermedades graves de piel, pulmón, estómago, vías urinarias y sangre, así como heridas cutáneas y en el ojo. Su uso está indicado cuando la administración de otros antibióticos menos potentes haya sido ineficaz.

En tal sentido y buscando tener una comparación con nuestros resultados, es que comparamos los halos producidos con gentamicina y nuestra muestra de estudio.

Para ello en una placa se sembró el microorganismo y fue sometido a discos de sensibilidad con gentamicina 160 mg y 80 mg.

CAPÍTULO IV: PRESENTACION Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS

4.1 PROCESAMIENTO DE DATOS: Resultados

Para interpretar los resultados del estudio de acuerdo a los objetivos e hipótesis, se medirán y compararan los diámetros de halo de inhibición, entre los grupos que presentaban la tara y calaguala. El análisis se realizará con Software SPSS v20.

Tabla N° 1: Halos de inhibición con el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cepas *Escherichia coli*

N° DE PLACAS	2%	5%	10%	15%	20%
1	3mm	4mm	4mm	4mm	5mm
2	3mm	3mm	4mm	4mm	5mm
3	3mm	4mm	4mm	5mm	5mm
4	4mm	3mm	5mm	5mm	6mm
5	4mm	4mm	5mm	5mm	5mm
Media:	3.4mm	3.6mm	4.4mm	4.6mm	5.2mm

Fuente: resultados obtenidos en la Universidad inca Garcilaso de la Vega



Figura N° 2: Halos de inhibición de la tara expresados en mm

De la tabla número 1, la figura numero 2: La concentración del extracto acuoso de Tara al 2 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 4mm con una media de 3.4mm, Para la concentración del extracto acuoso de tara al 5 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 4mm con una media de 3.6mm, Para la concentración del extracto acuoso de tara al 10 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 5mm con una media de 4.4mm, Para la concentración del extracto acuoso de tara al 15 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 5mm con una media de 4.6mm, Para la concentración del extracto acuoso de tara al 20 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 6mm con una media de 5.2mm.

Tabla N° 2: Halos de inhibición con el del extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas *Escherichia coli*

N° DE PLACAS	2%	5%	10%	15%	20%
1	3mm	3mm	3mm	3mm	2mm
2	3mm	2mm	3mm	3mm	2mm
3	3mm	2mm	2mm	3mm	2mm
4	2mm	1mm	2mm	3mm	2mm
5	2mm	2mm	2mm	2mm	3mm
Media:	2.6mm	2.0mm	2.4mm	2.8mm	2.2mm

Fuente: resultados obtenidos en la Universidad inca Garcilaso de la Vega

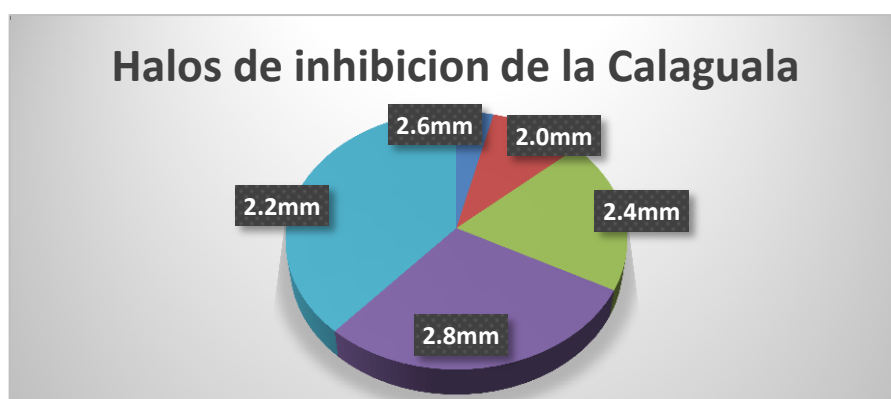


Figura N° 3: Halos de inhibición de la calaguala expresados en mm

De la tabla número 2, la figura numero 3: Para la concentración del extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (calaguala) al 2 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición mide 3mm con una media de 2.6mm, para la concentración al 5 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición mide 3mm con una media de 2.0mm, para la concentración al 10 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 3mm con una media de

2.4mm, para la concentración al 15 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 3mm con una media de 2.8mm, para la concentración al 20 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 3mm con una media de 2.2mm.

Tabla N° 3: Halos de inhibición con el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) y del extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas *Escherichia coli*.

N° DE PLACAS	2%	5%	10%	15%	20%
1	3mm	3mm	4mm	3mm	4mm
2	4mm	4mm	4mm	4mm	3mm
3	3mm	4mm	5mm	4mm	3mm
4	3mm	4mm	5mm	4mm	3mm
5	4mm	4mm	4mm	4mm	3mm
Media:	3.2mm	3mm	4.4mm	3.8mm	3.2mm

Fuente: resultados obtenidos en la Universidad inca Garcilaso de la Vega

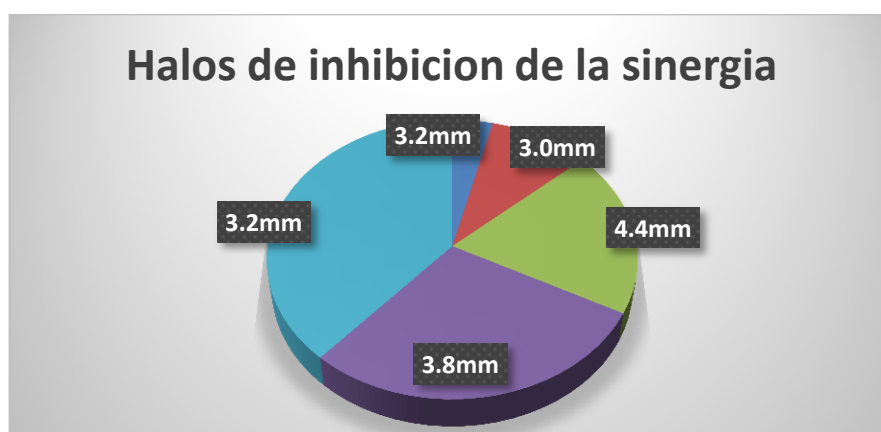


Figura N° 4: Halos de inhibición de la sinergia de tara y calaguala expresados en mm.

De la tabla número 3, la figura numero 4: Para la concentración sinérgica al 2 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 4mm con una media de 3.2mm, para la concentración sinérgica al 5 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 4mm con una media de 3mm, para la concentración sinérgica al 10 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 5mm con una media de 4.4mm, para la concentración sinérgica al 15 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 4mm con una media de 3.8mm, para la concentración sinérgica con 20 por ciento, se observa que el mayor diámetro de los halos de inhibición miden 4mm con una media de 3.2mm

Tabla N° 4: Halos de inhibicion comparativos con las muestras de estudio

N° DE PLACAS	2% extracto acuoso de Tara	2% Extracto hidroalcoholico Calaguala	2% Efecto Sinérgico
1	3mm	3mm	3mm
2	3mm	3mm	4mm
3	3mm	3mm	3mm
4	4mm	2mm	3mm
5	4mm	2mm	4mm
Media:	3.4mm	2.6mm	3.2mm

Fuente: resultados obtenidos en la Universidad inca Garcilaso de la Vega

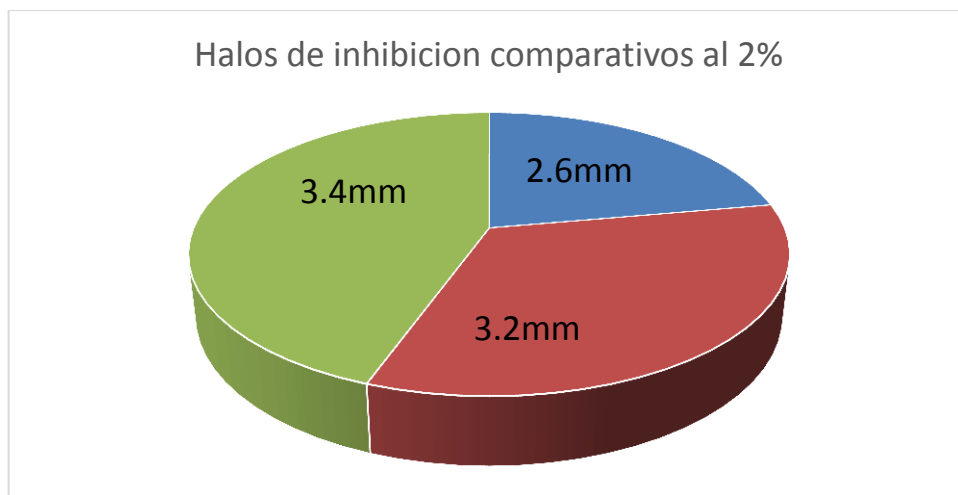


Figura N° 5: Halos de inhibicion comparativos al 2% con las muestras de estudio

De la tabla número 4, la figura numero 5: Al 2 por ciento, del extracto acuoso de tara y del extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas *Escherichia coli*, se observa que posee actividad antibacteriana de 3.2mm como media.

Tabla N° 5: Halos de inhibicion comparativos con las muestras de estudio

N° DE PLACAS	5% extracto acuoso de Tara	5% Extracto hidroalcoholico Calaguala	5% Efecto Sinérgico
1	4mm	3mm	3mm
2	3mm	2mm	4mm
3	4mm	2mm	4mm
4	3mm	1mm	4mm
5	4mm	2mm	4mm
Media:	3.6mm	2.0mm	3mm

Fuente: resultados obtenidos en la Universidad inca Garcilaso de la Vega

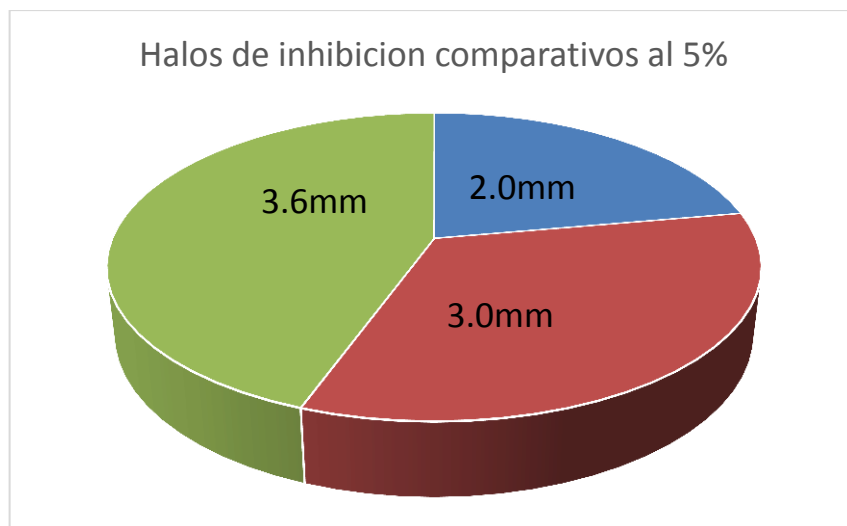


Figura N° 6: Halos de inhibicion comparativos al 5% con las muestras de estudio

De la tabla número 5, la figura numero 6: Al 5 por ciento del extracto acuoso de tara y del extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas *Escherichia coli*, se observa que posee actividad antibacteriana de 3.0mm como media

Tabla N° 6: Halos de inhibicion comparativos con las muestras de estudio

N° DE PLACAS	10% extracto acuoso de Tara	10% Extracto hidroalcoholico Calaguala	10% Efecto Sinérgico
1	4mm	3mm	4mm
2	4mm	3mm	4mm
3	4mm	2mm	5mm
4	5mm	2mm	5mm
5	5mm	2mm	4mm
Media:	4.4mm	2.4mm	4.4mm

Fuente: resultados obtenidos en la Universidad inca Garcilaso de la Vega

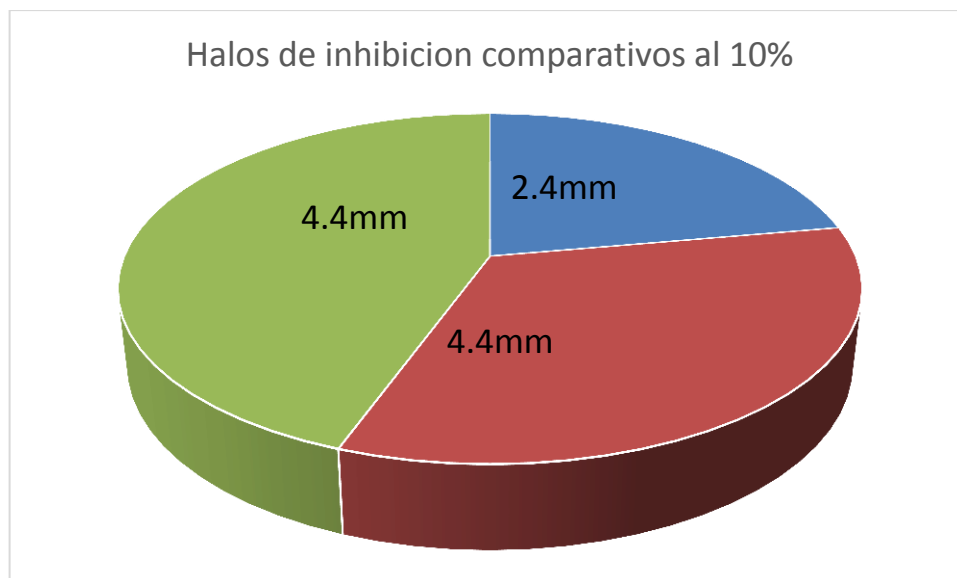


Figura N° 7: Halos de inhibicion comparativos al 10% con las muestras de estudio

De la tabla número 6, la figura numero 7: Al 10 por ciento del extracto acuoso de tara y del extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas *Escherichia coli* , se observa que posee actividad antibacteriana de 4.4mm como media.

Tabla N° 7: Halos de inhibicion comparativos con las muestras de estudio

N° DE PLACAS	15% extracto acuoso de Tara	15% Extracto hidroalcoholico Calaguala	15% Efecto Sinérgico
1	4mm	3mm	3mm
2	4mm	3mm	4mm
3	5mm	3mm	4mm
4	5mm	3mm	4mm
5	5mm	2mm	4mm
Media:	4.6mm	2.8mm	3.8mm

Fuente: resultados obtenidos en la Universidad inca Garcilaso de la Vega

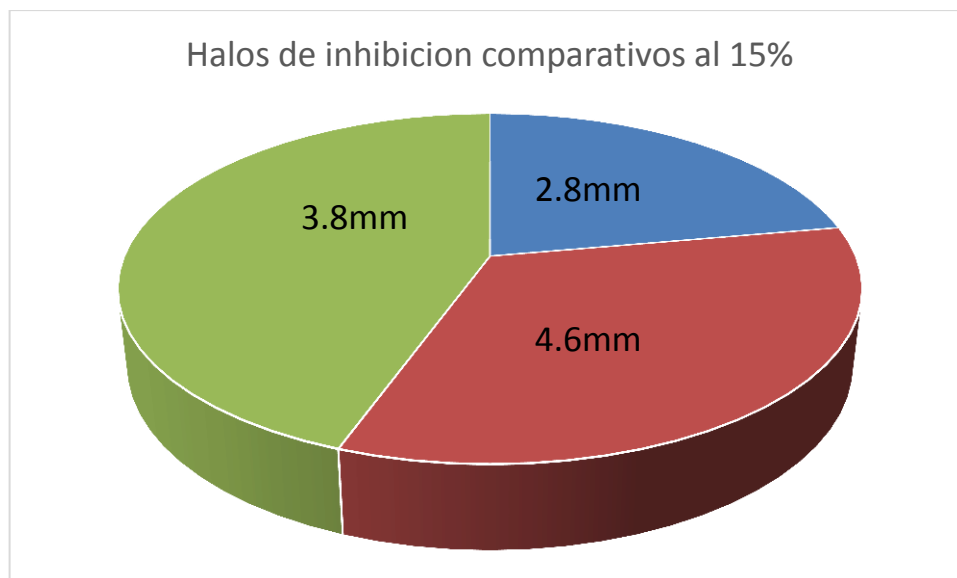


Figura N° 8: Halos de inhibicion comparativos al 15% con las muestras de estudio

De la tabla número 7, la figura numero 8: Al 15 por ciento del extracto acuoso de tara y del extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas *Escherichia coli*, se observa que posee actividad antibacteriana de 3.8mm como media

Tabla N° 8: Halos de inhibicion comparativos con las muestras de estudio

N° DE PLACAS	20% extracto acuoso de Tara	20% Extracto hidroalcoholico Calaguala	20% Efecto Sinérgico
1	5mm	2mm	4mm
2	5mm	2mm	3mm
3	5mm	2mm	3mm
4	6mm	2mm	3mm
5	5mm	3mm	3mm
Media:	5.2mm	2.2mm	3.2mm

Fuente: resultados obtenidos en la Universidad inca Garcilaso de la Vega

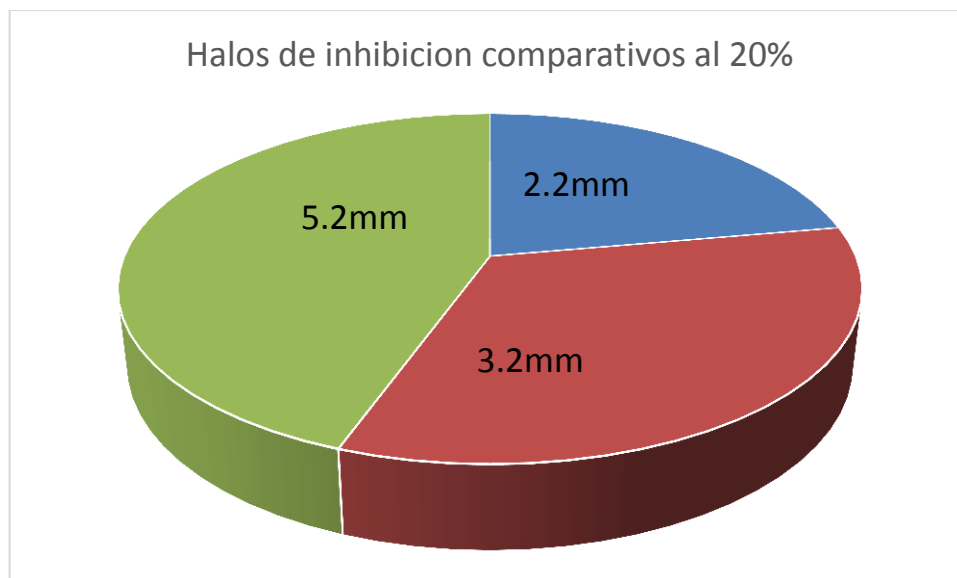


Figura N° 9: Halos de inhibicion comparativosal 20% con las muestras de estudio

De la tabla número 8, la figura numero 9: Al 20 porciento del extracto acuoso de tara y del extracto hidroalcoholio de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas *Escherichia coli*, se observa que posee actividad antibacteriana de 3.2mm como media.

Tabla N° 9: Tamizaje fitoquímico extracto hidroalcoholio de los rizomas de *Caesalpinia spinosa* (tara)

ENSAYO	REACTIVO	RESULTADO
Taninos	Gelatina – cloruro de sodio	+
Fenoles	Cloruro ferrico	+
Flavonoides	R. Shinoda	-
cumarinas	NaOH 10%	+
Quinonas	NaOH 5%	+
	Rx Borntrager	-
Alcaloides	Dragendorff	-
	Mayer	+

Fuente: resultados obtenidos en la Universidad inca Garcilaso de la Vega
Elaborado por los investigadores.

Tabla N° 10: Tamizaje fitoquímico extracto hidroalcoholio de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala)

ENSAYO	REACTIVO	RESULTADO
Taninos	Gelatina – cloruro de sodio	-
Fenoles	Cloruro ferrico	+
Flavonoides	R. Shinoda	-
cumarinas	NaOH 10%	-
Quinonas	NaOH 5%	+
	Rx Borntrager	+
Alcaloides	Dragendorff	+
	Mayer	-

Fuente: resultados obtenidos en la Universidad inca Garcilaso de la Vega
Elaborado por los investigadores.

Tabla N° 11: Control positivo con gentamicina

CONTROL POSITIVO CON GENTAMICINA		
Extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara)		
Extracto hidroalcoholico de <i>Polypodium picnocarpum</i> C. (calaguala)		
CONCENTRACIONES		
N° PLACAS	80MG	160MG
	(mm)	(mm)
1	12mm	15mm

Fuente: resultados obtenidos en la Universidad inca Garcilaso de la Vega
Elaborado por los investigadores.

4.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la investigación realizada con el extracto acuoso de tara y el extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala) en cepas *escherichia coli*, se demostró que la acción individual no posee efecto antibacteriano, también se quiso mostrar si en conjunto hay efecto sinérgico de los extractos en estudio, lo cual tampoco se evidencio el efecto sinérgico.

En el control positivo que realizamos con gentamicina nos dio como resultado 12mm en 80 mg y 15mm en 160 mg, en comparación a nuestros resultados ninguno se aproximó a las medidas de los halos de inhibición, por lo tanto comprobamos que no se encontró efecto antibacteriano en los extractos en estudio.

En la investigación se encontró que al 10% el efecto sinérgico no encuentra una similitud con la acción antibacteriana individual del extracto acuoso de la tara con una media de 4.4mm. En el resto de los ensayos, la media sinérgica es inferior a la individual.

Este estudio concuerda con el de Solivellas ⁽²²⁾ quien determino que el extracto de calaguala es útil en la prevención de procesos infecciosos. No hace mención de efecto antibacteriano al igual que en nuestros resultados. Se mostró no tener efecto antibacteriano.

En la investigación realizada por Mejia ⁽⁷⁾ se determinó el efecto sinérgico antibacteriano debido a que las dos plantas en estudio poseen efecto bactericida sobre *Escherichia coli*, comparado con nuestro estudio que no presento actividad sinérgica ya que nuestras plantas no presentan efecto antibacteriano.

CAPITULO V:

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- 1) El extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) no mostró efecto antibacteriano *in vitro* en cepas de *Escherichia coli*, en mayor magnitud en la concentración al 20% con un halo de 5.2mm.
- 2) El extracto hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* C. (calaguala), no mostró efecto antibacteriano *in vitro* en cepas de *Escherichia coli*, la concentración al 15% mostró un halo de inhibición de 2.8 mm.
- 3) El efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (tara) y del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* C. (calaguala) en cepas de *Escherichia coli*, no presentan actividad antibacteriana ya que su mayor magnitud en la concentración de al 10% da un halo de 4.4mm. Por lo tanto no tienen efecto sinérgico.

5.2 RECOMENDACIONES

- 1) Realizar estudios sobre efectos de plantas con propiedades terapéuticas nativas de nuestro país, ya que existen posibilidades de sinergia por descubrir.
- 2) Realizar estudios del extracto acuoso de tara y del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* C. (calaguala), en otras cepas que producen patologías en el ser humano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. García Luján C. Actividad antibacteriana de extractos vegetales en cepas hospitalarias de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple [Tesis] para obtener el Grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2006.
2. Guerra L. Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales de plantas usadas en medicina tradicional [tesis] para optar el Grado de Magister en Ciencias con orientación terminal en Química Biomédica: Universidad Autónoma de Nuevo León; 2011.
3. Guevara A, Guzmán B. Estudio fitoquímico al extracto metanólico de *Cheilanthes megriophylla* 'cuticuti' y su efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. [Tesis]. Universidad Nacional de Trujillo; 1991.
4. Greulach A. Las Plantas: Introducción a la Botánica, Edit. Limusa Moderna. 1º ed. México DF; 1996.
5. Zárate M. Efecto *in vitro* antibacteriano del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* "Tara" sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente. Trujillo. Universidad Privada Antenor Orrego. 2014 Vol. 26, Núm. 1.
6. Portillo P, Mendoza V. Extracto purificado de calaguala en el tratamiento de la psoriasis en comparación con placebo, en un ensayo clínico controlado a doble ciego. 1985.
Disponible desde: www.bvs.hn/RMH/pdf/1985/pdf/vol53-1-1985-3.pdf
7. Mejía E. Efecto sinérgico antibacteriano *in vitro* de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Escherichia coli* [Tesis]. Trujillo; 2017.

8. Méndez Cépeda K. Efecto sinérgico *in vitro* de aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Escherichia coli*. [Tesis] Trujillo; 2016
9. Apares Arango R. Efecto Sinérgico Antimicrobiano del Aceite Esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina comparado con Amikacina en *Escherichia coli*, *in Vitro*. [Tesis] Lima; 2016.
10. Américo J. Castro, Norma J. Ramos, José R. Juárez, Julio R. Ruíz, Fritz F. Choquesillo, 2016 Composición química del aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* “tara”, evaluación antioxidante y efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* Vol. 19, Núm. 2.
11. Flores C. Efecto inhibidor del extracto etanólico de *caesalpinia spinosa* (taya) en comparación a hidróxido de calcio, paramonoclorofenol alcanforado y clorhexidina en gel al 2%, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. [Tesis de maestría en Odontología] Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
12. Benites C. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre cepa de *Candida albicans* ATCC 90028, [Tesis para obtener el título de: médico cirujano] universidad privada Antenor Orrego. Facultad de medicina humana escuela profesional de medicina humana. Trujillo; 2015.
13. Centurión K. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668. [Tesis de maestro en Odontología] universidad privada Antenor Orrego. Trujillo; 2015.
14. Palomino Tantaleán K. Efecto sinérgico in vitro entre el extracto etanólico de *solanum sessiliflorum* “cocona” y vancomicina sobre el crecimiento de *staphylococcus aureus* resistente a meticilina. [Tesis] Trujillo; 2014.

15. Zárate M. 2014. Efecto *in vitro* antibacteriano del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* “Tara” sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente. Trujillo. Universidad Privada Antenor Orrego. 2014 Vol. 26, Núm. 1.

16. Huarino M. Efecto Antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) Sobre Flora Saliva Mixta. [Tesis para optar el título de Cirujano dentista Universidad Nacional San Marcos. Facultad de Odontología]. Lima: 2011.

17. Añanca E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. [Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico] Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre de Tacna; 2009.

18. Chávez Torres L. Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* a la Gentamicina en cultivos de *Escherichia coli* [Tesis] facultad de medicina Hipólito unanue. Lima: 2008.

19. Liu H, Lengua L, León G, La Torre C, Huapaya J, Chauca J. Evaluación de la Actividad Antibacteriana *in vitro* de los Extractos de *Caesalpinia Spinosa* “tara” y *Eucalyptus sp.* “eucalipto”. Revista Horizonte Médico. 2: 1,2. (2010)

20. Haro A. Estudio *in vitro* de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 100% e hipoclorito de sodio al 5,25% sobre el *Enterococcus faecalis*. [Tesis para la obtención del título de Odontólogo], Universidad central del Ecuador facultad de Odontología; 2015.

21. Winkelmann RR, Del Rosso J, Rigel DS. Extracto de *Polypodium leucotomos*: un informe sobre la eficacia clínica y la seguridad. [Tesis] New York; 2015.

22. Solivellas M. *Polypodium leucotomos* Extracto de uso para prevenir y reducir el riesgo de enfermedades infecciosas en deportistas de alto rendimiento

[Tesis].Servicio de Otorrinolaringología del Hospital General Universitario. Madrid; 2012.

23. Guevara T. Elaboración y determinación de eficacia *in vivo* de un gel para el acné a base de calaguala (*Campyloneurum amphostenon*). [Tesis para la obtención del título de Químico Farmacéutico]. Escuela superior politécnica de Chimborazo facultad de ciencias. Ecuador; 2011.
24. Gudie L. Evaluación Fitoquímica y actividad antioxidante de *Polypodium triseriale* SW (calaguala) [Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico] Universidad de San Carlos Facultad de ciencias Químicas y farmacia. Guatemala; 2009.
25. Sampaio C. *In vitro* antimicrobial activity of *Caesalpinia ferrea* Martius fruits against oral pathogens. J. of Ethnopharmacology. Revisit Journal of Ethnopharmacology (2009).124 (2):289-294.
26. Eliades Ledezma M. Sinergismo entre ajoeno y ketoconazol en aislamientos de *Microsporum canis*. Un estudio preliminar mediante la determinación de la concentración inhibitoria fraccional (CIF) España; 2008.
27. Carrillo F. E. Las leguminosas del valle del Rimac (Sub-Familias: *Mimosoideae* y *Caesalpinoideae*). Bol. Soc. Peruana Bot. 7(1/2): 40–68.(1974)
28. Alonso J. Tratado de fitofármacos y nutraceuticos, primera edición, Argentina, Rosario, Editorial Corpus. p. 244-247, 325-327, 863-868, 884-886. (2004)
29. Guevara T. Elaboración y determinación de eficacia *in vivo* de un gel para el acné a base de Calaguala (*Campyloneurum amphostenon*) (Tesis de grado previa la obtención del título de bioquímico farmacéutico) Escuela superior politécnica de Chimborazo facultad de ciencias. Ecuador; 2011.

30. Romero J. Validación de la actividad gastroprotectora de *Polypodium calaguala*, *Buddleja globosa* y *piper carpunya* ruiz & pav en ratones con lesiones gástricas inducidas. (Tesis de grado previa la obtención del título de bioquímico farmacéutico) Ecuador; 2014.
31. Caldas A. optimización escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción solido líquido. Tesis ingeniería química. Ecuador; 2012.
32. Fundación de Religiosos para la salud. fundacionfrs.es. [Online]; 2012 [cited 2015 08 13]. Available from:
http://www.fundacionfrs.es/archivos/manual_plantas_medicinales_v2.pdf.
33. Bueno J. Biosalud. [Online]; 2015 [Cited 2015 07 19].
Available from:
<https://www.biosalud.org/archivos/noticias/4311Fitoterapia.pdf>.
34. Barahona V. dspace.esPOCH.edu.ec. [online]; 2013 [cited 2015 07 02]
Available from:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/handle/123456789/2453/56T00321.pdf?sequence=1>.
35. Kaper J.B. Pathogenic *Escherichia coli*. Int. J. Medical Microbiol. 2005; 295 (1): 355-356.
36. Scheutz F, Strockbine N.A, Genus I, Brenner D.J., et al. (Eds.) the Proteobacteria Part B the Gammaproteobacteria. Springer. 2005; 2 (Part B) 607-623.
37. Scheutz F, Cheasty T, Woodward D, Smith H.R. Designation of O174 and O175 to temporary O groups OX3 and OX7, and six new E. coli O groups that include Verocytotoxin-producing E. coli (VTEC): O176, O177, O178, O179, O180 and O181. APMIS. 2005; 112 (6): 569-584.

38. Guillem Prats. Microbiología y Parasitología Medica” Editorial Panamericana
pág. 234 9na Edición; 2013.
39. Galas, M, Pasteran F. Sensibilidad a los Antimicrobianos. Argentina. Instituto
Nacional de Enfermedades Infecciosas. 2006 p 104.
40. Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica Editorial
Mc Graw Hill pág. 56 12va Edición;2007.
41. Bertran, G. Farmacología Básica y Clínica” Editorial Mc Graw Hill pág. 70
12va Edición; 2013.
42. Guillem Prats. Microbiología y Parasitología Medica” Editorial Panamericana
pág. 234 9na Edición; 2013.
43. Huarino Acho M. Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre
flora salival mixta. [tesis para optar el titulo de cirujano dentista].Lima:
Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología; 2011.
44. Ramos FM. Microbiología: Halos de inhibición. [Online]; [cited 2017 01 28].
Availablefrom:
<http://microbiologia3bequipo5.blogspot.pe/2014/10/halos-de-inhibicion.html>;
2014.
45. Descriptores de la ciencia de la salud [internet] . Sao paulo: Biblioteca virtual
de salud. [Online]; [cited 2017 01 01]. Available from: <http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decsserver/>.
46. Mayta F, Sacsquispe S. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del
extracto etanólico de Propóleo de Oxapampa – Perú sobre cultivos de
Streptococcus mutans (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC
25923). Rev. Estomatol Herediana, (2010) 20(1): p. 19 – 24.

47. Machacca F. Efecto Toxicológico del Jincho Jincho (*Heracium neoherrerae*), Altamisa (*Ambrosia arborescens*), Diente de león (*Taraxacum officinale*), Huir Huir (*Pseudogmaphalium spicatum*) y Mishico (*Bidens andicola*) en ratas (Wistar). (Tesis de grado de Biologo) Universidad nacional del altiplano. Facultad de ciencias biológicas. Puno; 2014.
48. Dueñas R. Extractos hidroalcoholicos. SA de CV [Online]; [cited 2017 01 05 10].
Availablefrom:
http://redsa.com.mx/descargas/herbolaria/catalogos_hidroalcoholicos.pdf
49. Patrick M, Ken R, Michael P. Morfología, síntesis y estructura de la pared celular de las bacterias. In Mosby E, editor. Microbiología médica. 5ta ed. Madrid España: Gea consultoría. P.11-13. 2006.
50. Química toda es química. [Online]; 2012 [cited 2017 02 26]. Available from: <https://iquimicas.com/que-es-una-cepa-bacteriana/>.
51. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. 2da ed. Lima – Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994.

ANEXO 1. Matriz de consistencia

TITULO: EFECTO SINÉRGICO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DE <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) Y DEL EXTRACTO HIDROALCOLICO DE LOS RIZOMAS DE <i>Polypodium picnocalpurnum</i> C. (calaguala) EN CEPAS <i>Escherichia coli</i>						
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGIA
¿Cuál es el efecto sinérgico antibacteriano in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) y del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de <i>Polypodium picnocalpurnum</i> C. (calaguala) frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ?	Determinar el efecto sinérgico antibacteriano in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) y del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de <i>Polypodium picnocalpurnum</i> C. (calaguala) frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> .	El extracto de acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) y del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de <i>Polypodium picnocalpurnum</i> C. (calaguala) tienen efecto sinérgico antibacteriano frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> .	VI EXTRACTO ACUOSO DE <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) Y DEL EXTRACTO HIDROALCOLICO DE LOS RIZOMAS DE <i>Polypodium picnocalpurnum</i> C. (Calaguala)	VI: Extracción de tara Extracción de calaguala	VI: -Taninos -Fenoles -Flavonoides -Cumarinas -Quinonas -Alcaloides	Diseño Experimental Tipo: estudio correlacional Nivel: Correlacional transversal
PROBLEMA ESPECIFICO	OBJETIVO ESPECIFICO	HIPOTESIS ESPECIFICA	VD EFECTO SINÉRGICO ANTIBACTERIANO IN VITRO VI CEPAS DE <i>Escherichia coli</i>	VD: Inhibición de crecimiento (halos de inhibición) unidad de medida mm de diámetro	VD: Halo de inhibición sobre los microorganismos Método de difusión por perforación en placa	Población y muestra: 25 placas con microorganismos de <i>Escherichia coli</i> . Instrumentos de recolección de datos: <ul style="list-style-type: none"> Instrumento de medición de precisión vernier o calibrador pie de rey. Ficha de recolección de datos Técnica: Prueba de sensibilidad método Kirby-Bauer (método de difusión en agar) Procesamiento y análisis de datos: SPSS y análisis de varianza (ANOVA) para determinar la diferencia significativa de cada prueba
¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) en cepas de <i>Escherichia coli</i> ?	Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) en cepas de <i>Escherichia coli</i> .	Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) en cepas de <i>Escherichia coli</i> .				
¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de <i>Polypodium picnocalpurnum</i> C. (calaguala) en cepas de <i>Escherichia coli</i> ?	Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de <i>Polypodium picnocalpurnum</i> C. (calaguala) en cepas de <i>Escherichia coli</i> .	Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de <i>Polypodium picnocalpurnum</i> C. (calaguala) en cepas de <i>Escherichia coli</i> .				
¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) y del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de <i>Polypodium picnocalpurnum</i> C. (calaguala) en cepas de <i>Escherichia coli</i> ?	Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) y del extracto Hidroalcoholico de los rizomas de <i>Polypodium picnocalpurnum</i> C. (calaguala) en cepas de <i>Escherichia coli</i> .	Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) y el extracto Hidroalcoholico de los rizomas de <i>Polypodium picnocalpurnum</i> C. (calaguala) en cepas de <i>Escherichia coli</i> .				

ANEXO 2. Certificado *Polypodium picnocarpum* C.



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° 208-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 (rizomas) recibida de **Patricia Del Carmen QUINTANA FERNÁNDEZ**, estudiante de la facultad de Ciencias Farmacológicas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: *Polypodium picnocarpum* C. (Sw.) FÉE y tiene la siguiente posición taxonómica, según el sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: PTERIDOPHYTA

CLASE. POLYPODIOPSIDA/PTERIDOPSIDA

SUBCLASE: POLYPODIOIDEAE

ORDEN: POLYPODIALES

FAMILIA: POLYPODIACEAE

GENERO: *Polypodium*

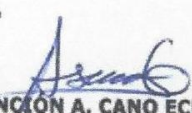
ESPECIE: *Polypodium picnocarpum* C. (Sw.) FÉE

Nombre vulgar: "Calaguala"

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, 18 de setiembre de 2017


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



ACE/ddb

ANEXO 3. Certificado *Caesalpinia spinosa* (molina)



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° 207-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 (hojas y frutos) recibida de **Mariela Luisa CARDENAS SALAS**, estudiante de la Facultad de Ciencias Farmacológicas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 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: FABALES

FAMILIA: CAESALPINACEAE

GENERO: *Caesalpinia*

ESPECIE: *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze

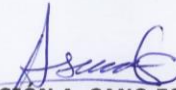
Nombre vulgar: "Tara"

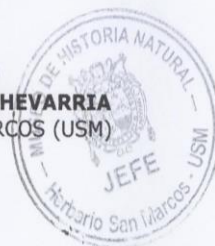
Determinado por Mag. Asunción A. Cano Echevarría

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

Lima, 18 de setiembre de 2017

ACE/ddb


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



ANEXO 4. Ficha de recolección de datos

FICHAS DE RECOLECCION DE DATOS:

TESIS:

EFFECTO SINÉRGICO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO *Caesalpinia spinosa* (tara) Y DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LOS RIZOMAS DE *Polypodium picnocalpum* C. (calaguala) EN CEPAS DE *Escherichia coli*

Extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara)					
CONCENTRACIONES					
N° PLACAS	2%	5%	10%	15%	20%
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
1					
2					
3					
4					
5					
MEDIA					

Extracto hidroalcoholico de <i>Polypodium picnocalpum</i> C. (calaguala)					
CONCENTRACIONES					
N° PLACAS	2%	5%	10%	15%	20%
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
1					
2					
3					
4					
5					
MEDIA					

<p>EFFECTO SINÉRGICO ANTIBACTERIANO Extracto acuoso de <i>caesalpinia spinosa</i> (tara) Extracto hidroalcoholico de <i>Polypodium picnocarpum</i> C. (calaguala)</p>					
CONCENTRACIONES					
N° PLACAS	2%	5%	10%	15%	20%
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
1					
2					
3					
4					
5					
MEDIA					

<p>CONTROL POSITIVO CON GENTAMICINA Extracto acuoso de <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara) Extracto hidroalcoholico de <i>Polypodium picnocarpum</i> C. (calaguala)</p>		
CONCENTRACIONES		
N° PLACAS	80MG	160MG
	(mm)	(mm)
1		

ANEXO 5. Testimonios fotográficos

Preparación del extracto acuoso de tara



Limpiamos la muestra de tara



*colocamos en la estufa por
48 horas a 40°C*



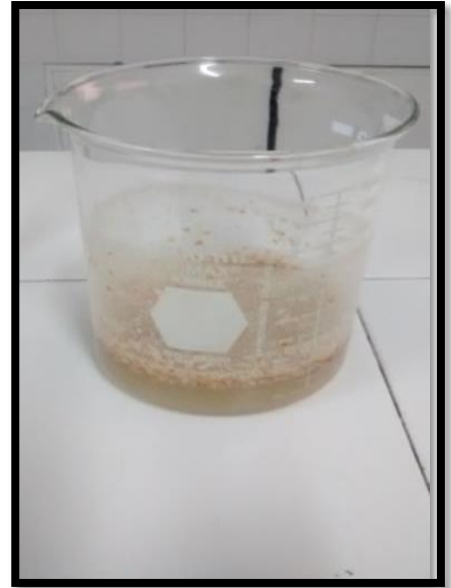
*Separar la semillas de las
vainas d c.spinosa y pesamos
50 gr de polvo de tara*



*agregamos 200 ml de agua
destilada*



*Vacear en un frasco ambar,
dejamos macerar una semana.*



*Preparacion obtenida despues
de 1 semana*

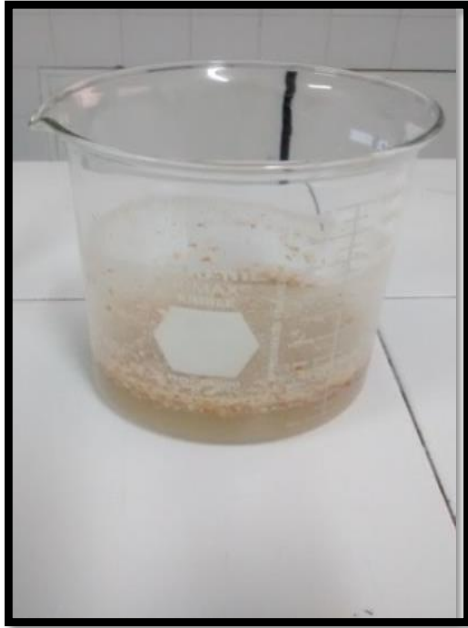
Filtramos 3 veces



*-primero papel whatman
n°41*

*-Segundo con papel filtro
whatmann n°2*

*-tercero con papel filtro
whatmann n°1*



Filtrado

Llevamos a baño maria (para concentrar el filtrado) por espacio de una hora.



esperamos que enfrie nuestra muestra

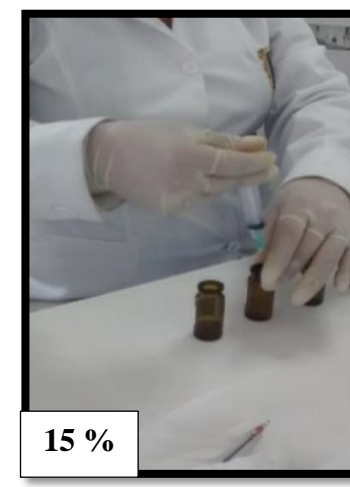
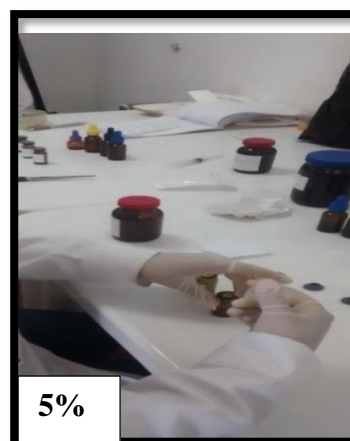


Extracto acuoso de tara

Vaciamos en un frasco ámbar estéril, rotulamos y sellamos la tapa a partir de la masa de extracto seco de caesalpinia spinosa (tara) se prepararon concentraciones de 2%, 5%, 10%, 15% y 20% las que fueron guardadas en frasco ámbar estériles y conservadas en refrigeración hasta el momento en que dichas concentraciones sean colocadas en discos de papel filtro para probar su efecto.

Preparacion de las concentraciones del extracto acuoso de tara:

Del extracto acuoso de tara preparamos las siguientes concentraciones



Envasamos y rotulamos el extracto de la tara: 2%,5%,10%,15%,20%

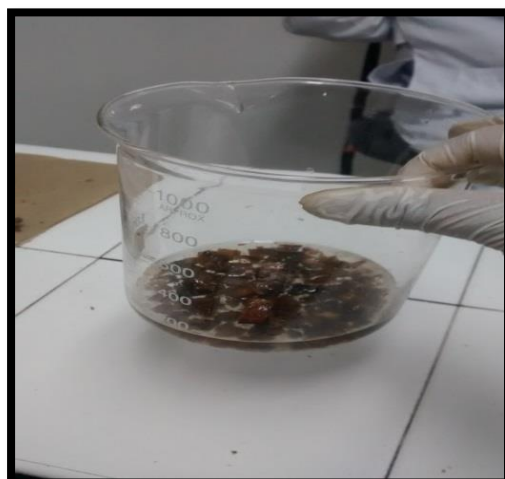
PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOLICO DE RIZOMAS DE CALAGUALA



Se usaron los rizomas de la planta



En la muestra seca procedemos a limpiar y cortar los rizomas de calaguala.



Pesamos la muestra de los rizomas de calaguala, se macera en 1000ml alcohol 70% por 7 dias, se filtro



Se coloco en la estufa a menos de 40°C

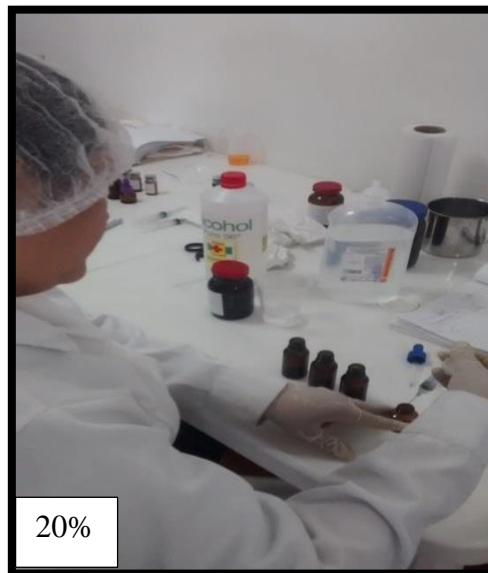


Vaceamos el extracto hidroalcolico de calaguala en un frasco ambar esteril



Pesamos y almacenamos en un envase de vidrio rotulamos y conservamos nuestro extracto hidroalcolico de calaguala para la preparacion de concentraciones de 2%, 5%, 10%,15% y 20%





Preparación de las concentraciones de los extractos hidroalcolico de calaguala en 2%5%10%15%20%



rotulamos y sellamos los frascos para su posteriores uso

ANALISIS FITOQUIMICO DE METABOLITOS SECUNDARIOS (METODO DE DOMINGUEZ, 1973)

Se realizó las siguientes pruebas a los dos extractos en estudio extracto acuoso de tara y del extracto hidroalcoholico de calaguala

A) Determinación de taninos

Con gelatina – cloruro de sodio



Agregar 1ml
muestra del
extracto de tara
+
3 gotas de rvo.

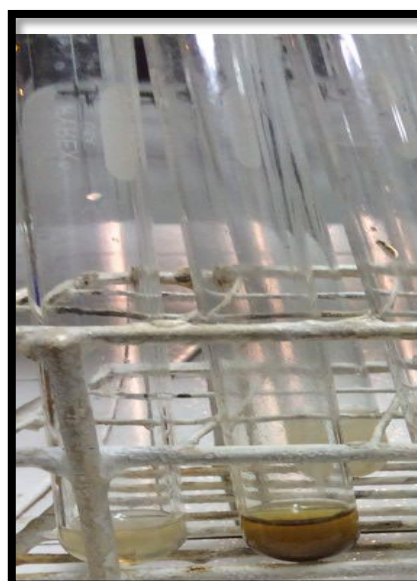


Agregar 1ml muestra
del extracto de
calaguala
+
3 gotas de rvo.

*Llevamos las
dos muestras
a la
centrifuga.*

Resultado:

Calaguala: -
No se observa
precipitado.



Tara: +
Precipitado color
blanco.
Presencia de
taninos.

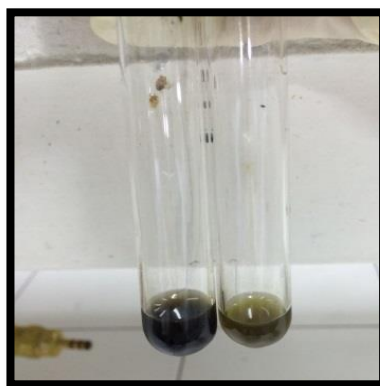
Con cloruro férrico o alumbre férrico:



Agregar unas gotas de cloruro férrico a las dos muestras respectivamente.

Resultados:

Tara: +
Coloración negro azulado.
Indica que hay presencia de taninos *deriva del ácido pirogálico*



Calaguala: +
Coloración verde
Indica que hay presencia de taninos *deriva de la catequina.*

b) Determinación de flavonoides:

Con R. Shinoda:

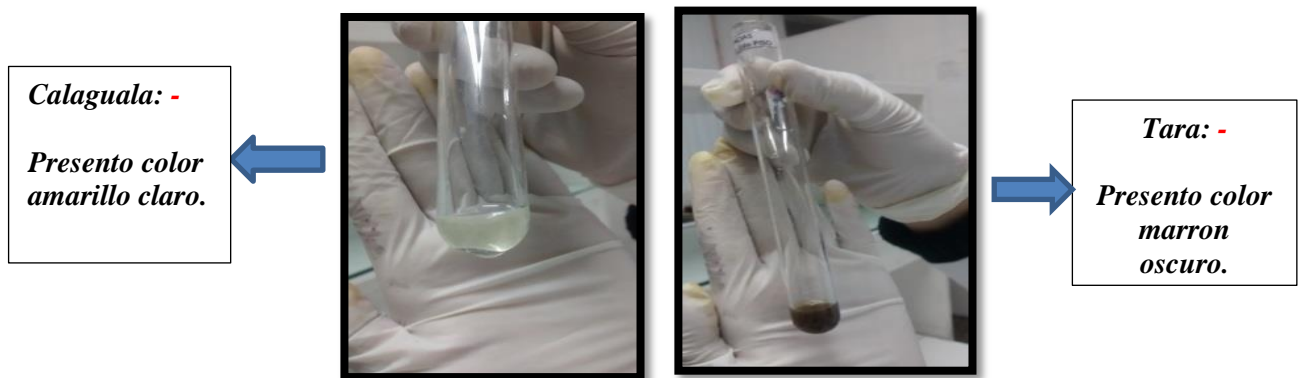


Agregar una limadura de magnesio pequeña a las dos muestras respectivamente.



Agregar 3 gotas de HCL[]

Resultados:



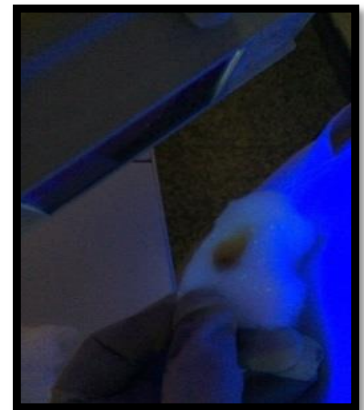
c) Determinación de cumarinas:



Colocamos 2 gotas de las dos muestras respectivamente en algodón.



Añadir una gota de NaOH 10% en las diferentes muestras.



Lo llevamos a la lámpara UV 365 nm

Resultados:



D) Determinación de quinonas:

Solubilidad en NaOH al 5%:

Introducir 10mg de muestra respectivamente.

Agregar 0.2ml de etanol



Agregar 0.4ml de NaOH al 5%

Resultados:

Tara: +

Se presentó un cambio de color de verde a amarillo.



Calaguala: +
Se presentó un cambio de color de amarillo a marrón oscuro.

Reacción de Borntrager:

*1 gramo de muestra
se trata con NaOH
5% en caliente.
Se filtra y enfría.*



*Agitar y dejar
en reposo.*

*Acidulara con HCL
20%, añadimos
benceno*

Separamos la fase bencenica

Calaguala



Tara



Agregamos NH4OH.

Resultados:

Calaguala: +

*Presento
coloración rojo
claro. Indica la
presencia de
antraquinonas.*



Tara: -



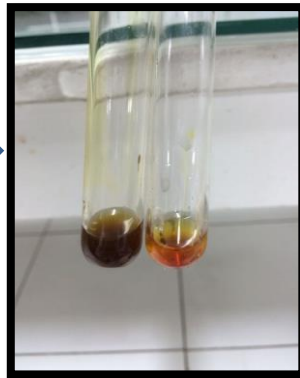
e) Determinación de alcaloides:

Reactivo de Dragendorff:

Agregar unas cuantas gotas del Reactivo de Dragendorff a las muestras.



*Tara: -
No se observa precipitado.*



*Calaguala: +
Presencia de precipitado naranja*

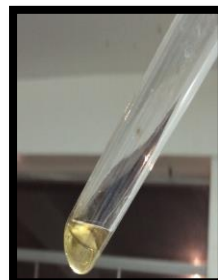
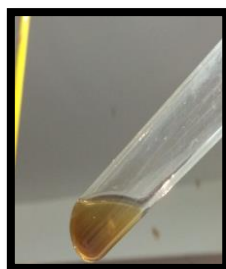
Reactivo de Mayer:

Agregar gotas del reactivo de Mayer



Resultado:

*Tara: +
Presencia de precipitado blanco.*



*Calaguala: -
No hay presencia de precipitado.*

PREPARACION DE LAS PLACAS CON CULTIVO DE ESCHERICHIA COLI



Se uso el agar mac conkey ,lo ponemos a la centrifuga por 45 minutos para que disuelva.



Transcurrido 45 minutos retiramos el agar



Agar Mc conkey disuelto

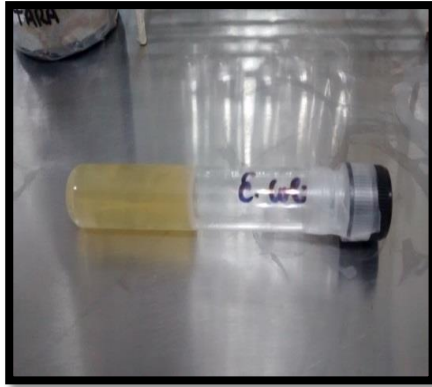
Tenemos el agar disuelto para preparar las placas



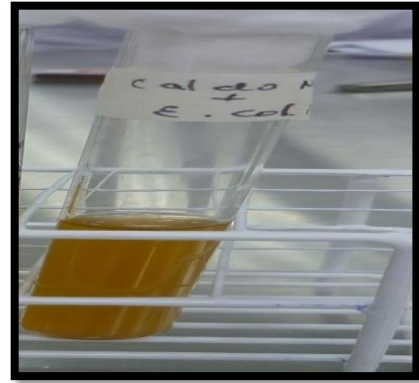
Vaciamos el agar a las placas. Se usó 10 ml para cada placa de agar Mc Conkey



Dejamos secar el agar de 2 a 3 horas hasta que endurezca, y lo llevamos a la campana de bioseguridad para evitar contaminación de nuestras placas



Muestra de bacteria e.coli



Muestra de bacteria e.coli autoclavada



Esterilizamos el asa de siembra.

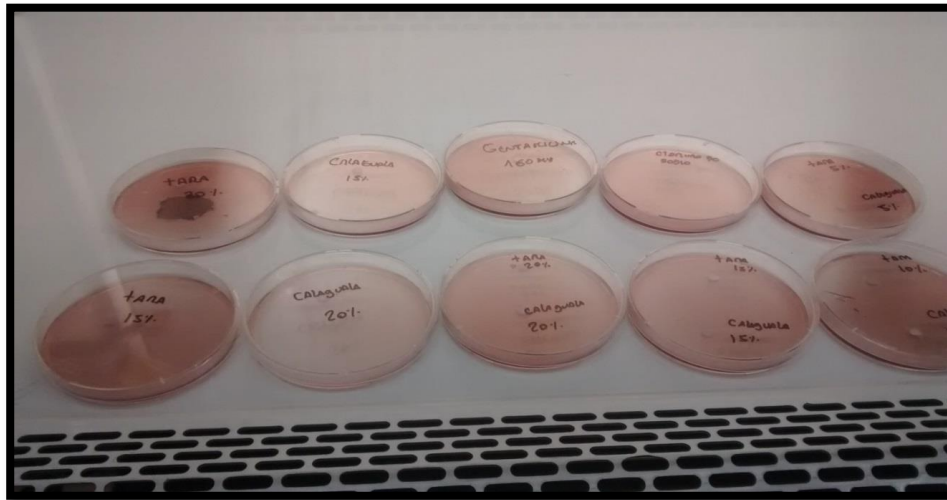


Con la ayuda del asa de siembra extraemos la muestra de e.coli.

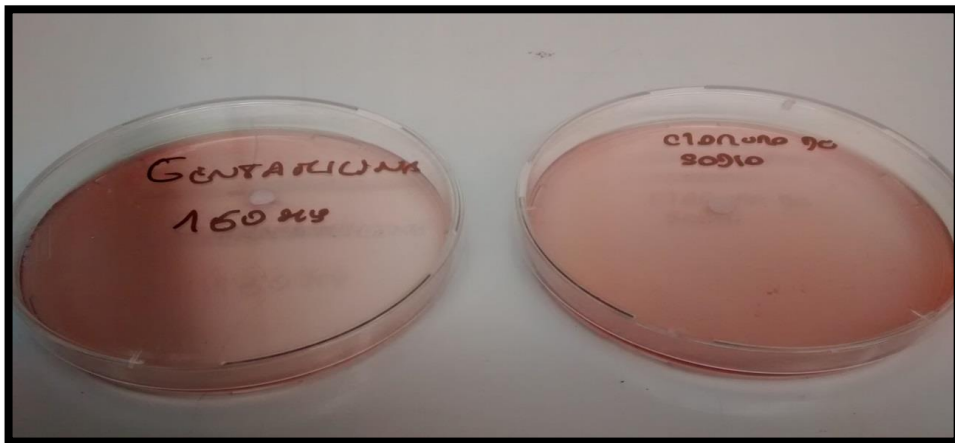


Procedemos a sembrar dentro de la cámara de bioseguridad.





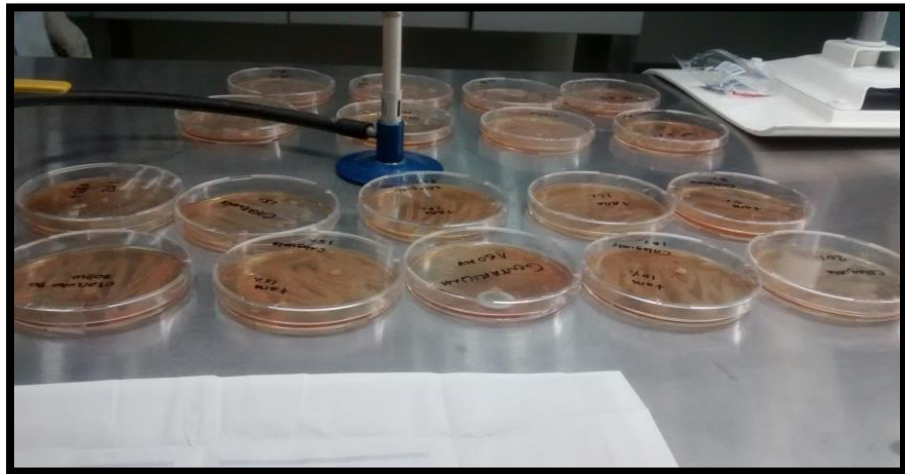
Dejamos las placas sembradas con e.coli
incubar 72 horas en la cámara de bioseguridad.



Placas con el control positivo (gentamicina) y
control negativo (cloruro de sodio).



Envolvemos las placas con papel crack.



Revelamos Después de 72 horas incubación de las placas con bacteria e.coli y realizados los sembrados con los extractos con las diferentes concentraciones

CONTROL POSITIVO



Muestra con gentamicina 80mg y 160mg

CONTROL NEGATIVO



Muestra con cloruro de sodio

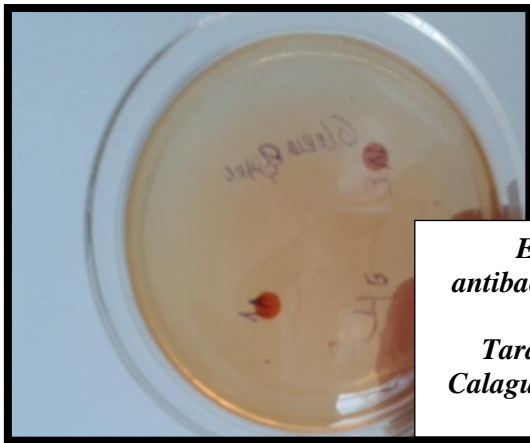
RESULTADO



**GENTAMICINA 80 mg
12mm**

**GENTAMICINA 160
mg
15mm**

*Halos de inhibición
desarrollados por
Discos de sensibilidad
impregnados con
Gentamicina sobre
Escherichia Coli*



**Efecto
antibacteriano al
2%
Tara 3.4mm
Calaguala 2.6mm**

*Halos de inhibición
desarrollados por Discos
de sensibilidad
impregnados con tara y
Calaguala sobre
Escherichia Coli*



**Efecto
antibacteriano al
5%
Tara 3.6mm
Calaguala
2.0mm**

*Halos de inhibición
desarrollados por Discos
de sensibilidad
impregnados con tara y
Calaguala sobre
Escherichia Coli*



*Halos de inhibición
desarrollados por Discos de
sensibilidad impregnados con
tara y Calaguala sobre
Escherichia Coli*

*Efecto antibacteriano al
10%
Tara 4.4 mm
Calaguala 2.4mm*



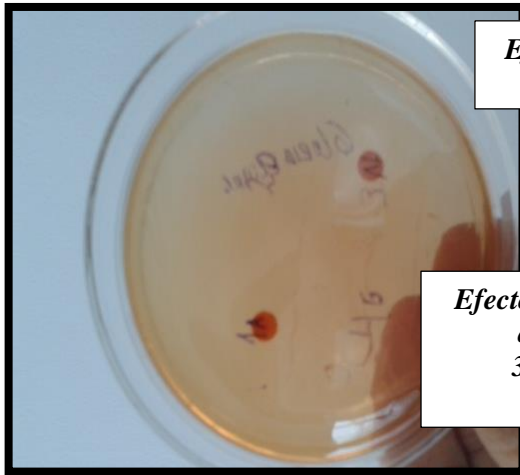
*Halos de inhibición
desarrollados por Discos de
sensibilidad impregnados con
tara y Calaguala sobre
Escherichia Coli*

*Efecto antibacteriano al
15%
Tara 4.6 mm
Calaguala 2.8 mm*



*Halos de inhibición
desarrollados por Discos de
sensibilidad impregnados con
tara y Calaguala sobre
Escherichia Coli*

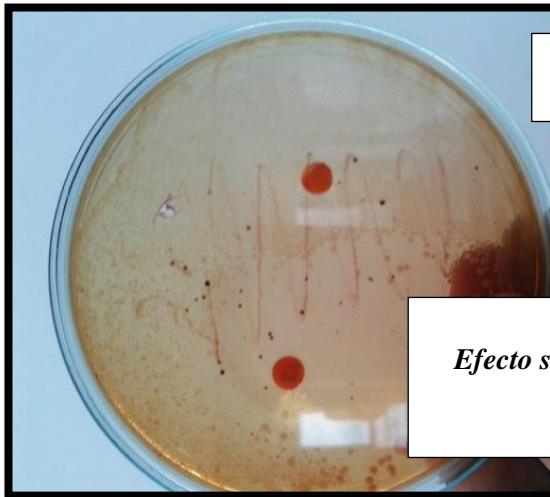
*Efecto antibacteriano al
20%
Tara 5.2 mm
Calaguala 2.2 mm*



*Efecto sinérgico al 2%
3.2mm*

*Efecto sinérgico
al 5%
3.0mm*

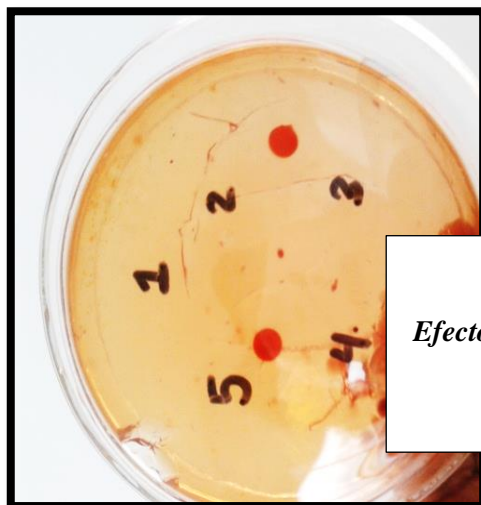
*Halos de inhibición
desarrollados por Discos de
sensibilidad impregnados con
tara y Calaguala sobre
Escherichia Coli*



*Efecto sinérgico al 10%
4.4 mm*

*Efecto sinérgico al 15%
3.8 mm*

*Halos de inhibición
desarrollados por Discos de
sensibilidad
impregnados con tara y
Calaguala sobre
Escherichia Coli*



*Efecto sinérgico al 20%
3.2 mm*

*Halos de inhibición
desarrollados por Discos de
sensibilidad impregnados
con tara y Calaguala sobre
Escherichia Coli*