

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Actividad antibacteriana de los extractos químicos de
Caesalpinia spinosa "tara" frente a *Streptococcus*
pyogenes ATCC 19615. Ayacucho - 2015.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA EN LA ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGÍA

Presentado por la:

Bach. HUASHUAYO ARRIARÁN, Lucymar Alexandra

AYACUCHO – PERÚ

2016

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
R.D N°061 - 2016 - UNSCH - FCB - D
Bach. Lucymar Alexandra HUASHUAYO
ARRIARÁN

En la ciudad de Ayacucho, a los diez días del mes de junio del dos mil dieciséis, siendo las cuatro horas de la tarde, reunidos en el Auditorium de la Biblioteca Central e Información Cultural de la U.N.S.C.H. bajo la Presidencia del Dr. Jesús De La Cruz Arango Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas y los miembros del jurado. Mg. Aurelio Carrasco Venegas, Blga. Ruth Elsa Huamán De La Cruz, asesora de la presente investigación, Mg. Rosa Grimaneza Guevara Montero, designado como cuarto Jurado y Blgo. César Justo Rodolfo Vargas, actuando como secretario docente de la F.C.B. reunidos para recepcionar el Trabajo de Tesis Titulado: "Actividad antibacteriana de los extractos químicos de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Ayacucho – 2015. Presentado por la Bach. Lucymar Alexandra Huashuayo Arriarán.

El presidente Dr. Jesús De La Cruz Arango, aperturó el presente acto académico invitando al secretario se sirva verificar la documentación presentada, no habiendo inconvenientes, el Presidente invitó a la Srta. Lucymar Alexandra Huashuayo Arriarán ah iniciar con la exposición y defensa de su trabajo de investigación, disponiendo para ello de cuarenta minutos de acuerdo al reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Finalizando la exposición, el Dr. Jesús De La Cruz Arango, presidente aperturó la estación de preguntas, aclaraciones y/o observaciones por parte de los miembros del jurado, invitando al cuarto jurado Mg. Rosa Grimaneza Guevara Montero, a iniciar con sus apreciaciones al presente trabajo de investigación, seguido por el Mg. Aurelio Carrasco Venegas, Blga. Ruth Elsa Huamán De La Cruz, asesora de la Tesis quien realizó algunas aclaraciones a las diversas interrogantes planteadas por los miembros del jurado, aceptándose las sugerencias y mejoras en la redacción final de la Tesis.

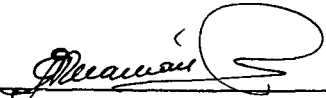
Culminando la estación de preguntas y aclaraciones por parte de la sustentante en la defensa de su trabajo de Tesis, el Presidente de la Comisión Evaluadora invitó a la sustentante y al público asistente abandonar temporalmente el auditorio para la deliberación de la aprobación y calificación de la Tesis por parte de los miembros del Jurado, siendo los resultados los siguientes:

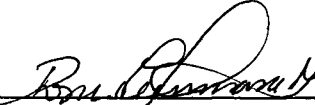
MIEMBRO DEL JURADO	EXPOSICIÓN	RESPUESTA A PREG.	PROMEDIO
Dr. Jesús De La Cruz Arango	16	16	16
Mg. Aurelio Carrasco Venegas	17	15	16
Blga. Ruth Elsa Huamán De La Cruz	17	17	17
Mg. Rosa Grimaneza Guevara Montero	16	15	16
PROMEDIO GENERAL			16


La sustentante obtuvo el promedio final de dieciséis (16) como nota probatoria. Finalmente el Presidente invitó a la sustentante y al público asistente a reingresar al auditorium a fin de conocer los resultados del proceso de evaluación, finalizando el acto académico siendo las seis horas, firmando al pie del presente acta como signo de conformidad.


Dr. Jesús De La Cruz Arango
PRESIDENTE


Mg. Aurelio Carrasco Venegas
MIEMBRO


Blga. Ruth Elsa Huamán De La Cruz
MIEMBRO – ASESOR


Mg. Rosa G. Guevara Montero
MIEMBRO


Blgo. Cesar Justo Rodolfo Vargas
SECRETARIO - DOCENTE

Hayde y Guillermo, los seres que
más amo en este mundo: mis padres,
por ser la fuente de inspiración y
motivación para superarme cada día

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, *Alma Mater*, forjadora de profesionales competentes y de calidad humana al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y a la Escuela Profesional de Biología y a toda su plana docente por los conocimientos impartidos durante mi formación académica profesional.

A la Blga. Ruth Huamán De La Cruz, docente de la Escuela Profesional de Biología de la UNSCH, asesora del presente trabajo de investigación, por su apoyo y colaboración en el desarrollo de este trabajo de investigación.

Al Mg. Aurelio Carrasco Venegas, docente de la Escuela Profesional de Biología de la UNSCH, por el apoyo, sugerencias y ayuda brindada.

Al Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo, docente de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la UNSCH por sus sugerencias y observaciones.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	01
II. MARCO TEÓRICO	03
2.1. Antecedentes	03
2.2. <i>Caesalpinia spinosa</i> "TARA"	04
2.3. Principios activos	05
2.4. Actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal	06
2.5. Metodologías para evaluar la actividad antibacteriana	06
2.6. Halo de inhibición	08
2.7. Concentración mínima inhibitoria CMI	08
2.8. Concentración mínima bactericida CMB	08
2.9. Antibiótica	08
2.10. Antibióticos naturales	09
2.11. <i>Streptococcus pyogenes</i>	10
2.12. Cepas ATCC	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Lugar de ejecución	13
3.2. Materiales	13
3.3. Diseño metodológico	13
3.3.1. Preparación de la muestra	13
3.3.2. Obtención de los extractos	14
3.3.3. Determinación de la actividad antimicrobiana	14
3.3.4. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)	16
3.3.5. Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB)	16
3.4. Tipo de investigación	16
3.5. Análisis estadístico	17
IV. RESULTADOS	19

V.	DISCUSIÓN	25
VI.	CONCLUSIONES	29
VII.	RECOMENDACIONES	31
VIII.	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	33
IX.	ANEXOS	35

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Porcentaje de inhibición del extracto acuoso y etanólico de vainas y semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" frente al estándar de eritromicina.	23
Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y Concentración mínima bactericida (CMB) del extracto acuoso de vaina de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" a 500 mg/ml.	24

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Promedio de los diámetros del halo de inhibición del extracto acuoso de la vaina de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" a diferentes concentraciones.	20
Figura 2. Promedio de los diámetros del halo de inhibición del extracto etanólico de la vaina de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" a diferentes concentraciones.	21
Figura 3. Promedio de los diámetros del halo de inhibición del extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" a diferentes concentraciones.	22

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Halos de inhibición de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 frente al extracto acuoso de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" con cinco repeticiones.	36
Anexo 2 Halos de inhibición de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 frente al extracto etanólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" con cinco repeticiones.	37
Anexo 3 Halos de inhibición de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 frente al extracto etanólico de semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" con cinco repeticiones.	38
Anexo 4 Promedio de halos de inhibición de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 frente al extracto acuoso y etanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara".	39
Anexo 5 Análisis de varianza del extracto acuoso de la Vaina de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" vs. Concentración.	40
Anexo 6 Análisis de varianza del extracto etanólico de la Vaina de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" vs. Concentración.	41
Anexo 7 Análisis de varianza del extracto etanólico de la semilla de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" vs. Concentración.	42
Anexo 8 Protocolo para la obtención de los extractos acuoso y etanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara".	43
Anexo 9 Protocolo para la determinación antibacteriana por el método de difusión de pozos en agar.	44
Anexo 10 Protocolo para la determinación de la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida.	45
Anexo 11 Vainas y semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara".	46
Anexo 12 Tamizaje fotoquímico de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara".	47
Anexo 13 Certificado taxonómico de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara".	48
Anexo 14 Cepa bacteriana comercial de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.	49
Anexo 15 Certificado de cepa bacteria <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	50
Anexo 16. Vainas y semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" separadas.	51

Anexo 17.	Incorporación de las vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" en frascos oscuros.	52
Anexo 18.	Resultado final del proceso de evaporación de los diferentes tipos de extractos (masa compacta).	53
Anexo 19.	Materiales para la reactivación de la cepa de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.	54
Anexo 20.	Crecimiento de colonias de <i>Streptococcus pyogenes</i> después de ser incubadas por 18 horas.	55
Anexo 21.	Incorporación de las diferentes concentraciones de los extractos en los pozos correspondientes.	56
Anexo 22.	Placa con halos de inhibición después de su incubación.	57
Anexo 23.	Tubos con las diluciones correspondientes para observar la concentración mínima inhibitoria.	58
Anexo 24.	Placas con y sin crecimiento bacteriano para evaluar la concentración mínima bactericida.	59
Anexo 25.	Matriz de consistencia	60

RESUMEN

Se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos acuoso y etanólico de las vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga en los meses de agosto, setiembre y octubre del 2015. El uso empírico de la tara en el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio superior; garganta (faringe), nos permite deducir que esta planta tiene efecto antibacteriano sobre la bacteria que lo causa en este caso *Streptococcus pyogenes*. La actividad antibacteriana fue determinada con el Método de Difusión de Pozos en Agar, se utilizó concentraciones de 500 mg/ml, 400 mg/ml, 300 mg/ml, 200 mg/ml y 100 mg/ml de extracto acuoso y etanólico, agua destilada como control y eritromicina a 0,0015 mg/m como estándar. La concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) se determinó por el Método de Dilución en Caldo. El tipo de investigación fue experimental, utilizando el análisis estadístico de ANVA factorial al 95 % de confianza y su prueba complementaria de Tukey. Mostró mayor sensibilidad el extracto acuoso de vainas a una concentración de 500 mg/ml obteniendo así 15,7 mm de diámetro de halo de inhibición, de esta manera se pudo llegar a la conclusión de que el extracto acuoso y etanólico de vainas presenta una modera actividad antibacteriana mas no así el extracto etanólico de semillas; la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida fueron de 1,95 mg/ml y 3,90 mg/ml respectivamente.

Palabras clave: Actividad antibacteriana, *Caesalpinia spinosa*, Método de Pozos en Agar, *Streptococcus pyogenes*, ATCC.

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú, existe una gran variedad botánica con posibles usos medicinales en base a conocimientos empíricos sobre su uso terapéutico. Estos conocimientos para ser validados deben ser probados experimentalmente y ello conlleva a un proceso científico¹.

Existe la necesidad imprescindible de atender los diferentes problemas de salud en nuestra población peruana, principalmente en las zonas rurales y urbano marginales; demanda no atendida que se debe a varios factores, entre ellos la cobertura insuficiente que brinda el Ministerio de salud, el déficit económico de la población más pobre que le impide destinar recursos para la atención de salud y por último la poca importancia que se da a la medicina tradicional andina².

La aparición y propagación de la resistencia microbiana está creciendo cada día, por consiguiente se necesita el desarrollo de nuevos antimicrobianos de origen natural o sintético³.

Caesalpinia spinosa "Tara", se integra como parte de las plantas medicinales gastroenterológicas para curar úlceras, cicatrizante por sus efectos astringentes, antiinflamatorios, antisépticos, antidiarreicos, antimicóticos, antibacterianos, antiescorbútics y odontálgicos. Es utilizada, muy frecuentemente en la medicina tradicional para aliviar principalmente malestares en la garganta, sinusitis, infecciones vaginales y micóticas⁴.

Teniendo en cuenta que en nuestra región son recurrentes las enfermedades de las vías respiratorias, ya que estas bacterias causantes de estas enfermedades se están volviendo resistentes a los antibióticos comunes por el uso irracional de los mismos, en el presente trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general.

Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos químicos de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Objetivos específicos

- Determinar el porcentaje de inhibición del extracto etanólico y acuoso de las vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente al estándar de eritromicina.
- Determinar la Concentración Mínima Bactericida y Concentración Mínima inhibitoria para *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, utilizando los extractos de las vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Gutiérrez⁵, Evaluó el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la *Caesalpinia spinosa* "tara" ya que presentó actividad antibacteriana viendo que todos los discos presentaron halo de inhibición, y los tamaños de estos aumentaron en relación directamente proporcional a las concentraciones utilizadas. Empleó también el Método de dilución en tubos, ensayando concentraciones de 60 %, 40 %, 20 % y 10 % del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa*. Todas las concentraciones presentaron efecto inhibitorio del crecimiento de *Enterococcus faecalis*. La concentración mínima inhibitoria hallada fue la del 40 %. Concluyó que el extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" posee actividad inhibitoria *in vitro* sobre el crecimiento de cepas de *Enterococcus faecalis*.

Liu⁶ y col, Hicieron estudios de actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de las vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* utilizando cepas Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*) y Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebselia* sp. y *Shigella flexner*) mediante la técnica de difusión con discos. Los extractos fueron preparados usando como solvente alcohol-acetona (1:1). Observó actividad inhibitoria sobre cepas Gram positivas para el extracto de la vaina de tara más no para el de la semilla.

De La Cruz⁷, Determinó el efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* "tara" sobre la viabilidad de *Streptococcus* B hemolítico. En este trabajo mostró como resultado que la actividad antibacteriana del extracto de *Caesalpinia spinosa* frente a *Streptococcus* β hemolítico aumenta a medida que se eleva (25 % a 100 %) la concentración del extracto.

Añanca⁸, Determinó el efecto antibacteriano del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa*, en concentraciones que corresponden a 17,5 ; 16,25 ; 15 ; 13,75 ; 12,5 ; 11,25 ; 10 ; 8,75 ; 7,5 ; 6,25 $\mu\text{g/ml}$, en cepas de *Staphylococcus*

aureus y *Streptococcus pyogenes*, usó inóculos estandarizados con el Nefelómetro de Mc Farland Nº 0,5. Observó que se inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* cuya concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 13,7 µg/ml y la concentración mínima letal (CMB) fue de 16,25 µg/ml. Concluyendo que el extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* "tara" tiene actividad antibacteriana *in vitro* contra *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus*.

Llantoy⁹, Evaluó la actividad antibacteriana de los extractos etanólico y acuoso de las hojas y flores de *Schkuria pinnata* "piquipichana" frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. En esta tesis se observó mayor actividad antibacteriana en el extracto etanólico de flores con un diámetro de 24,3 mm para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y para *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 un diámetro de 17,1 mm de halo de inhibición.

2.2. *Caesalpinia spinosa* "tara"

Descripción botánica de *Caesalpinia spinosa* "tara" depositada en el Museo de Historia Natural de la UNMSM²³

- Arbusto: De dos a tres metros de altura de fuste corto, cilíndrico, a veces tortuoso, coloración gris, glabro áspero provisto de aguijones, triangulares aplanados, ramas delgadas pobladas iniciándose casi desde la base, dando la impresión de varios tallos, la parte apical es irregular, con ramitas terminales, con sección circular, de cuatro a seis cm de diámetro, aparasolada poco densas, glabras y con aguijones dispersos.
- Hojas: Compuestas bipennadas, alternas, dispuestas en espiral, peciolo hasta de dos a tres cm, raquis de tres a siete cm de longitud, dos a tres pares de pinnas opuestas, foliolos de siete a ocho pares opuestos oblongos, el ápice marginado, diminutamente mucronado, base asimétrica, glabra, nervaduras secundarias de siete a ocho pares.
- Flores: Hermafroditas, zigomorfas, cáliz tubular, púber con segmentos obtusos, de tres mm de longitud, el superior con fibras pectinadas, corola con cinco pétalos libres, amarillos, orbiculares, espatulados o raramente oblongos, estambres, filamentos filosos o glandulares, blancos, anteras rojizas, con dehiscencia longitudinal, pistilo curvado verdoso.
- Frutos: Legumbres rojizas, oblongas, ligeramente comprimidas de seis a once cm de longitud, indehiscentes de color rosado, con el mesocarpio arenoso,

esponjoso, de cinco a doce semillas de aproximadamente 1 x 0,5 x 0,3 cm, reniformes, de color marrón pardo con la superficie lustrosa dura, y con uno de los dos lados más grande.

Distribución y hábitat

El Perú es el país que tiene mayor área de bosques de tara, con el 80 % de la producción mundial, seguido muy de lejos por Bolivia, Colombia, Chile, Ecuador y Venezuela. También es cultivada en el norte y este de África, Estados Unidos, Brasil y Argentina.

En el Perú, se encuentra en los valles interandinos secos entre 1000 y 3100 msnm, los departamentos de mayor producción son Cajamarca (41 %), Ayacucho (16 %), La Libertad (13 %), Huánuco (13 %), también se reporta su presencia en Huancavelica, Apurímac y Ancash, habiendo nuevas iniciativas en Ica y Lambayeque. En Lima (provincia de Cañete) ya se está cultivando tara orgánica en un arenal en el kilómetro 150 de la Panamericana Sur¹⁰.

Aprovechamiento

El aprovechamiento de esta planta *Caesalpinia spinosa* "tara" es increíble se puede aplicar en diferentes áreas²⁴.

Medicinal: Actúa al aliviar malestares de la garganta como la faringitis, al hacer gárgaras con la infusión de las vainas maduras y como cicatrizante cuando se lavan las heridas con dicha infusión. Además, la tara es utilizada contra la gripe y la fiebre.

Tintes: Las vainas de la tara contienen una sustancia llamada tanino, la cual es utilizada para teñir de color negro y las raíces sirven para teñir de color azul oscuro.

Curtiente: Debido a su alto contenido de tanino, se le emplea en el curtido de cueros.

Cosmético: El cocimiento de las hojas se utiliza para evitar la caída del cabello.

Agroforestería: La tara es usada como cerco vivo y para el manejo de rebrotes.

Plaguicida: El agua de la cocción de las vainas secas es efectiva contra piojos e insectos.

2.3. Principios activos

Los principios activos son las sustancias a la cual se debe el efecto farmacológico de un medicamento¹¹.

Para lograr una concentración adecuada de los principios activos contenidos en las plantas y que su acción sea más efectiva es necesario realizar diversos

procedimientos mediante los cuales sean extraídos, con solventes adecuados que se seleccionan de acuerdo a la solubilidad y la estabilidad que posean las sustancias beneficiosas. Los métodos de extracción permiten obtener los productos en formas farmacéuticas adecuadas para su administración oral o externa de acuerdo al lugar de acción que se recomiende. Estas preparaciones son conocidas como: decocciones, infusiones, extractos fluidos, densos o secos (según su contenido de líquidos) y las tinturas. Previo a los tratamientos de extracción la planta debe limpiarse con cuidado para evitar contaminaciones con otras plantas o partículas mecánicas ajenas al objetivo que es la extracción de las sustancias utilizando un solvente adecuado al cual llamaremos menstruo¹¹.

2.3.1. Principal métodos de extracción

Maceración

El material vegetal tiene que estar en forma de trozos o polvo, y se deja reposar por tres o más días en una solución de agua o de alcohol en oscuridad, con agitación constante hasta completar la extracción del material vegetal aproximadamente por 7 días.

Al final de este período se realiza la filtración que consiste en la separación de la parte líquida y sólida a través de un papel filtro. La maceración se realiza a temperatura ambiente, las soluciones o los líquidos macerantes que con más frecuencia se utilizan son el agua y el alcohol o una combinación de ambos, aunque también pueden emplearse vinos tintos o blancos. La maceración en agua no debe alargarse por mucho tiempo pues puede presentar contaminación por hongos, lo cual no sucede en las soluciones de alcohol o hidroalcohólicas. El tiempo total de maceración depende del tipo de planta, parte de la misma o del principio activo a extraer¹¹.

2.4. Actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal

Desde tiempos prehistóricos el hombre ha utilizado plantas con fines medicinales (curativos y preventivos), alimenticios y cosméticos. Actualmente, especies de plantas promisorias de uso etnofarmacológico son fuentes de información para el descubrimiento de posibles sustancias con importante actividad biológica¹².

2.5. Metodologías para evaluar la actividad antibacteriana

Diferentes métodos de laboratorio pueden ser usados para determinar *In vitro* la susceptibilidad de bacterias ante agentes microbianos, los métodos para evaluar la actividad antibacteriana están clasificados, en dos grupos principales: Métodos de difusión y métodos de dilución¹².

2.5.1. Métodos de difusión

La técnica está basada en el método originalmente descrito por Bauer et al., (método de Kirby-Bauer). Este método de difusión en disco o en pozo fue estandarizado y es actualmente recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS, de Estados Unidos. El fundamento de este ensayo es establecer, en forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayados individualmente, sobre las cepas bacterianas que se aíslan de procesos infecciosos. El método se basa en la relación entre la concentración de una sustancia necesaria para inhibir el crecimiento de una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrando homogéneamente la bacteria a ensayar y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro, o se ha sembrado en pozo de 6 mm de diámetro incorporando una cantidad conocida de la sustancia a evaluar. En el caso de evaluar varias sustancias los discos de papel filtro o los pozos deben ponerse en forma equidistante. Luego se procede a su incubación a una temperatura adecuada según el microorganismo por 24 horas luego se mide el halo de inhibición y se comparan los efectos de las distintas sustancias sobre el microorganismo estudiado, con el antibiótico control. La lectura de los resultados representa la actividad *In vitro* de la sustancia¹³.

2.5.2. Métodos de dilución

El método de dilución en agar o en caldo como test de susceptibilidad microbiana es utilizado para determinar la concentración mínima bactericida (MBC) y la concentración mínima inhibitoria (MIC), la cual es definida como la concentración más baja de una sustancia que puede inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de incubarlo por 24 horas, y la (MBC) como la concentración más baja que puede prevenir el crecimiento de un organismo después de subcultivar en un medio libre del compuesto evaluado estas variables son una herramienta para investigar nuevos antimicrobianos. En la técnica de dilución en caldo, son utilizados tubos o microplacas (microdilución) que contienen concentraciones decrecientes del extracto vegetal. El microorganismo en estudio es inoculado en los diferentes tubos o pozos de las microplacas y la MIC es determinada después de la incubación. Los métodos de microdilución en caldo son una técnica útil para determinar MIC, en un gran número de muestras. La ventaja sobre los métodos de difusión radica en un

aumento de la sensibilidad para cantidades pequeñas, lo cual es importante cuando se trabaja con productos naturales, además permite diferenciar entre un efecto bactericida o bacteriostático¹⁴

2.6. 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 la bacteria. Es una medida de la potencia del antibiótico frente a la bacteria¹⁴.

2.7. Concentración mínima inhibitoria (CMI)

En microbiología, es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de su incubación. La concentración mínima inhibitoria es importante en diagnósticos de laboratorio para confirmar la resistencia de microorganismos a un agente antimicrobiano y además para monitorizar la actividad de los nuevos agentes antimicrobianos¹⁴.

2.8. Concentración mínima bactericida (CMB)

Es la mínima cantidad de antibiótico capaz de destruir el 99,9 % de una muestra de microorganismo inoculada en condiciones estandarizadas¹⁴.

2.9. Antibiótico

Son sustancias químicas derivadas o producidas por microorganismos (bacterias, hongos, actinomicetos) que tienen la capacidad, a bajas concentraciones de inhibir el desarrollo o matar a las bacterias que causan una enfermedad. Sin embargo hoy en día además de los antibióticos naturales tenemos a los antibióticos sintéticos y a los semisintéticos¹⁵.

Eritromicina

La eritromicina es un antibiótico producido por un microorganismo que fue originariamente aislado de una muestra de suelo colectado en la isla de Panay, en las Filipinas, e identificado basándose en su morfología, características de cultivo y fisiología como una cepa de *Streptomyces erythreus* (actualmente *Saccharopolyspora erythraea*)¹⁶.

Características

La eritromicina es el primer representante de los antibióticos del grupo de los macrólidos. Su descubrimiento fue anunciado en 1952 por Mc Guire, los cuales mostraron sus propiedades físicas, químicas, así como su actividad antibacteriana. Cuando se extrae con reactivos adecuados del filtrado, el antibiótico se obtiene en forma cristalina como un compuesto básico de color blanco o amarillo suave, soluble en agua hasta 2 mg/ml, aunque es muy soluble

en alcohol y otros solventes orgánicos como acetona, cloroformo, acetonitrilo y acetato de etilo. La eritromicina es una polihidroxacetolactona cuya fórmula molecular es $C_{37}H_{67}NO_{13}$ y su peso molecular es 733. En su molécula hay un aminoazúcar, desosamina y un azúcar sin nitrógeno, que es la cladinosa, unidos ambos a un anillo lactónico macrocíclico. En solución saturada acuosa posee un pH de 9. La absorción máxima de la eritromicina A al UV es a 278 nm¹⁶.

Modo de acción

La Eritromicina se ha usado para el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio superior, la piel y tejidos blandos causados por microorganismos susceptibles (principalmente cocos Gram positivos), y especialmente en pacientes alérgicos a las penicilinas¹⁷.

En sus diversos trabajos Dipalma encontró que la eritromicina inhibe la formación de la unión del péptido entre el aminoácido en el RNAt y la cadena de péptidos que crecen, al igual que el cloranfenicol y lincomicina. Estas tres drogas, aunque químicamente diferentes, tienen una acción similar en la inhibición de la síntesis de proteínas. El mecanismo de acción de la eritromicina frente a las bacterias Gram negativas se ve disminuido debido a la incapacidad del antibiótico a penetrar a través de la pared celular. A bajas concentraciones es bacteriostático, y a altas concentraciones es bactericida. Mc Guire, Bunch y Anderson encontraron que el LD50 de la eritromicina, administrándose por vía subcutánea, es de 1 800 mg/kg. No tiene efecto significativo en el sistema cardiovascular ni en la composición de la sangre; no cambia la función hepática y durante una administración prolongada no hay efecto vascular; sin embargo, administrándose intramuscularmente, se observa una moderada acción irritante local¹⁷.

2.10. Antibióticos naturales

Los antibióticos naturales son aquellos remedios procedentes del mundo vegetal que son capaces de inhibir el crecimiento del microorganismo o de eliminarlos por completo, son aquellos remedios naturales capaces de evitar o curar muchas enfermedades. Los antibióticos se pueden diferenciar de los antibióticos sintéticos, es decir por aquellos producidos por síntesis en el laboratorio en las siguientes características¹⁸.

- No tienen efectos secundarios: En general, por ejemplo no producen reacciones alérgicas o sensibilidad en el estómago.

- No afectan a los microorganismos beneficiosos para el organismo, por ejemplo, aquellos que son necesarios en la microbiota intestinal.
- No resultan peligrosos por acumulación.
- Son más baratos y fáciles de conseguir.

2.11. *Streptococcus pyogenes*

Descripción del patógeno

Los estreptococos del grupo A crecen como células esféricas u ovoides de 0,6 - 1 µm de diámetro y aparecen como parejas o cadenas de tamaño corto o moderado en las muestras clínicas. Cuando crecen en los medios líquidos con suplemento de suero o sangre, forman con frecuencia cadenas largas y muchas cepas producen cápsulas mucosas constituidas por ácido hialurónico. Los microorganismos son positivos con la tinción de Gram, inmóviles, no forman esporas, no producen catalasa y son anaerobios facultativos¹⁹.

Esta especie es exigente desde el punto de vista nutricional y, generalmente, se cultiva en medios enriquecidos con sangre o suero. *Streptococcus pyogenes* da lugar a colonias blancas o grises de 1 a 2 mm de diámetro, rodeadas de zonas de lisis completa de los eritrocitos presentes en el medio de cultivo (hemólisis tipo β), aunque es posible en raras ocasiones aislar cepas que no expresan la hemolisina en la superficie. Algunas cepas, las que producen en grandes cantidades ácido hialurónico capsular, crecen con la apariencia de una gota de agua en la placa, pero esto ocurre también de forma excepcional. Por lo general las cepas menos mucosas asumen un aspecto arrugado denominado mate, mientras que las colonias pequeñas y opacas que carecen de cápsula y proteína M detectable se denominan brillantes. *Streptococcus pyogenes* es incapaz de oxidar azúcares y posee un metabolismo fermentativo de la glucosa y otros carbohidratos produciendo ácido láctico, aunque nunca gas. Produce además leucina-aminopeptidasa (LAP) y pirrolidonil-arilamidasa (PYR). Esta última característica rara vez es compartida por otros miembros de su mismo género. Además, es uniformemente sensible a la bacitracina y eritromicina¹⁹.

No obstante, el cuadro clínico más frecuente causado por *Streptococcus pyogenes* es la faringitis. Se caracteriza por dolor faríngeo seguido de fiebre, cefalea, náuseas y vómitos. En la exploración física aparece un eritema faríngeo, acompañado de un exudado blanquecino faringoamigdalario en forma de punteado, que tiende a confluir en grandes placas que rellenan las criptas, a veces con aspecto serosanguinolento y adenopatías cervicales de localización

anterior y de tamaño moderado. En general, las secuelas de la infección no tratada pueden ser de tipo supurativas o no supurativas ¹⁹.

2.12. Cepas ATCC

Es un material biológico de referencia certificado. La colección certifica que se suministra una determinada cepa, que es un cultivo puro y que se han observado las convenientes pruebas morfológicas, bioquímicas y moleculares correspondientes. También son microorganismos definidos, por lo menos a nivel de género y especie, catalogado, caracterizado y de origen conocido²⁰.

ATCC: Cepas de Colección de Tipo Americano.

Utilidad de los cultivos de referencia ATCC

- Evaluar la calidad de los medios de cultivo.
- Asegurar la calidad de los resultados de ensayos de laboratorio (coloraciones y desempeño de reactivos)
- Validar métodos microbiológicos.(Pruebas de Sensibilidad)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas

3.2. MATERIALES

3.2.1. Muestra

Las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" fueron recolectadas al azar durante el mes de setiembre entre las 8 a 10 am en la localidad de Muyurina, distrito de Jesús Nazareno, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicado a 2670 msnm. Las muestras recolectadas fueron aquellas que alcanzaron un buen desarrollo biológico (maduras).

3.2.2. Cepa bacteriana

La cepa bacteriana utilizada para determinar la actividad antibacteriana de los extractos acuoso, etanólico de vainas y semillas fue la de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 Grupo A, adquirida del laboratorio comercial certificado Microbiologics con el apoyo de la Clínica el Nazareno de la ciudad de Ayacucho.

3.3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.3.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Desecación y estabilización

Las vainas y semillas de la especie vegetal fueron sometidas a un tratamiento de limpieza y selección para eliminar todo elemento extraño, luego fueron desecados a la sombra, extendiéndolas aproximadamente por un periodo de 6 semanas y posteriormente se procedió a la estabilización en la estufa a 40°C por 4 horas⁹.

Molienda

Una vez secas se seleccionaron y separaron las semillas de las vainas, para ser molidas por separado, las vainas con la ayuda de un mortero de porcelana y las

semillas con ayuda de un molino, luego fueron tamizadas empleando una malla de 3 mm de diámetro aproximadamente, para obtener un polvo fino⁹.

3.3.2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Extracto etanólico

Se pesó 1 Kg de vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara" pulverizadas por separado, se le agregó 5 litros de alcohol etílico de 96°, esta combinación fue macerada en frascos oscuros por un periodo de 7 días con agitación diaria. Después de haber transcurrido los 7 días se filtró y se procedió a concentrar utilizando la estufa a 37°C hasta obtener un estado de miel, luego fue conservado en el refrigerador a una temperatura de 8°C hasta realizar las diferentes pruebas⁹.

Extracto acuoso

Se pesó 1 Kg de vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" pulverizadas, se le agregó 5 litros de agua destilada estéril hirviendo, obteniéndose así un extracto por infusión de vainas, éste preparado fue macerando en un frasco oscuro por 7 días con agitación diaria. Después de transcurrido los 7 días se filtró en un sistema al vacío y se procedió a concentrar en la estufa a 37°C hasta obtener un estado de miel, luego fue conservado en el refrigerador a una temperatura de 8°C hasta realizar las diferentes pruebas⁹.

3.3.3. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Para la determinación de la actividad antibacteriana de los extractos etanólico y acuoso de las vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara", frente a la bacteria en estudio, se utilizó el Método de Difusión de Pozos en Agar²¹.

Preparación de la muestra vegetal

Se pesó 5 g de extracto concentrado acuoso y etanólico de las vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara" por separado en diferentes frascos, luego se agregó 10 ml de agua destilada estéril en cada frasco para disolverlos, obteniéndose una concentración de 500 mg/ml. Luego se procedió a realizar las diversas concentraciones decrecientes (400 mg/ml, 300 mg/ml, 200 mg/ml y 100 mg/ml) a partir de la primera concentración⁹.

Activación de la cepa

Para este caso se utilizaron placas Petri, conteniendo agar Sangre para *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, el cual fue reactivado en este medio, la siembra fue por estrías luego se incubó a 37°C por 18 horas en condiciones de anaerobiosis, de esta manera se obtuvo un cultivo joven²².

Preparación del medio de cultivo

Se preparó el agar Mueller Hinton a partir de la base deshidratada de acuerdo a las instrucciones del fabricante; se esterilizó y se dejó enfriar en baño de agua hasta que alcanzó los 45°C, luego se le adicionó 5 % de sangre de carnero previamente desfibrada luego se procedió a plaquear en placas estériles en una superficie horizontal y nivelada, de manera que el grosor del agar en la placa sea de 4 mm aproximadamente, el agar se dejó solidificar por un tiempo suficiente para que se enfríe y la humedad en exceso se evapore⁹.

Preparación del inóculo

A partir de las cepas jóvenes, se preparó el inóculo, para esto se transfirió una asada de la bacteria joven a un tubo conteniendo solución salina fisiológica al 0,9 % hasta alcanzar la turbidez del estándar de 0,5 de la escala de Mc Farland⁹.

Preparación de placas

Una vez solidificado el agar y con la ayuda de un hisopo estéril empapado de inóculo se sembró en tres direcciones diferentes con el cual tendremos una distribución uniforme por toda la superficie del agar y una siembra en tapete, se dejó reposar por un periodo de 5 minutos, transcurrido este tiempo se procedió a realizar los pozos en el agar con ayuda de un sacabocado de 6 mm de diámetro, realizando 5 orificios equidistantes en cada placa⁹.

Inoculación del extracto

Finalmente en cada pozo rotulado previamente se agregó 100 µl de las diferentes concentraciones del extracto acuoso y etanólico de las vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara", una vez realizado este proceso se dejó difundir por un espacio de una hora temperatura ambiente⁹.

Incubación

Las placas con *Streptococcus pyogenes* fueron incubadas en posición invertida a 37°C por 24 horas en cámara de anaerobiosis⁹.

Lectura de placas

Después del tiempo de incubación, se procedió a examinar cada placa y se midió los diámetros de los halos de inhibición completa alrededor de cada pozo, empleando para ello una regla milimetrada o un halometro⁹.

Cálculo del porcentaje de inhibición

Una vez obtenidas las medidas de los diámetros de los halos de inhibición se procedió a realizar los cálculos, en este caso para determinar el porcentaje de inhibición, se utilizó la siguiente fórmula⁹:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Diámetro del halo de inhibición del extracto}}{\text{Diámetro del halo de inhibición del control positivo}} \times 100$$

3.3.4. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)²²

Procedimiento

- Se preparó 15 tubos de ensayo previamente esterilizadas y rotuladas del 1 al 15.
- A partir del tubo 1 hasta el tubo 15, se agregó 1 ml de caldo Mueller Hinton con 5 % de sangre de cordero.
- Posteriormente se agregó 1 ml del extracto al tubo 1, a partir del cual se traspasó 1 ml al tubo 2 y así sucesivamente hasta el tubo 14, del cual se tomó 1 ml y se descartó. El tubo 15 no recibió extracto, siendo este el control.
- Luego se agregó 1 ml de inóculo de la cepa bacteriana a todos los tubos y se llevó a incubación a 37°C por 18 horas.

Se considera CMI como la concentración correspondiente al tubo donde no hubo desarrollo bacteriano, demostrándose por la ausencia de turbidez.

3.3.5. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)²².

Procedimiento

Para determinar la Concentración Mínima Bactericida se consideró a partir de la Concentración Mínima Inhibitoria, de la siguiente manera:

- Se prepararon 15 placas con Agar Sangre rotuladas previamente del 1 al 15.
- Se incorporó 0,5 ml de caldo de cada tubo (CMI) en cada placa correspondiente.
- Con la ayuda de una espátula de Drigalsky se diseminaron los caldos en las placas.
- Posteriormente se incubarán a 37°C por 24 horas en condiciones de anaerobiosis.
- Se observó el crecimiento de las colonias.

Se considera CMB verificando en cuál de las placas ya no hubo crecimiento de la cepa bacteriana.

3.4. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Experimental

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con los datos obtenidos del total de halos de inhibición (mm) con la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente a los extractos etanólico y acuoso de vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara", se procedió a determinar la existencia de posibles diferencias entre los tratamientos, utilizando el análisis estadístico de ANVA factorial al 95 % de confianza y su prueba complementaria de Tukey.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con los datos obtenidos del total de halos de inhibición (mm) con la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente a los extractos etanólico y acuoso de vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara", se procedió a determinar la existencia de posibles diferencias entre los tratamientos, utilizando el análisis estadístico de ANVA factorial al 95% de confianza y su prueba complementaria de Tukey.

IV. RESULTADOS

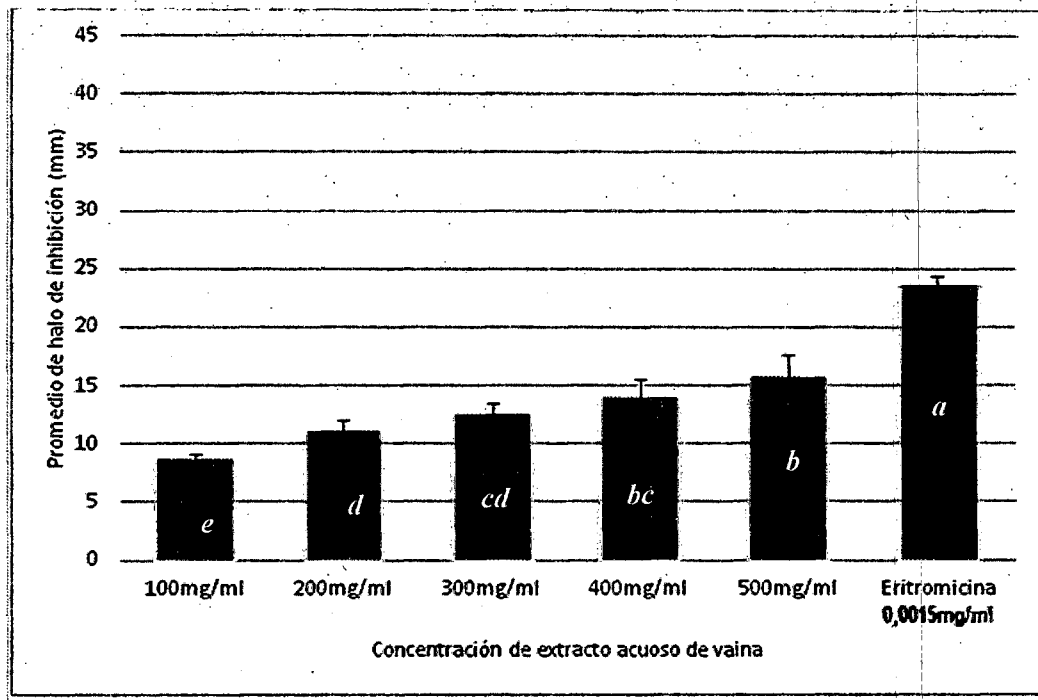


Figura 1. Promedio de los diámetros del halo de inhibición del extracto acuoso de vaina de *Caesalpinia spinosa* "tara" a diferentes concentraciones.

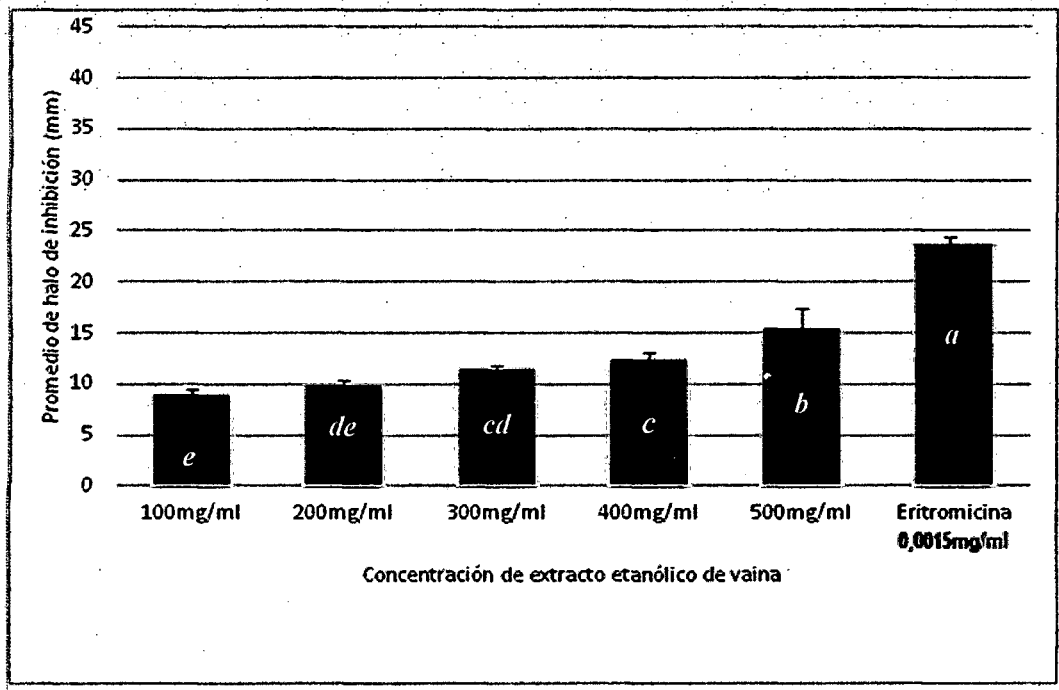


Figura 2. Promedio de los diámetros del halo de inhibición del extracto etanólico de vaina de *Caesalpinia spinosa* "tara" a diferentes concentraciones.

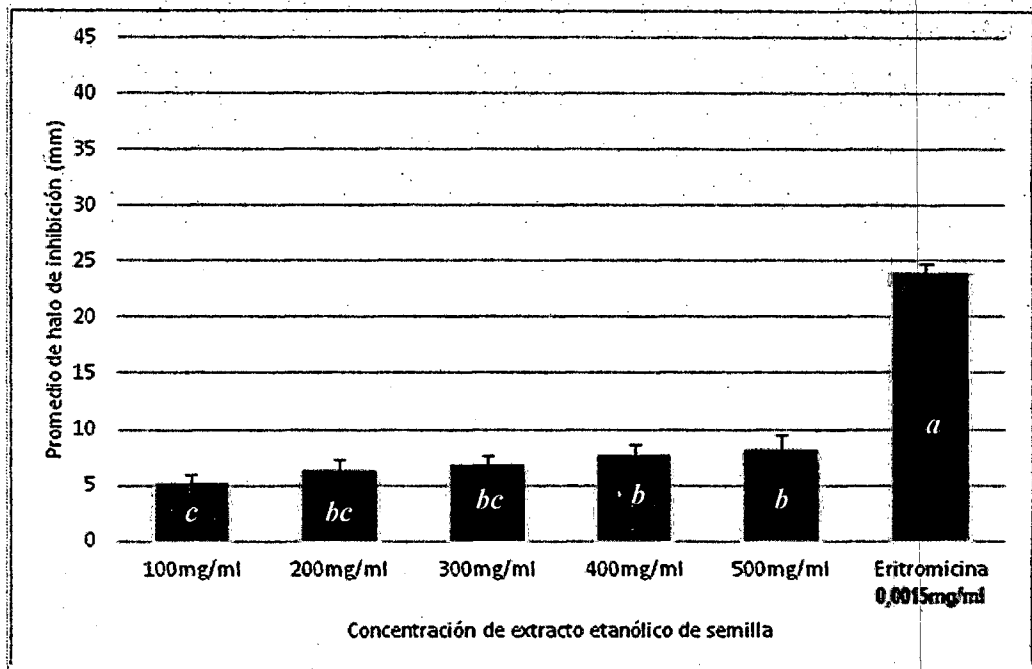


Figura 3. Promedio de los diámetros del halo de inhibición del extracto etanólico de semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara" a diferentes concentraciones.

Tabla 1. Porcentaje de inhibición del extracto acuoso y etanólico de vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente al estándar de eritromicina.

% DE INHIBICIÓN			
Eritromicina	Promedio de halo de inhibición		
0,0015 mg/ml	24,3 mm		
Concentración	Extracto acuoso de la vaina	Extracto etanólico de la vaina	Extracto etanólico de la semilla
100 mg/ml	35,39 %	36,62 %	21,39 %
200 mg/ml	45,67 %	40,74 %	26,33 %
300 mg/ml	51,44 %	46,91 %	27,98 %
400 mg/ml	57,61 %	50,61 %	31,28 %
500 mg/ml	64,60 %	63,37 %	33,74 %

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y Concentración mínima bactericida (CMB) del extracto acuoso de vaina 500 mg/ml.

Tubo	Concentración mínima inhibitoria y Concentración mínima Bactericida		
	Concentración	Crecimiento - 18 hr	Crecimiento - 24 hr
1	125 mg/ml	no creció (-)	no creció (-)
2	62,50 mg/ml	no creció (-)	no creció (-)
3	31,25 mg/ml	no creció (-)	no creció (-)
4	15,60 mg/ml	no creció (-)	no creció (-)
5	7,81 mg/ml	no creció (-)	no creció (-)
6	3,90 mg/ml	no creció (-)	no creció (-) (CMB)
7	1,95 mg/ml	no creció (-)	creció (+) (CMI)
8	0,98 mg/ml	no creció (-)	creció (+)
9	0,48 mg/ml	creció (+)	creció (+)
10	0,24 mg/ml	creció (+)	creció (+)
11	0,12 mg/ml	creció (+)	creció (+)
12	0,06 mg/ml	creció (+)	creció (+)
13	0,03 mg/ml	creció (+)	creció (+)
14	0,015 mg/ml	creció (+)	creció (+)
15	CONTROL	creció (+)	creció (+)

V. DISCUSIÓN

En la figura 1, se muestra la actividad antibacteriana de extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" a diferentes concentraciones. Se observa que la concentración de 0,0015 mg/ml de eritromicina mostró mayor promedio de halo de inhibición con 24,3 mm, siendo superior significativamente a los efectos inhibitorios de las concentraciones de extracto acuoso de vaina (500, 400, 300, 200 y 100 mg/ml). Además se puede notar que las concentraciones de 500 mg/ml y 400 mg/ml no muestran diferencia significativa según el método de Tukey y una confianza de 95 %, con promedio de halos inhibitorios de 15,7 y 14,0 mm respectivamente, constituyendo las mejores concentraciones que alcanzaron mejor efecto inhibitorio después de la eritromicina. Resultados similares se observaron en otros trabajos de investigación.

Huarino²⁶, determinó el efecto antibacteriano de la *Caesalpinia spinosa* "tara", sobre la microbiota mixta salival llegó a la conclusión que la planta tiene actividad antibacteriana *in Vitro* sobre dichos cultivos. En esta investigación se encontró que a la concentración de 50 mg/ml se obtuvo halos de inhibición de 15,48 mm de diámetro, a la concentración de 75 mg/ml se obtuvo halos de inhibición de 17,32 mm de diámetro. Estadísticamente se encontró diferencia significativa entre los diferentes tipos de concentraciones y los diámetros de los halos de inhibición resultando que la microbiota mixta salival resulto ser muy sensible a los extractos de *Caesalpinia spinosa* "tara".

Bruneton²⁵, la acción antimicrobiana de la tara varía por su procedencia pero que los taninos, flavonoides y péptidos tienen la propiedad antimicrobiana sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas, según el tamizaje fotoquímico realizada en la universidad Mayor de San Marcos (Anexo 8); se encontró flavonoides, glucósidos, taninos y compuestos fenólicos que serían los responsables del efecto antibacteriano los cuales son solubles en agua.

En la figura 2, se puede observar la actividad antibacteriana de extracto etanólico de vainas a cinco concentraciones distintas (500, 400, 300, 200 y 100 mg/ml), podemos notar que a una concentración de 500 mg/ml posee mejor efecto inhibitorio con un halo de inhibición de 15,4 mm después de la eritromicina 0,0015 mg/ml, siendo significativamente diferente al resto de las otras concentraciones con un nivel de confianza del 95 %, sin embargo resulta siendo menor por milésimas a comparación del extracto acuoso de las vainas .

Aguilar²⁷, el extracto etanólico de especies vegetales tienen actividad antibacteriana, por la presencia de flavonoides, taninos, terpenos y algunos aceites esenciales, que poseen en su estructura zonas de alta reactividad por la presencia de los grupos hidroxilo; los flavonoides y taninos poseen mayor actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas que con las Gram negativas por la presencia de hidroxilos en los anillos, inhibiendo así la síntesis de ADN.

Montenegro²⁸, en el año 2014 determinó la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de la *Caesalpinia spinosa* "tara" sobre *Porphyromonas gingivalis*; debido a contener taninos, flavonoides, quinonas, etc. entre otras que demuestran su actividad antibacteriana.

En la figura 3, se muestra la actividad antibacteriana de extracto etanólico de la semilla, también a cinco concentraciones distintas (500, 400, 300, 200 y 100 mg/ml). Se observa que la concentración de eritromicina mostró mayor promedio de halo inhibitorio siendo superior significativamente a los efectos inhibitorios de todas las concentraciones de extracto etanólico de la semilla. Además se puede notar que las concentraciones de 500, 400, 300 y 200 mg/ml no muestran diferencia significativa, alcanzando promedios de diámetros de halos inhibitorios inferiores (8,2; 7,6; 6,8 y 6,4 mm) respectivamente, en comparación al estándar de eritromicina con 24,3 mm a una concentración de 0,0015 mg/ml.

Palomino²⁹, señala que la existencia de un halo de inhibición aunque sea mínima cuando se trabaja con un material vegetal, determina cierta actividad antibacteriana del extracto, que puede ser mejorada con el uso de nuevas técnicas de extracción con el propósito de obtener mayor concentración de los principios activos y alcanzar mejores resultados.

No se encontraron trabajos relacionados que involucran a la semilla *Caesalpinia spinosa* "tara" como un agente antibacteriano ya que la semilla de la tara lo usan

mayormente como emulsificante, espesante, fijador de aromas, gelificante, clarificante, impermeabilizante, etc²⁴.

En la tabla 1, se muestra los porcentajes de inhibición de extracto acuoso y etanólico de vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente al estándar de eritromicina a 0,0015 mg/ml el cual tuvo un promedio de halo de inhibición de 24,3mm, se observa que este promedio se encuentra dentro del rango establecido en el Instituto Nacional de Salud (2002) donde se indica que el diámetro es mayor o igual a 21 mm para el género *Streptococcus*, siendo sensible a la concentración de 0,0015 mg/ml, se puede observar que mejor resultado presento el extracto acuoso de vainas a una concentración de 500 mg/ml teniendo un porcentaje de inhibición de 64,60 % y el extracto etanólico a la misma concentración con un porcentaje de inhibición de 63,37 %.

Caceres³⁰, menciona que los porcentajes de inhibición que presentan valores mayores al 100 % tienen un buen efecto antibacteriano, al ser comparados los halos de inhibición del extracto a diferentes concentraciones frente a un patrón en este caso un antibiótico, por ello podemos decir que los resultados obtenidos con el extracto acuoso y etanólico de las vainas presenta una moderada actividad antibacteriana.

La tabla 2, presenta los resultados de la concentración mínima inhibitoria del extracto acuoso de la vaina a una concentración de 500 mg/ml, teniendo en cuenta que este presentó el mayor efecto inhibitorio frente a la bacteria *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. La concentración mínima inhibitoria fue de 1,95 mg/ml y la concentración mínima bactericida fue de 3,90 mg/ml.

Podemos concluir demostrando que cada una de los extractos acuoso y etanólico a diferentes concentraciones presenta actividad antibacteriana, aunque en alguno de ellos no existe diferencia significativa como es el caso del extracto etanólico de las semillas, los valores de los halos de inhibición si guardan una relación proporcional con las concentraciones del extracto como en algunos trabajos de investigación similares ya que en estos trabajos las concentraciones fueron más pequeñas y tuvieron halos de inhibición similares a este trabajo este aparente sesgo podría deberse a una falla en la manipulación del extracto en el momento de extraer los metabolitos, el tiempo que se dejó guardado los extractos o el tipo de bacteria, pero estadísticamente se demostró que si existe diferencia significativa entre la actividad de cada una de las concentraciones por lo que si podemos hacer diferencia entre las

concentraciones del extracto y su actividad antibacteriana sobre *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

VI. CONCLUSIONES

- Los extractos etanólico y acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" presentan efecto antibacteriano sobre *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.
- El porcentaje de inhibición del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente al estándar de eritromicina (0,0015 mg/ml), presenta el mayor porcentaje de inhibición que es de 64,60 %.
- La concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida para *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 fueron de 1,95 mg/ml y 3,90 mg/ml respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con el estudio de *Caesalpinia spinosa* "tara" utilizando otros órgano de la planta como pueden ser tallos y hojas y así contribuir en el tratamiento de otras enfermedades.
2. Continuar con la investigación de *Caesalpinia spinosa* "tara" enfrentándolas a otras bacterias de importancia clínica.
3. Tener en cuenta todos los factores para poder extraer muy bien los metabolitos de *Caesalpinia spinosa* "tara" y así obtener mejores resultados.
4. Evaluar el grado de toxicidad aguda media y la dosis de letalidad media de *Caesalpinia spinosa* "tara".

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sung, I. Plantas medicinales. Séptima Edición. Editorial Isabel. Lima, Perú. 2010.
2. Mantilla, J. Olazabal, O. Las plantas medicinales de nuestra madre tierra valle sagrado de los incas. Cusco, Perú. 2011.
3. Buhner, A. Antibióticos naturales. Barcelona: Ediciones Obelisco; 2002.
4. Pamo, O. Características de los trabajos publicados sobre las propiedades de las plantas medicinales en revistas médicas peruanas. Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública. 2010; 26(3):32-43.
5. Gutiérrez, N. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" sobre el crecimiento de cepas de *Enterococcus faecalis* [Tesis]. Colombia: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Biología; 2011.
6. Liu, H. Lengual, 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" [Tesis]. Piura. Rev. Horiz. Med.. 2010; 2(1-2):40-44.
7. De La Cruz, M. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze "Tara" sobre la viabilidad de *Streptococcus* α -hemolítico [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. Fac. de Farmacia y Bioquímica; 2013.
8. Añanca, E. Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" en cepas de *Streptococcus pyogenes*. [Tesis]. Fac Ciencias Médicas. Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica: UNJBG. Tacna.2011.
9. Llantoy, Y. Actividad antimicrobiana de los extractos acuoso y etanólico de hojas y flores de *Schkuhria pinnata* "piquipichana" frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 [Tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Fac. Biología; 2013.
10. Perú Ecológico_plantas medicinales *Caesalpinia spinosa* "tara". (Serial de internet). Lima, Perú. 2010. Disponible en: http://www.peruecologico.com.pe/med_tara.htm.
11. Miranda, M. y Cuellar, A. Manual de prácticas de laboratorio/métodos de extracción: Farmacognosia y productos naturales, Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad La Habana. Cuba. 2013.
12. O. M. S. "Recomendaciones para gobiernos y consumidores acerca del uso de la medicina tradicional, complementaria y alternativa", J. Public Health, Vol. 16, pp. 218, 2014.
13. Valgas, C. S. M. d. Souza; E. F. A. Smânia; A. S. Jr. "Screening methods to determine antibacterial activity of natural products", Brazilian Journal of Microbiology, Vol. 38, pp. 369, 2007.
14. Andrews, J. "Determination of Minimum Inhibitory Concentration ", J Antimicrob Chemother, Vol. 48(31), pp. 5, 2001.
15. Bergolio, R. 1993. Antibióticos. Quinta Edición: Editorial Medina Panamericana. Argentina.
16. Radecka C. Determination of erythromycin in pharmaceutical preparations by direct densitometry after TLC. J Pharm Sci 1973;61(3):430.
17. Anderson T. Thin-Layer Chromatography of Erythromycins. Journal of Chromatography 1964;14(1):127.
18. Buhner, A. Antibióticos Naturales. 8^{va} Edición: Editorial Obelisco. Barcelona: 2000.

19. Kataja, J. Huovinen, P. Muotiala, A. et al. Clonal spread of group A Streptococcus with the new type of erythromycin resistance. *J Infect Dis* 1998; 177:786-789.
20. Cepas ATCC. Disponible en: <http://www.microbiologics.com/site/index.html>.
21. C. National, for, Clinical, Laboratory, Standards., *Manual de Control de Calidad en el Laboratorio Clínico.* (1998), pp. 7.18-7.21.
22. Gamazo C, Lopez-Goñi I, Diaz R. *Manual de Practicas de Microbiologia.* 3^{ra}. Ed. España: Editorial Masson; 2005
23. Eleucy P. *Museo de Historia Natural.* Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Fac de Farmacia y Bioquímica; 2012.
24. Cueva A. *Enciclopedia plantas medicinales: Propiedades y usos.* Ed. A.F.A. Lima- Perú.2010.
25. Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales.* 2^a Ed. Zaragoza: Acribia S. A.
26. Huarino, Z. Efecto Antibacteriano de la *Caesalpinia spinosa* "tara" sobre flora mixta salival. [Tesis] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Fac. de Odontología; 2005.
27. Aguilar, T. y Jimenez, G. Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcoholico de *Caesalpinia spinosa* "tara" sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae*. [Tesis] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Fac. de Medicina; 2008.
28. Montengro, C. Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* "tara" sobre *porphyromonas gingivalis*. [Tesis] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Fac. de Odontología; 2014.
29. Palomino, J. Actividad antibacteriana de *Punica granatum* "granado" en cepas de *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*, aislados de pacientes con enfermedad diarreica aguda (EDA). Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 2000.
30. Cáceres, A. 1999. *Plantas de uso medicinal en Guatemala.* Editorial Universitaria. Universidad de San Carlos. Guatemala.

IX. ANEXOS

Anexo 1.

Halos de inhibición de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente al extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" con cinco repeticiones.

HALOS DE INHIBICIÓN (mm)					
Extracto Acuoso de Vainas	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615				
	CONCENTRACIONES mg/ml	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 4
100 mg/ml	8	8	9	9	9
200 mg/ml	10	11	11	12,5	11
300 mg/ml	11,5	12	12	14	13
400 mg/ml	12	14	13	16	15
500 mg/ml	14	14	15	17,5	18

Anexo 2.

Halos de inhibición de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente al extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" con cinco repeticiones.

HALOS DE INHIBICIÓN (mm)					
Extracto Etanólico de Vainas	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615				
CONCENTRACIONES mg/ml	Repeticón 1	Repeticón 2	Repeticón 3	Repeticón 4	Repeticón 5
100 mg/ml	8	9	9	9,5	9
200 mg/ml	9	10	10	10,5	10
300 mg/ml	11	11	11,5	11,6	12
400 mg/ml	11	12	13	13	12,5
500 mg/ml	12	16	16	16	17

Anexo 3.

Halos de inhibición de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente al extracto etanólico de semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara" con cinco repeticiones.

HALOS DE INHIBICIÓN (mm)					
Extracto Etanólico de Semillas	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615				
CONCENTRACIONES mg/ml	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 4	Repetición 5
100 mg/ml	5	5	6	6	4
200 mg/ml	5	6	7	7	7
300 mg/ml	6	7	8	7	6
400 mg/ml	6	7	9	8	8
500 mg/ml	7	7	9	10	8

Anexo 4.

Promedio de halos de inhibición de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente al extracto acuoso y etanólico de *Caesalpinia spinosa* "tara".

PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm)			
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615			
CONCENTRACIONES mg/ml	Extracto acuoso de la vaina	Extracto etanólico de la vaina	Extracto etanólico de la semilla
100 mg/ml	8,6	8,9	5,2
200 mg/ml	11,1	9,9	6,4
300 mg/ml	12,5	11,4	6,8
400 mg/ml	14	12,3	7,6
500 mg/ml	15,7	15,4	8,2
Promedio de halo de inhibición de eritromicina 0,0015 mg/ml		24,3	

Anexo 5.

Análisis de varianza del Extracto Acuoso de la Vaina vs. Concentración.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración	5	3235,14	647,028	451,42	0,000
Error	24	34,40	1,433		
Total	29	3269,54			

Comparaciones de medias de Tukey de halos de inhibición del Extracto Acuoso de la Vaina a diferentes concentraciones en parejas

Método de Tukey y una confianza de 95 %

Concentración	N	Media	Agrupación
ERITROMICINA 0,0015 mg/ml	5	24,300	A
500 mg/ml	5	15,700	B
400 mg/ml	5	14,000	B C
300 mg/ml	5	12,500	C D
200 mg/ml	5	11,100	D
100 mg/ml	5	8,600	E

Anexo 6.

Análisis de varianza del Extracto etanólico de la Vaina vs. Concentración.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración	5	3396	679,221	730,08	0,000
Error	24	11	0,930		
Total	29	22,33			

Comparaciones de medias de Tukey de halos de inhibición del Extracto etanólico de la Vaina a diferentes concentraciones en parejas.

Método de Tukey y una confianza de 95 %

Concentración	N	Media	Agrupación
ERITROMICINA 0,0015 mg/ml	5	24,300	A
500 mg/ml	5	15,400	B
400 mg/ml	5	12,300	C
300 mg/ml	5	11,420	C D
200 mg/ml	5	9,900	D E
100 mg/ml	5	8,900	E

Anexo 7.

Análisis de varianza del Extracto etanólico de la semilla vs. Concentración.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración	5	4498,30	899,660	981,45	0,000
Error	24	22,00	0,917		
Total	29	4520,30			

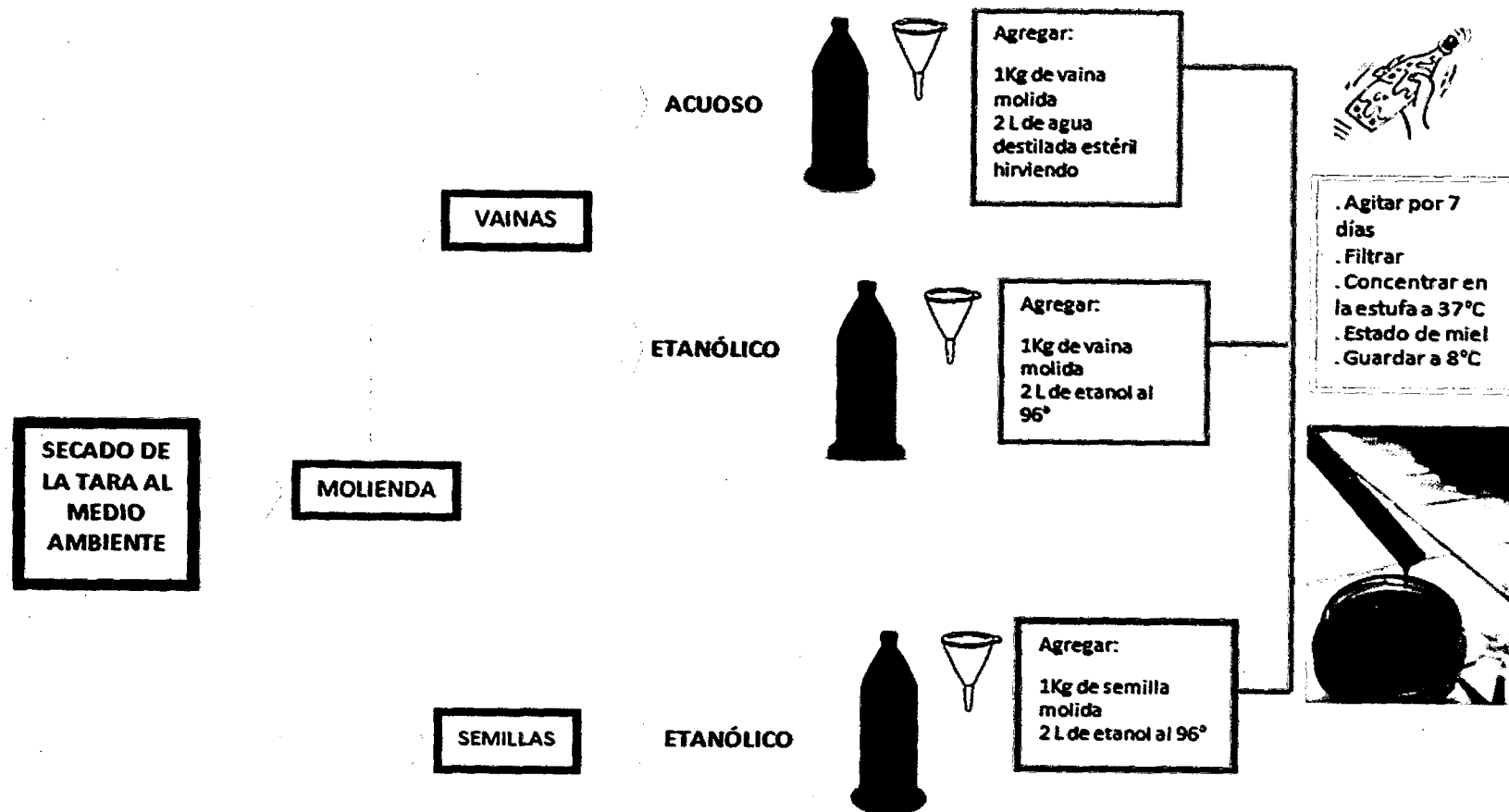
Comparaciones de medias de Tukey de halos de inhibición del Extracto etanólico de la semilla a diferentes concentraciones en parejas.

Método de Tukey y una confianza de 95 %

Concentración	N	Media	Agrupación
ERITROMICINA 0,0015 mg/ml	5	24,300	A
500 mg/ml	5	8,200	B
400 mg/ml	5	7,600	B
300 mg/ml	5	6,800	B C
200 mg/ml	5	6,400	B C
100 mg/ml	5	5,200	C

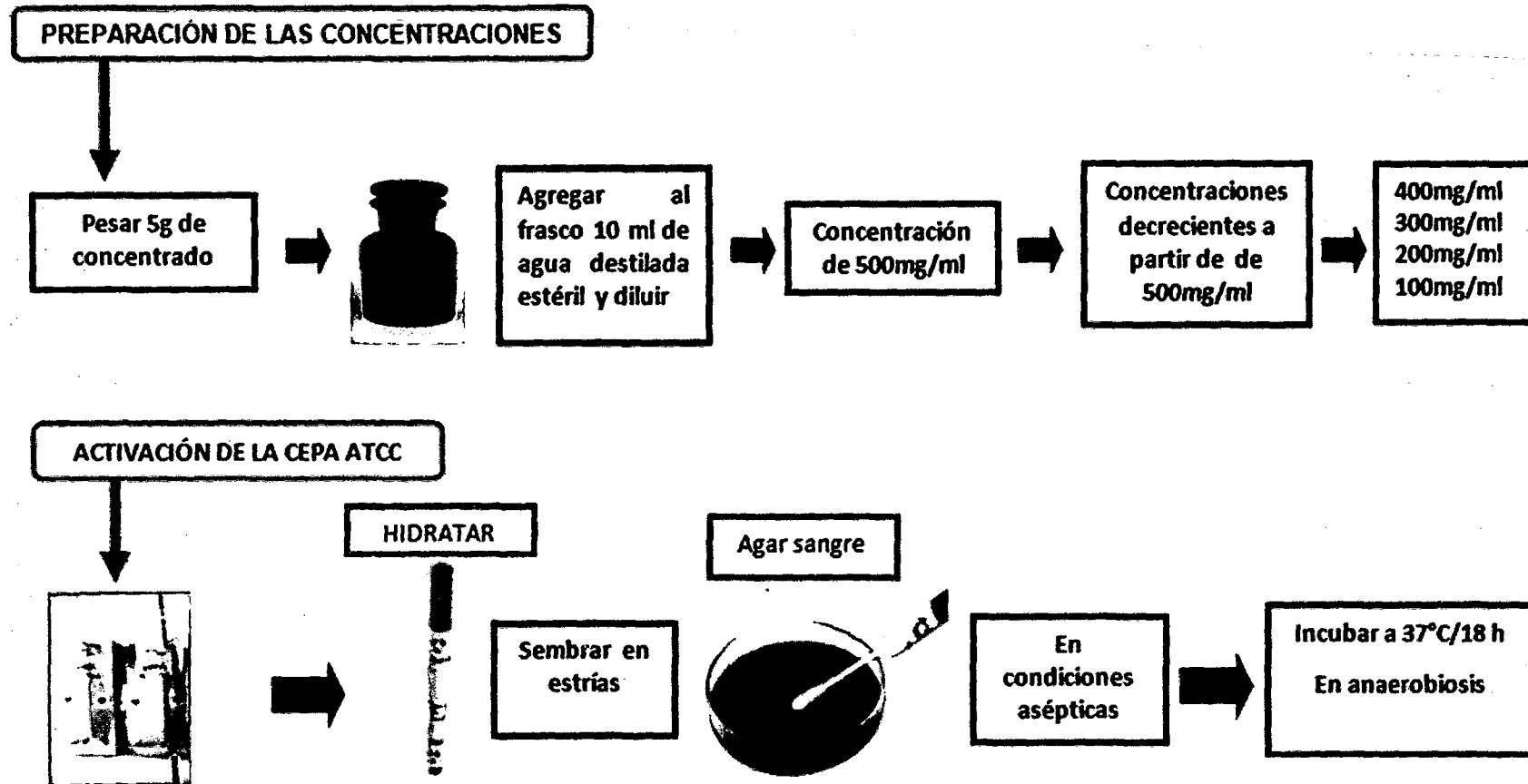
Anexo 8.

Protocolo para la obtención de los extractos acuoso y etanólico de *Caesalpinia spinosa* "tara".



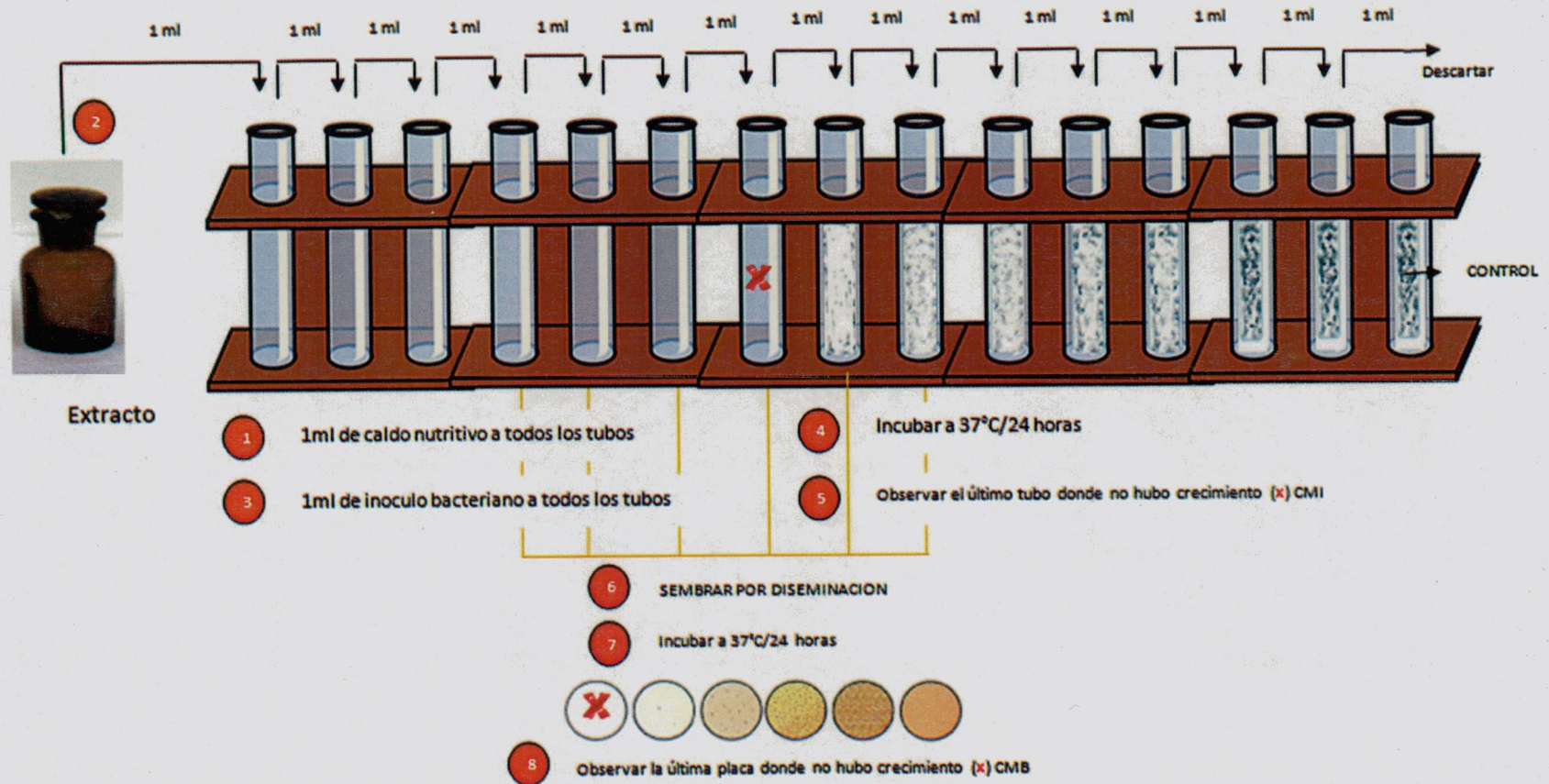
Anexo 9.

Protocolo para la determinación antibacteriana por el método de difusión de pozos en agar.



Anexo 10.

Protocolo para la determinación de la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida.



Anexo 11.

Vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara".



Anexo 12.

Tamizaje fotoquímico de *Caesalpinia spinosa* "tara".



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, Decana de América)



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

INSTITUTO DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y RECURSOS NATURALES-+

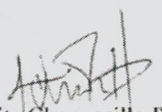
SECCION QUIMICA ORGANICA APLICADA A LA FARMACIA

TAMIZAJE FITOQUIMICO

Muestra : Extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara)

ANALITO	RESULTADOS			
Alcaloides	-			
Triterpenos y Esteroides	-			
Saponinas	-			
Compuestos fenólicos	+++			
Taninos	++			
Aminoácidos libres	+++			
Quinonas	++			
Lactonas sesquiterpénicas	-			
Glicósidos	+			
Flavonoides	+			
Leyenda	(+)	(++)	(+++)	+++
	Trazas	Cantidad moderada	Cantidad abundante	No detectable

Lima, 24 Octubre del 2015


Q.F. Fritz Choquesillo Peña

Jefe Laboratorio Terpenos y Esteroides

Anexo 13.

Certificado taxonómico de *Caesalpinia spinosa* "tara".



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE
"SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA"

C E R T I F I C A

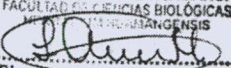
Que, la Bach. en Biología, Srta. **Lucymar Alexandra, HUASHUAYO
ARRIARÁN**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo
de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de
Clasificación de Cronquist A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	FABALES
FAMILIA	:	CAESALPINIACEAE
GENERO	:	Caesalpinia
ESPECIE	:	<i>Caesalpinia spinosa</i> (Molina) Kuntze.
N.V.	:	"tara"

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

Ayacucho, 27 de Abril del 2015

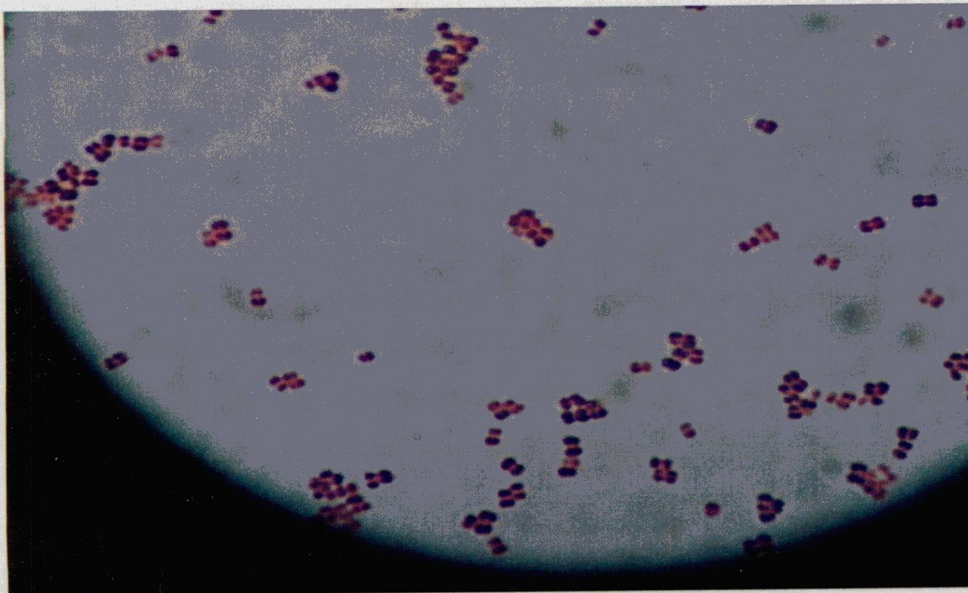
UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Bilga. Laura Aucasime Medina
JEFE

Anexo 14.

Cepa bacteriana comercialde *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

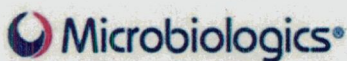


Coloración Gram de *Streptococcus pyogenes*..



Anexo 15.

Certificado de análisis de cepa bacteriana de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Streptococcus pyogenes (group A) Catalog Number: 0385 Lot Number: 385-108 Reference Number: ATCC® 19615™ Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4	Expiration Date: 2016/10/31 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2015/1/6
---	---

Performance		Medium:
Macroscopic Features: Two colony types, both are circular, convex, entire edge; one is medium & beta hemolytic, other is small and alpha hemolytic, turning to beta as culture ages.		SBAP
Microscopic Features: Gram positive cocci		Method: Gram Stain (1)
ID System: Vitek GP (1)	Results	Other Features / Challenges: Results
Phenotypic Features	-	(1) Catalase(3% Hydrogen Peroxide): negative
D-AMYGDALIN	-	Bacitracin differential: Sensitive
PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	-	
D-XYLOSE	-	
ARGININE DIHYDROLASE 1	+	
BETA-GALACTOSIDASE	+	
ALPHA-GLUCOSIDASE	+	
Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	+	
CYCLODEXTRIN	-	
L-Aspartate ARYLAMIDASE	-	
BETA GALACTOPYRANOSIDASE	-	
ALPHA-MANNOSIDASE	-	
PHOSPHATASE	+	
Leucine ARYLAMIDASE	+	
L-Proline ARYLAMIDASE	-	
BETA GLUCURONIDASE	-	
ALPHA-GALACTOSIDASE	-	
L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	+	
BETA-GLUCORONIDASE	-	
Alanine ARYLAMIDASE	+	
Tyrosine ARYLAMIDASE	+	
D-SORBITOL	-	
UREASE	-	
POLYMXIN B RESISTANCE	+	
D-GALACTOSE	+	
D-RIBOSE	-	
L-LACTATE alkalization	-	
LACTOSE	-	
N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	+	
D-MALTOSE	+	
BACTRACIN RESISTANCE	-	
NOVOBIOCIN RESISTANCE	+	
GROWTH IN 6.5% NaCl	-	
D-MANNITOL	-	
D-MANNOSE	+	
METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	-	
PULLULAN	-	
D-RAFFINOSE	-	
O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	+	
SALICIN	-	
SACCHAROSE/SUCROSE	+	
D-TREHALOSE	+	
ARGININE DIHYDROLASE 2	+	
OPTOCHIN RESISTANCE	+	

Brad Goskowicz, President
AUTHORIZED SIGNATURE

Anexo 16.

Vainas y semillas de *Caesalpinia spinosa* "tara" separadas.



Vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" molidas y tamizadas.



Anexo 17.

Incorporación de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "tara" en frascos oscuros.



Anexo 18.

Resultado final del proceso de evaporación de los diferentes tipos de extractos (masa compacta).



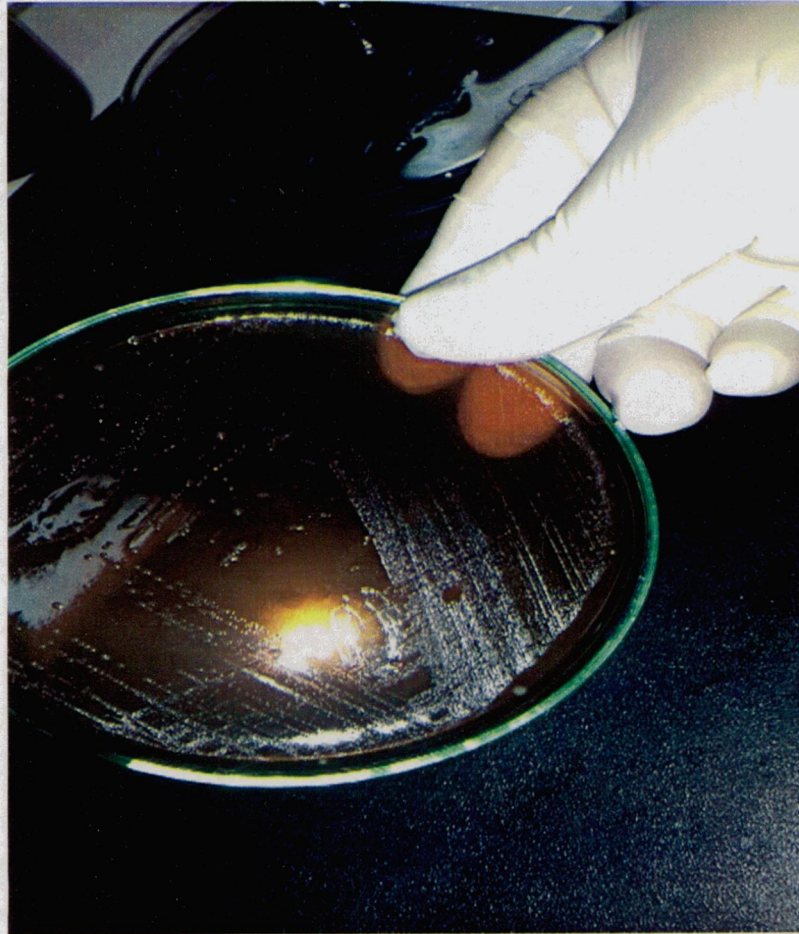
Anexo 19.

Materiales para la reactivación de la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.



Anexo 20.

Crecimiento de colonias de *Streptococcus pyogenes* después de ser incubadas por 18 horas.



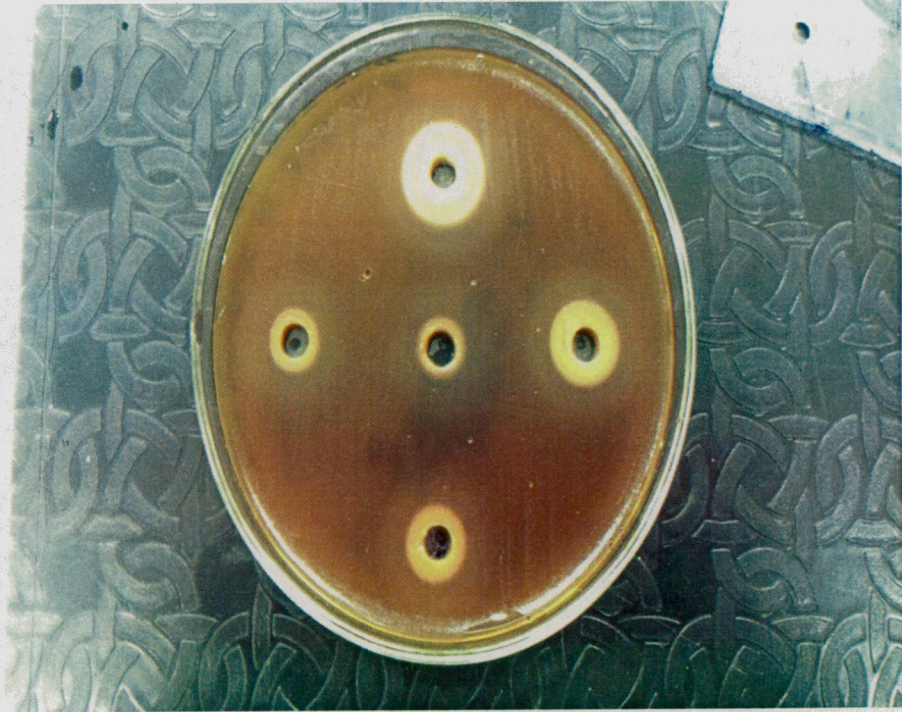
Anexo 21.

Incorporación de las diferentes concentraciones de los extractos en los pozos correspondientes.



Anexo 22.

Placa con halos de inhibición después de su incubación.



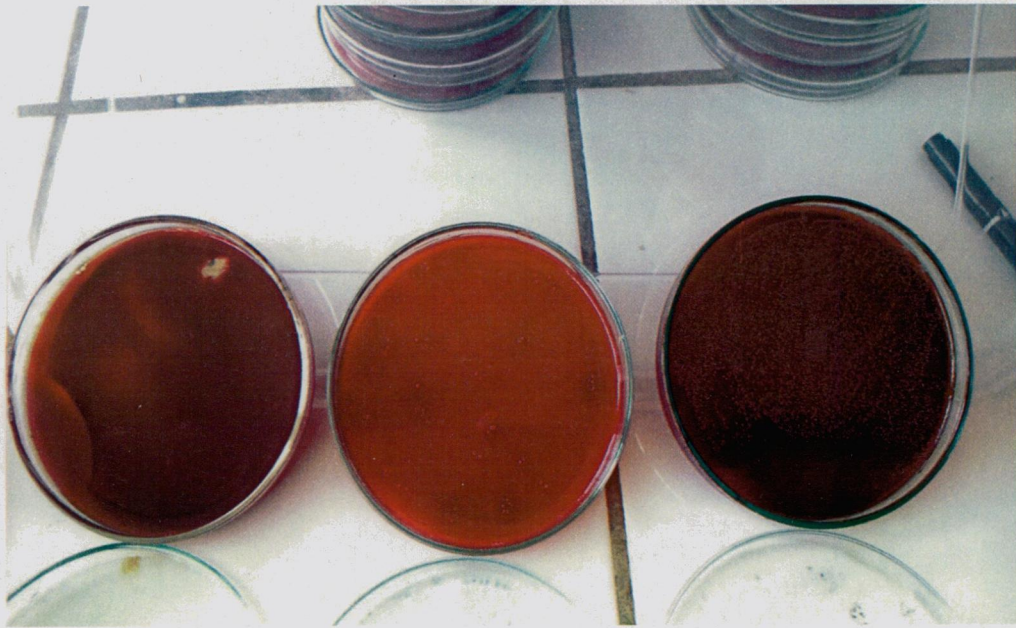
Anexo 23.

Tubos con las diluciones correspondientes para observar la concentración mínima inhibitoria.



Anexo 24.

Placas con y sin crecimiento bacteriano para evaluar la concentración mínima bactericida.



Anexo 25.

Matriz de Consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
Actividad antibacteriana de los extractos químicos de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Ayacucho - 2015.	¿Tendrá actividad antibacteriana los extractos químicos de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?	Objetivo General Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos químicos de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.	El extracto etanólico y acuoso de las vainas y semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" tiene actividad antibacteriana frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.	Variable Independiente: Extracto químico de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara". Indicadores: • Concentraciones (500, 400, 300, 200, 100, mg/ml) • Extracto etanólico • Extracto acuoso • Órganos de la planta (vainas y semillas) Variable Dependiente: Actividad Antibacteriana. Indicadores: • Dimensión de los halos de inhibición en mm. • Porcentaje de inhibición • Concentración Mínima Inhibitoria en mg/ml (CMI) y Concentración Mínima Bactericida en mg/ml (CMB). • Cepa bacteriana Bacterias: • <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.	Antecedentes <i>Caesalpinia spinosa</i> "TARA" Principios activos Actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal Metodologías para evaluar la actividad antibacteriana Halo de inhibición Concentración mínima inhibitoria CMI Concentración mínima bactericida CMB Antibiótico Antibióticos naturales <i>Streptococcus pyogenes</i> Cepas ATCC	Tipo de investigación: Experimental Muestra Biológica 6 kg de vainas y semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" que serán recolectadas al azar, que crecen en la localidad de Muyurina, distrito de Jesus Nazareno, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicado a 2670 msnm. Unidad Experimental Cepa de: • <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 Método Difusión de pozos en agar. Dilucion en caldo. Diseño experimental: se ensayaron cinco concentraciones de 500, 400, 300, 200 y 100 mg/ml del extracto etanólico y acuoso de vainas y semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> "tara" con cinco repeticiones cada uno, frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615. Análisis Estadístico Se utilizará el análisis estadístico de ANVA factorial al 95 % de confianza y su prueba complementaria de Tukey.