



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA
UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR
CARRERA DE ODONTOLOGÍA

Efecto antimicrobiano *in vitro* de extractos de *Caesalpinia spinosa*, sobre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE ODONTÓLOGO

AUTORA: Flores Regalado, Carol Gissel

DIRECTORA: Sarmiento Ordóñez, Jéssica María, Dra. MSC.

CUENCA

2019

DECLARACIÓN:

Yo, **FLORES REGALADO, CAROL GISSEL** declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado la totalidad de las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento; y eximo expresamente a la UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

La UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la ley de propiedad intelectual, por su reglamento y normatividad institucional vigente.

.....

Autora: Flores Regalado, Carol Gissel

C.I.: 0106754526

CERTIFICACIÓN DEL DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN

Sra. Dra. Liliana Encalada Verdugo

COORDINADORA DEL DPTO. DE TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado **Efecto antimicrobiano *in vitro* de extractos de *Caesalpinia spinosa*, sobre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.**, realizado por **FLORES REGALADO, CAROL GISSEL**, ha sido inscrito y es pertinente con las líneas de investigación de la carrera de Odontología, de la Unidad Académica de Salud y Bienestar y de la Universidad, por lo que está expedito para su presentación.

Cuenca, Octubre 2019

.....

Dr. Ebingen Villavicencio Carparó

DPTO. DE INVESTIGACIÓN ODONTOLOGÍA

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Sra. Dra. Liliana Encalada Verdugo

COORDINADORA DEL DPTO. DE TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado **Efecto antimicrobiano *in vitro* de extractos de *Caesalpinia spinosa*, sobre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.**, realizado por **FLORES REGALADO, CAROL GISSEL**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, Octubre 2019

.....

Dra. MSC. Jéssica María Sarmiento Ordóñez

TUTORA DE TESIS

DEDICATORIA

A Dios, por darme un propósito en este mundo cuando no era nadie; me permitiste conocer el verdadero amor. Admirable consejero, orgullosamente puedo decirle al mundo que eres mi padre y yo tu hija.

En memoria de mi hermanito Johnny Jeziel. Esta tesis te la dedico con mucha alegría, porque fuiste tú quien me enseñó lo que es valentía y dedicación para alcanzar los anhelos del corazón. Te amaré por siempre.

A mis otros hermanos, Diego y Sofía por preocuparse de su hermana mayor, mi vida no tuviera tantos colores sin ustedes, gracias por compartir otro momento tan importante en mi vida.

A mis padres Diego y Marisol; que con su ejemplo y amor incondicional, han sido mi guía en todo momento. Gracias por su apoyo y por haberme inculcado humildad, responsabilidad, perseverancia; y muchos otros valores.
Gran parte de lo que soy se lo debo a ustedes.

Finalmente, a mi amada tía Josset Flores, mujer ejemplar y luchadora. Gracias porque a pesar de la distancia; he sentido de cerca tu preocupación y apoyo. Me has permitido comprender que Dios me diseñó para ser un canal de luz y bendición en este mundo.

EPIGRAFE

La creatividad sin fallas es igual a ser levantado hasta la cima de la montaña sin escalarla. Puede que sea divertido, pero no puede ser considerado un éxito.

Rabbi Jonathan Sacks.

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora, la doctora Jéssica Sarmiento; por su destacado profesionalismo y grata amistad; para orientarme en el desarrollo de ese trabajo, y finalmente convertirme en una exitosa Odontóloga.

A mi asesor de Bio Farmacia, el doctor Juan Carpio, por su tiempo y paciencia invertidos para hacer realidad la ejecución de este proyecto.

A mi gran amigo de infancia y toda la vida, Moisés. Eres muy especial para mí, ocupas un lugar importante en mi corazón, y te agradezco por estar presente en esta etapa tan importante para mí.

LISTA DE ABREVIATURAS

ATM: Antimicrobiano

ATCC: American Type Culture Collection

ANOVA: Analysis of variance

OMS: Organización mundial de la salud

CIITT: Centro de Investigación, Innovación y Transferencia de Tecnología

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

EECS: Extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa*

EEHCS: Extracto etanólico de hojas de *Caesalpinia spinosa*

EEVCS: Extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa*

EESCS: Extracto etanólico de semillas de *Caesalpinia spinosa*

ÍNDICE

RESÚMEN	12
ABSTRACT	13
INTRODUCCIÓN	14
CAPÍTULO I	
PLANTEAMIENTO TEÓRICO	15
1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	16
2.- JUSTIFICACIÓN	16
3.- OBJETIVOS	18
3.1.- OBJETIVO GENERAL	18
3.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4.- MARCO TEÓRICO	19
4.1.a.- MICROBIOLOGÍA ORAL	19
4.1.b.- Microorganismos relacionados a patologías orales	20
4.1.b.1.- <i>Staphylococcus aureus</i>	20
4.1.b.2.- <i>Enterococcus faecalis</i>	20
4.1.b.3.- <i>Candida albicans</i>	21
4.1.c.- SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA ...	21
4.1.d.- USO DE PLANTAS CON FINES CURATIVOS	22
4.1.e.- <i>Caesalpinia spinosa</i>	22
4.1.f.- EXTRACTOS VEGETALES	24
4.1.f.1.- EXTRACTO ALCOHÓLICO	24
4.1.g.- TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS PARA MEDIR LA SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA	24
4.1.g.1.- DIFUSIÓN DE DISCOS	24
4.1.h.- CONTROLES POSITIVOS Y NEGATIVOS	24
4.2.- ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	26
5. HIPÓTESIS	29
CAPÍTULO II	
PLANTEAMIENTO OPERACIONAL	30
1.- MARCO METODOLÓGICO	31
2.- POBLACIÓN Y MUESTRA	31
3.- OPERACIÓN DE VARIABLES	33
4.- INSTRUMENTOS, MATERIALES Y RECURSOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS	34
4.1.- INSTRUMENTOS DOCUMENTALES	34

	X
4.2.- INSTRUMENTOS MECÁNICOS	34
4.3.- MATERIALES	34
4.4.- RECURSOS	34
5.- PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE DATOS	34
5.1.- UBICACIÓN ESPACIAL	34
5.2.- UBICACIÓN TEMPORAL	34
5.3.- PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE DATOS	35
6.- PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE DATOS	39
7.- ASPECTOS BIOÉTICOS	39
CAPÍTULO III	
RESULTADOS, CONCLUSIÓN Y DISCUSIÓN	40
1.- RESULTADOS	41
2.- DISCUSIÓN.....	51
3.- CONCLUSIONES	53
BIBLIOGRAFÍA	54
ANEXOS	62
ANEXO 1. Ficha de recolección de datos	63
ANEXO 2. Ubicación del sector de donde se recolectaron las muestras	64
ANEXO 3. Certificado de la identificación de la especie de la planta, por expertos en el área de botánica y agricultura	65
ANEXO 4. Certificado de permiso de funcionamiento del laboratorio químico microbiológico y bromatológico	66
ANEXO 5. Certificado de aprobación del Comité de Bioética de la Universidad Católica de Cuenca	67
ANEXO 6. Análisis estadísticos de varianza (ANOVA)	68
ANEXO 7. Fotografías del proceso de investigación y resultados	72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de hojas de <i>Caesalpinia spinosa</i> sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	41
Tabla 2. Efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de hojas de <i>Caesalpinia spinosa</i> sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	42
Tabla 3. Efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de hojas de <i>Caesalpinia spinosa</i> sobre cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	43
Tabla 4. Efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	44
Tabla 5. Efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	45
Tabla 6. Efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> sobre cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	46
Tabla 7. Efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	47
Tabla 8. Efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	48
Tabla 9. Efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> del extracto etanólico de semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> sobre cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	49
Tabla 10. Eficacia ATM de los tipos de extracto de <i>C. spinosa</i> , sobre los distintos microorganismos	50

RESÚMEN

OBJETIVO: Determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, usando el método de difusión de discos. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se recolectaron las muestras del sector Bullcay / Gualaceo. Hojas, vainas y semillas; pre seleccionadas y lavadas, se secaron a temperatura ambiente durante 7 días, y 2 días más en la estufa a 38°C. El extracto alcohólico se obtuvo mediante método de maceración. Se trabajó con concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%, un control positivo (antimicrobiano), y un negativo (Etanol). Se realizaron cuatro repeticiones por cada grupo estudiado. Las placas fueron incubadas a 37°C durante 24 horas, y finalmente los halos de inhibición fueron medidos con un vernier digital. **RESULTADOS:** El análisis estadístico ANOVA reveló diferencias significativas entre los tipos de extracto, tanto para *E. faecalis*, *S. aureus* y *C. albicans*. Así mismo demostró que la actividad antimicrobiana del extracto es directamente proporcional a su concentración. El extracto etanólico de vainas presentó mayor diámetro de inhibición (19mm), mientras que el extracto de semillas presentó el más bajo (1mm). **CONCLUSIÓN:** Los extractos de *C. spinosa* podrían ser utilizados como coadyuvantes en el tratamiento contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, que están relacionados con patologías orales.

PALABRAS CLAVE: antimicrobiano, extracto, *Caesalpinia*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*

ABSTRACT

AIM: Determine the in vitro antimicrobial effect of the ethanol extract of *Caesalpinia spinosa* on the growth of *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, using the disk diffusion method. **MATERIAL AND METHODS:** Samples from the Bullcay / Gualaceo sector were collected. Leaves, pods and seeds; preselected and washed, dried at room temperature for 7 days, and 2 more days in the oven at 380C. The alcoholic extract was obtained by maceration method. We worked with concentrations of 100%, 75%, 50% and 25%, a positive control (ATM), and a negative (Ethanol). Four repetitions were performed for each group studied. The plates were incubated at 370C for 24 hours, and finally the inhibition halos were measured with a digital vernier. **RESULTS:** The ANOVA statistical analysis revealed significant differences between the types of extract, both for *E. faecalis*, *S. aureus* and *C. albicans*. It also demonstrated that the antimicrobial activity of the extract is directly proportional to its concentration. The ethanolic extract of pods had a larger diameter of inhibition (19mm), while the seed extract had the lowest (1mm). **CONCLUSION:** Extracts of *C. spinosa* could be used as adjuvants in the treatment against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans*. And introduced into dental products.

KEY WORDS: antimicrobial, extract, *Caesalpinia spinosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*

INTRODUCCIÓN.

El efecto antimicrobiano es la capacidad que tienen ciertas sustancias, para detener e inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos infecciosos, mediante diversos mecanismos de acción.¹

En la cavidad oral coexisten distintos nichos de microorganismos, acomodados en hábitats específicos para su desarrollo. Cuando se altera la homeostasis del hospedador, se favorece el crecimiento e invasión de patógenos. Rápidamente, el sistema inmune los reconoce y trata de eliminarlos; sin embargo, la mayoría de los casos se requiere del uso de fármacos antimicrobianos para combatir eficazmente las infecciones orales, periodontales e intraradiculares.²

Lamentablemente, debido al mal uso y abuso de estos medicamentos, los microorganismos han desarrollado resistencia a sus mecanismos de acción. En respuesta a esta realidad, existen nuevas propuestas para combatir procesos infecciosos, como es el uso de medicina natural; en su mayoría, estos métodos se basan en extractos de plantas.³

La *Caesalpinia spinosa* es utilizada empíricamente desde la antigüedad, para aliviar malestares de garganta, piel, lavado de ojos inflamados, dolor estomacal, diarrea, reumatismo y otros.²¹⁻²²

Gracias a estudios preliminares, se conoce que la *Caesalpinia spinosa* posee actividad antibacteriana, cicatrizante y antiinflamatoria; adicionalmente tiene efecto gastroprotector y es un antioxidante natural.^{23, 24,32}

A pesar de los estudios reportados, se carece de información certera y confiable, publicada en revistas especializadas, acerca del efecto antimicrobiano de *Caesalpinia spinosa*.

Por ello, el propósito de este trabajo es determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* de extractos etanólicos de diferentes órganos de *Caesalpinia spinosa*, sobre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*; con un enfoque a futuro, de introducir los beneficios de su principio activo, en productos de uso odontológico.

CAPÍTULO I
PLANTEAMIENTO TEÓRICO.

1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

La resistencia a los antimicrobianos es un motivo de preocupación mundial, la aparición de nuevos mecanismos de resistencia pone en peligro nuestra capacidad para tratar enfermedades infecciosas, y por consiguiente aumenta la propagación de la enfermedad y tasa de mortalidad. Además con ello; aumenta el costo de atención sanitaria, al tener que producir medicamentos más potentes y en mayor cantidad.

Estudios corroboran la resistencia que ha adquirido el *Enterococcus faecalis* frente a los siguientes antimicrobianos: Ampicilina, Gentamicina, Estreptomicina, Ciprofloxacina, Levofloxacina, Eritromicina, Vancomicina, entre otros.³⁹

Por otro lado, el *Staphylococcus aureus* es resistente a: Penicilina, B-lactámicos, Amino glucósidos, Macrólidos, Lincosamidas, Tetraciclinas, Rifampicina, Quinolonas y Cloranfenicol.⁴⁰

Y finalmente, la *Candida albicans* ha desarrollado resistencia a varios azoles, entre ellos los más frecuentes: fluconazol y voriconazol.⁴¹

En base a esto, surge la pregunta ¿Tienen efecto antimicrobiano *in vitro* el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa*, sobre microorganismos patógenos orales?

2.- JUSTIFICACIÓN

Relevancia científica

A pesar de la biodiversidad de flora que posee el Ecuador; el uso de medicina natural en el campo odontológico, está limitado debido a la falta de estudios relacionados con el tema. Esta investigación se llevará a cabo mediante un estudio *in vitro* controlado que garantizará los resultados obtenidos. De modo que la información que vamos a obtener contribuye un aporte novedoso para la comunidad científica. Con esta investigación, se pretende fomentar la realización de estudios que conlleve al uso de *Caesalpinia spinosa* en la inhibición de microorganismos patógenos y mejoramiento del éxito de tratamientos de patologías infecciosas de carácter odontoestomatognático.

Relevancia social

El presente estudio también tiene relevancia social, pues permite considerar el uso de extractos de *Caesalpinia spinosa* el momento de diseñar estrategias de intervención sanitaria. El costo de obtención de estos extractos, es relativamente menor al de la producción de otros fármacos antimicrobianos. Si se llega a obtener resultados positivos, se podría contribuir a mejorar la calidad de vida de la población y a reducir los altos porcentajes de deficiencia en salud oral.

Relevancia humana

Con la acción efectiva de *Caesalpinia spinosa* sobre patógenos orales, tendríamos una alternativa más para contrarrestar e inhibir la proliferación de estos, sin causar daños secundarios en los pacientes.

Nivel de originalidad local, regional, nacional

Hasta donde hemos podido investigar, se reportó un único estudio en la ciudad de Cuenca y otro en la ciudad de Quito; pues, no existen otros estudios similares llevados a cabo en el Ecuador. A nivel mundial, se encontraron publicaciones en el país vecino, Perú. Toda esta información fundamenta y brinda relevancia a este estudio.

De los estudios reportados; observamos que, únicamente se ha estudiado el efecto antimicrobiano de *Caesalpinia spinosa*, en extracto alcohólico a partir del fruto. Por lo tanto; hemos visto necesario e innovador analizar y comparar su principio activo, a partir de distintos órganos de la planta (hojas, vainas y semillas).

Concordancia con las políticas institucionales

Este trabajo está dentro de las líneas de investigación de la Universidad Católica de Cuenca y también dentro de los tópicos de investigación en la carrera de Odontología, por lo tanto, tiene concordancia con las políticas institucionales de investigación.

3.- OBJETIVOS

3.1.- OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* de extractos etanólicos de *Caesalpinia spinosa*, sobre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

3.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Caesalpinia spinosa*; a distintas concentraciones, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.
- Conocer el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa*; a distintas concentraciones, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.
- Conocer el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de las semillas de *Caesalpinia spinosa*; a distintas concentraciones, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.
- Comparar entre los distintos tipos de extractos, la mejor eficacia antimicrobiana de la *Caesalpinia spinosa*.

4.- MARCO TEÓRICO

4.1.a.- Microbiología oral

La ecología microbiana de la cavidad oral es bastante compleja, en razón de: los distintos tejidos que la integran, la presencia de saliva y fluido crevicular, como limpiadores fisiológicos e inductores de mecanismos de defensa del huésped; y por la pluralidad de ambientes en condiciones distintas de temperatura, disponibilidad de oxígeno, pH, composición y exposición alimentaria.⁴ Así, todos estos factores físicos y biológicos influyen directamente en la creación de varios ecosistemas primarios, que elementalmente son los siguientes:

- Mucosas:
 - Labios: *Staphylococcus*, *Streptococcus viridans*.
 - Mejillas: *Streptococcus mitis*, *sanguis* y *salivarius*.
 - Paladar duro: *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Haemophilus*.
 - Portadores de prótesis: *Candida spp* y *Klebsiella*.
 - Paladar blando: *Haemophilus*, *Corynebacterium*, *Neisseria*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*.
 - Lengua: *S. salivarius*, *mitis*, *milleri*, *mucilaginosus*, *Veillonella*, *Actinomyces spp*, *Lactobacillus*, *Neisseria*, *Fusobacterium* y *Haemophilus*.
- Surco gingival en salud: *S. sanguis*, *S. mitis*, *Streptococcus gordonii*, *Actinomyces*.
- Surco gingival en enfermedad: *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Veillonella* y *Treponema*.
- Saliva: *Veillonella spp*, *Actinomyces*.
- Superficies dentales
 - Supra gingivales: *Streptococcus spp*, *Enterococcus spp*, *Staphylococcus spp*, *Neisseria spp*, *Veillonella spp*, *Actinomyces spp*, *Corynebacterium spp*, *Haemophilus spp*, *Fusobacterium spp*, *Porphyromonas spp*, *Prevotella spp*, *Mycoplasma spp*, *Candida spp*.
 - Sub gingivales: *Streptococcus spp*, *Actinomyces spp*, *C. matruchotii*, *Veillonella*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* y *Fusobacterium*, *Eikenella corrodens*, *Haemophilus*.
 - Placa radicular: *S. sanguis*, *A. naeslundii*, *R. dentocariosa*, *C. matruchotii*, *Veillonella spp.*, *Neisseria spp.*, *Haemophilus spp.* y *Fusobacterium spp.*, *E. corrodens*, *Propionibacterium spp.*⁵

Cuando los tejidos duros dentales, pierden continuidad; en consecuencia de lesiones cariosas, iatrogenias, fisuras, fracturas, etc., las infecciones endodónticas tienen lugar. Las bacterias involucradas suelen ser parte de la microbiota oral normal, donde las bacterias orales endógenas actúan como patógenos oportunistas.⁷

Los microorganismos aislados más frecuentemente son: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* orales, *Enterococcus spp*, *Actinomyces spp*, *Capnocytophaga spp*, *Eubacterium spp*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter spp*, *Prevotella spp*, *Selenomonas spp*, *Veillonella spp*, *Porphyromonas spp*, *Lactobacillus spp*, y *Treponemas* orales. El *Enterococcus faecalis* se reporta en más del 75% de la microbiota cultivada en infecciones pulpares.⁸

4.1. b.- Microorganismos relacionados a patologías orales.

Según la literatura científica, algunos de los microorganismos más encontrados en patologías infecciosas, con afección a los tejidos blandos de la cavidad oral; son el *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*.

4.1. b.1.- *Staphylococcus aureus*

Es un coco Gram positivo, inmóvil, anaerobio facultativo; no pertenece a la microbiota oral normal, se lo considera un microorganismo oportunista; prolifera cuando la inmunidad del hospedador está comprometida. Además posee peculiaridades de virulencia y resistencia a los antibióticos. Se lo puede aislar en enfermedades tales como: mucositis, osteomielitis, sialoadenitis, queilitis, linfadenitis staphylococcica, impétigo y celulitis.¹²

4.1. b.2.- *Enterococcus faecalis*

E. faecalis es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado; posee alta virulencia.⁹ Se lo puede aislar en las siguientes patologías odontológicas: pulpitis, necrosis pulpar, periodontitis apical, absceso apical agudo, y también en piezas dentales en las que el tratamiento endodóntico ha fallado.^{10, 11}

4.1. b.3.- *Candida albicans*

Es un hongo dismórfico que habitualmente reside la cavidad oral, en condiciones de simbiosis. Sin embargo; cuando la inmunidad celular del individuo está comprometida a nivel local o sistémico, este hongo se comporta como un comensal patógeno, siendo capaz de evadir los mecanismos de defensa del hospedero. Se lo puede aislar en infecciones endodónticas; queilitis angular y candidiasis oral, además se lo ha reportado frecuentemente en fracasos de tratamientos endodónticos.¹³

4.1. c.- Susceptibilidad microbiana y resistencia antimicrobiana

La susceptibilidad microbiana es la sensibilidad de las bacterias al efecto de los antibióticos; su crecimiento es inhibido mediante distintos mecanismos de acción; ya sea impidiendo su reproducción, en el caso de los bacteriostáticos; o matándolas, en el de los bactericidas. Sin embargo estos microorganismos pueden desarrollar resistencia, logrando perdurar frente a los efectos de agentes antibióticos que amenacen su sobrevivencia y reproducción.¹⁴

La resistencia antimicrobiana constituye un problema de salud pública a nivel mundial, ya que debilita nuestra capacidad de controlar enfermedades infecciosas y perjudica la economía, en la producción de nuevos fármacos más potentes y en mayores cantidades.¹⁴ El uso irracional de antibióticos, dosis inadecuadas, periodos terapéuticos interrumpidos, y el desconocimiento de los perfiles de sensibilidad de los microorganismos aislados; son factores que contribuyen al incremento de resistencia.¹⁵

Resistencia antimicrobiana de *Enterococcus faecalis*

La resistencia del *E. faecalis* se debe a su crecimiento en el interior del conducto, como biopelícula. Puede resistir al efecto de irrigantes y preparación biomecánica. Opone resistencia al efecto del hidróxido de calcio, quedando los microorganismos en estado quiescente. Es resistente a: vancomicina, ampicilina, ciprofloxacina, cefalosporinas y amino glucósidos.¹⁶

Resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*

El *Staphylococcus aureus* se ha vuelto resistente a varios antibióticos, como: penicilina, oxacilina, ampicilina/sulbactam, ciprofloxacina, levofloxacina, clindamicina, gentamicina, cefalexina, vancomicina y macrólidos.¹⁶

Resistencia antimicrobiana de *Candida albicans*

Para tratar las infecciones producidas por *Candida*, se usan medicamentos anti fúngicos como el fluconazol, itraconazol, ketoconazol, etc., sin embargo, hoy en día, la efectividad de estos fármacos ha disminuido por el surgimiento de levaduras resistentes.^{17,18}

4.1. d.- Uso de plantas con fines curativos.

A pesar de los avances en farmacología en la producción de medicamentos efectivos, las plantas siguen siendo la mejor fuente terapéutica, e incluso pueden llegar a reemplazar a algunos fármacos existentes. La medicina natural es menos agresiva para el organismo; pues, carece de efectos secundarios, o estos son mínimos.¹⁹

Actualmente ha incrementado el porcentaje de investigación de alternativas terapéuticas, donde se considera a las plantas para controlar el dolor y combatir infecciones. La OMS aprueba el uso de plantas medicinales, en vista del reporte de varios estudios que han demostrado su eficacia y porcentajes mínimos de riesgo.¹⁹

4.1. e.- *Caesalpinia spinosa*

Descripción

A la *Caesalpinia spinosa* se la conoce comúnmente como: tara, taya, guarango, vainillo, acacia o dididivi. Es un árbol nativo de la región Andina de Sudamérica, su distribución se extiende desde Venezuela hasta el norte de Chile. En el Ecuador, habita en las provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Azuay y Loja.²⁰⁻²¹

El árbol de *Caesalpinia spinosa* es pequeño, mide entre dos y tres metros, es fuerte y resistente a la sequía. Su tronco es de color gris y con espinas de aproximadamente 4 mm. Las hojas son de color verde oscuro y tienen forma ovalada, sus flores son de color amarillo rojizo, y sus frutos tienen forma de vainas planas color naranja, de aproximadamente 10 cm de largo; contienen de 4 a 7 semillas de color pardo negruzco. Tiene un olor astringente característico.²⁰⁻²¹

Su fructificación se produce durante los meses comprendidos entre octubre y abril, cada árbol de guarango rinde de 20 kg a 40 kg de fruto. Inicia a producir a los tres años de edad, vive de cien a ciento diez años, requiere clima templado con tendencia a cálido.

Taxonomía:

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Fbales*

Familia: *Fabaceae*

Subfamilia: *Caesalpinioideae*

Tribu: *Caessalpinieae*

Género: *Caesalpineae*

Especie: *Caesalpineae spinosa*.²¹

Usos medicinales y otras propiedades

Lamentablemente los usos tradicionales de la *Caesalpinia spinosa* no han sido reportados en la literatura científica, pero se conocen por su divulgación en internet, blogs, trabajos de tesis y recetas caseras. El fruto es utilizado empíricamente en infusiones; para aliviar molestias de garganta, estomatitis, irritaciones dérmicas y oculares; malestar estomacal, diarrea, reumatismo, infecciones vaginales, entre otros. La cocción de hojas se usa como abortivo y depurativo de colesterol.²²⁻²³

Debido a su alto contenido de taninos, se conoce que el algarrobo ha sido utilizado desde tiempos prehispánicos por la cultura Inca, en el proceso de curtiembre. En la industria alimentaria, es útil para obtener ácido gálico y gomas, que brindan consistencia a los helados, harina proteica y mantecas comestibles.²²⁻²³

Algunos otros usos de la planta son: plaguicida, protección de metales, cosmetología (champús anti caída, tintes), perforación petrolífera, industria del caucho y en pinturas anticorrosivas. Según estudios preliminares la *Caesalpinia spinosa* posee actividad antibacteriana, cicatrizante, antiinflamatoria, efecto gastroprotector y antioxidante.²²⁻²³

Composición química

La *Caesalpinia spinosa* está compuesta de: taninos, aceites volátiles, hidratos de carbono, ácidos grasos, flavonoides, resinas, antocianinas esteroides, antracenos, proteínas, vitaminas, minerales, glucósidos, gomas, mucílagos y antraquinonas.²⁴

4.1. f.- Extractos vegetales

Los extractos vegetales son compuestos obtenidos a partir de un material vegetal biológicamente activo; mediante un proceso de extracción adecuado y el uso de un solvente (agua, alcohol u otro selectivo).²⁵

Las ventajas de los extractos incluyen: su mayor actividad sobre principio activo de la planta aislada, mayor tolerancia y estabilidad, carece de efectos adversos y de producción de residuos. El proceso de obtención es el siguiente: estandarización de la planta, selección de la materia prima, identificación de la parte (fruto, hoja, tallo), lavado, secado, molturación, adición del solvente, reposo, separación y secado.²⁵

4.1. f.1.- Extracto alcohólico

Sustancia obtenida a partir de un material vegetal, mediante maceración o percolación, usando como solvente el etanol.²⁵

4.1. g.- Técnicas microbiológicas para medir la susceptibilidad bacteriana

4.1. g.1.- Difusión de discos

Es una prueba microbiológica cualitativa fácil de realizar y económica. Indica el grado de inhibición de los microorganismos, resultante de la impregnación de antimicrobianos en los discos de papel filtro, que se colocan sobre la superficie de agar previamente inoculada. Pasadas las 18 a 24 horas, alrededor de los discos va a aparecer o no un halo claro, que representa la inhibición de crecimiento bacteriano.²⁶

4.1. h.- Controles científicos positivos y negativos

Control positivo

Estos grupos de control, tienen el objetivo de reducir las posibilidades de falsos negativos, estos permite demostrar que la sustancia que está siendo probada, es capaz de producir resultados.²⁷ En la presente investigación, utilizamos como control positivo, antimicrobianos cuyo efecto ha sido corroborado científicamente con anterioridad.²⁷

Si, al redor del disco control positivo vemos un halo de inhibición, y con los otros discos no sucede lo mismo, es probable que los extractos de *Caesalpinia spinosa* sean improductivos. Sin embargo, cuando el control también falla, puede haber errores en el diseño, como por ejemplo, que el antimicrobiano esté en mal estado.²⁷

Control negativo

Los controles negativos, son elementos que aseguran el hecho de que ninguna variable de confusión haya alterado los resultados, y elimina las fuentes de sesgo. En este estudio, el grupo de control negativo fue un disco con etanol. Si el control negativo funciona al igual que todos los extractos; mostrando la inhibición del crecimiento microbiano, indica que alguna otra variable tiene efecto; invalidando los resultados. Los grupos de control negativos eliminan falsos positivos,²⁷

4.2.- ANTECEDENTES

Haro A⁵¹ en 2015 en su trabajo de titulación denominado 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*; comparó la eficacia antibacteriana del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* frente al hipoclorito de sodio al 5,25%. Donde demostró que extracto tenía un considerable efecto similar Hipoclorito de sodio al 5,25% sobre el *E. faecalis*.

Añanca E³⁴ en 2009 en un artículo de revista titulado Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, estudió la capacidad inhibitoria del fruto de la *C. spinosa*; mostrando ambos gérmenes, susceptibilidad al extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara).

Tolentino J⁵² en 2012 en una publicación científica cuyo título es Efecto del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli.*, estudio distintas concentraciones del extracto, las mismas que resultaron tener efecto inhibitor con una CMI de 63.35 mg/ml.

Nancy Rojas, Rosa Avilés, Eglinton Villacaqui, Elizabeth Neira, et al.⁵³, en su trabajo investigativo titulado: Tratamiento de quemaduras con películas obtenidas por radiación gamma que contienen extracto hidroalcohólico de tara (*Caesalpinia spinosa*) en animales de experimentación. Probaron la diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos, la piel tratada con extracto de tara, disminuyó la superficie del área quemada, en mayor extensión que la tratada con nitrofuril ($p = 0,033$).

Bornaz J, Bornaz V y Bornaz M³³ en 2014 en un artículo de revista titulado Efecto *In Vitro* De La Solución De *Caesalpinia Espinosa* (Tara) Al 60%, E Hidróxido De Calcio Y Gluconato De Clorhexidina Al 2% En El Halo Inhibitorio Microbiano De *Enterococcus Faecalis*, compararon la eficacia de algunas soluciones, sobre el crecimiento microbiana. Resultando que el promedio del halo inhibitorio formado por la *Caesalpinia spinosa* fue mayor que el del formado por el Hidróxido de Calcio. La *Caesalpinia spinosa* demostró tener efecto antimicrobiano frente a la presencia de *Enterococcus faecalis*, formando halos de diferentes diámetros en las 4 tomas de medidas que se realizó en este estudio.

Charco J ⁵⁴ en 2015 en su proyecto de titulación: Evaluación De La Actividad Cicatrizante De Un Gel Elaborado A Base De Los Extractos De Guarango (*Caesalpinia Spinosa*), Nogal (*Juglans Regia*) Y Tomillo (*Thymus Vulgaris*) En Ratones (*Mus Musculus*). Nos indica que el gel si posee actividad cicatrizante en heridas cutáneas menores, debido a los metabolitos secundarios que poseen dichas especies vegetales.

Allaica N ⁵⁵ en 2014 en su tesis de grado: Comparación Del Efecto Cicatrizante De Tinturas Elaboradas A Base De Guarango (*Caesalpinia spinosa*) Y Sangre De Drago (*Croton lechleri*) aplicados en ratones (*Mus musculus*), obtuvo que la tintura al 50%, cicatrizó las heridas en 10 días; y al 100%, en 11 días.

Noriega M ⁵⁶ en 2007 en su tesis: Efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* sobre la viabilidad de *Streptococcus B-hemolítico*. Se probó el efecto antibacteriano dosis-dependiente del EHA de C.S. en las concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 mg/mL.

Flores C ⁵⁷ 2016 en su trabajo de titulación: 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*. Reporta que el extracto de *Caesalpinia spinosa* presenta igual efecto inhibitorio que la clorhexidina en gel al 2%, y un efecto significativamente mayor al del paramonoclorofenol alcanforado e, hidróxido de calcio, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

Jiménez J ⁵⁸ en 2016 en su tesis: Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*. Comparó distintas diluciones del aceite esencial de tara al 2,5%, 5% y 10%, las cuales presentaron efecto antibacteriano significativo.

Montenegro A ³¹ en 2014 en su trabajo de Investigación: Actividad Antibacteriana De *Caesalpinia Spinosa* (Tara) Sobre *Porphyromonas Gingivalis*. Estudió varias concentraciones del extracto, demostrando su efecto antibacteriano sobre *Porphyromonas gingivalis*, aunque el aumento de la concentración no guarda una relación proporcional con el aumento de diámetro del halo de inhibición.

Chávez L ⁴⁵ en 2018 en un trabajo de titulación: Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Taya) en comparación a hipoclorito de sodio al 5.25%, sobre *Enterococcus faecalis*. Obtuvo resultados **que indican** que el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* y el hipoclorito de sodio al 5.25%, presentan efecto sumamente sensible sobre *Enterococcus faecalis*.

Zurita G ⁵⁹ en 2018 en un artículo de revista titulado Efecto Inhibitorio *In Vitro* Del Extracto Etanólico De “*Caesalpinia Spinosa*” Sobre *Pseudomonas Aeruginosa*. Observó el efecto inhibitorio *In Vitro* del extracto sobre *Pseudomonas aeruginosa* al usar las diferentes concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%) y este efecto se incrementó en relación directamente proporcional a las concentraciones usadas.

Huashuayo A y Lucymar A ⁶⁰ en 2016 en un artículo de revista, publicado con el nombre: Actividad antibacteriana de los extractos químicos de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Pudieron 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.

Flores C ⁶¹ en 2011 en su tesis: Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa* Taya sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212, después de probar la eficacia del extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa*, observaron que este posee actividad inhibitoria sobre el crecimiento de *Enterococcus Faecalis* a las 24 horas de su aplicación, la as concentraciones de 10, 20, 30 y 60 %, que fueron directamente proporcionales al diámetro de los halos de inhibición.

Ramos A ⁶² en 2016 en su estudio: Actividad Antibacteriana De La *Caesalpinia Spinosa* (Tara) En Diferentes Concentraciones (45% Y 75%) Sobre La *Prevotella Intermedia* Arequipa – 2016. Demostró que, comparando las dos concentraciones de *Caesalpinia Spinosa* (tara), tanto a las 24 horas, como a las 48 horas y 72 horas, el que tuvo los mejores resultados fue la concentración al 75% por tener un mayor halo de inhibición en las placas Petri inoculadas con cepas de *Prevotella Intermedia*.

Núñez W ⁶³ en 2015 en su tesis: Evaluación antioxidante y anti enzimática *in vitro* y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcohólico de la *Caesalpinia spinosa* “tara”. El extracto mostró actividad antioxidante por inhibición de la enzima colagenasa. La planta estudiada posee actividad antiinflamatoria a dosis dependientes.

Castro B y Auccapuma N ⁶⁴ en 2017 en su trabajo de investigación: Efecto Antibacteriano *In Vitro* Del Extracto Alcohólico De *Caesalpinia Spinosa* (Tara), Sobre *Enterococcus Faecalis* y *Staphylococcus Aureus*, Obtenidos De Conductos Radiculares Con Necrosis Pulpar, reportan que el extracto a la concentración de 80% y 100% presenta efecto antibacteriano *in vitro* a las 24 horas, disminuyendo el efecto antibacteriano a las 48 horas y a las 72 horas. Mientras que el extracto alcohólico de la *Caesalpinia spinosa* frente al *Enterococcus faecalis* no presentó efecto antibacteriano.

Cortez K y Mego L ⁵⁰ en 2010 en su trabajo de investigación: Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "Taya", frente a *Streptococcus mutans*. Obtuvieron resultados positivos en cuanto a la inhibición del extracto hidroalcohólico; los halos fueron 8 mm, 11 mm y 13 mm para las concentraciones del 10%, 50% y 100%, respectivamente y de 25 mm y 6 mm para Gluconato de Clorhexidina y alcohol de 70°.

Jiménez L ⁶⁵ en 2016 en su trabajo de titulación: Efecto Antibacteriano *in vitro* de la *Caesalpinia Spinosa* (Tara) en diferentes concentraciones sobre el *Lactobacillus Acidophilus*. Arequipa. Los resultados demostraron que la *Caesalpinia spinosa* (Tara) a la concentración del 100% fue la mejor, respecto a las otras estudiadas (40 y 60%), tanto a las 24 como a las 48 horas de su exposición. Así mismo, demostró que al 100% es igual de competitiva que el Gluconato de Clorhexidina al 2%, a las 24 y 48 horas; sin embargo es menor frente a la Amoxicilina en estos dos tiempos.

Huarino M y Ramos D ⁶⁶ en 2012 en un artículo de revista titulado: Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre flora salival mixta. Obtuvo como resultado que el EACS sobre la flora mixta salival tiene actividad antibacteriana *in vitro* sobre dichos cultivos, siendo la media de los diámetros de los halos de inhibición 12,32, 13,8, 14,92, 15,48 y 17,32mm para 6,25, 12,5, 25, 50 y 75 mg/mL de EACS respectivamente.

5.- HIPÓTESIS

El presente estudio no precisó hipótesis por ser de tipo descriptivo.

CAPÍTULO II
PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1.- MARCO METODOLÓGICO

Enfoque: Cuantitativo

Diseño de investigación: Experimental de laboratorio

Nivel de investigación: Comparativo

Tipo de investigación:

- **Por el ámbito:** De laboratorio
- **Por la técnica:** Observacional
- **Por la temporalidad:** Transversal actual

2.- POBLACIÓN Y MUESTRA

Por tratarse de un estudio experimental de laboratorio, no requiere un proceso de selección de población y muestra.

POBLACIÓN BIOLÓGICA

Cepas de colección: *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, Cepa *C. albicans* ATCC 90028.

MUESTRA BOTÁNICA

100 gr de hojas, 600 gr de vainas y 600 gr de semillas; de *Caesalpinia spinosa*.

UNIDADES EXPERIMENTALES

Para darle mayor solidez científica a este estudio, la muestra estuvo conformada por cuatro aplicaciones de cada concentración, dando un total de 36 cajas Petri y 144 discos para los microorganismos, distribuidos de la siguiente manera:

- Caja mono Petri con *Staphylococcus aureus*, para cuatro discos de extracto de vainas, en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%. (Cuatro repeticiones)
- Caja mono Petri con *Staphylococcus aureus*, para cuatro discos de extracto de semillas, en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%. (Cuatro repeticiones)
- Caja mono Petri con *Staphylococcus aureus*, para cuatro discos de extracto de hojas, en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%. (Cuatro repeticiones)
- Caja mono Petri con *Enterococcus faecalis*, para cuatro discos de extracto de vainas, en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%. (Cuatro repeticiones)

- Caja mono Petri con *Enterococcus faecalis*, para cuatro discos de extracto de semillas, en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%. (Cuatro repeticiones)
- Caja mono Petri con *Enterococcus faecalis*, para cuatro discos de extracto de hojas, en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%. (Cuatro repeticiones)
- Caja mono Petri con *Candida albicans*, para cuatro discos de extracto de vainas, en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%. (Cuatro repeticiones)
- Caja mono Petri con *Candida albicans*, para cuatro discos de extracto de semillas, en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%. (Cuatro repeticiones)
- Caja mono Petri con *Candida albicans*, para cuatro discos de extracto de hojas, en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%. (Cuatro repeticiones)g

3.- OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES. ⁶⁷

VARIABLE	DEF. TEÓRICA	DEF. OPERATIVA	DIMENSIONES	INDICADOR	TIPO ESTADÍSTICO	ESCALA	DATO	INSTRUMENTO
Efecto antimicrobiano de los extractos	Capacidad inhibitoria de los extractos obtenidos sobre el crecimiento microbiano	Diámetro de los halos de inhibición de crecimiento microbiano, en medio de cultivos agarizados	Positivo Negativo	Halo de inhibición	Cuantitativo	Ordinal	Diámetro en mm	Vernier digital / Ficha de recolección de datos
Concentración del extracto etanólico	Proporción entre la cantidad de soluto y solvente.	Extracto vegetal puro de los distintos órganos de la planta <i>Caesalpinia spinosa</i> ; diluido en distintas proporciones.	Concentrado Diluido	Porcentaje de concentración de la solución	Cuantitativa	Ordinal	100% 75% 50% 25%	Ficha de recolección de datos
Especie de microorganismo patógeno oral	Organismos capaces de provocar enfermedades infecciosas en la cavidad oral	Cepas ATCC	Bacteria Hongo	Antibiograma	Cualitativa	Nominal	<i>E. faecalis</i> <i>S. aureus</i> <i>C. albicans</i>	Ficha de recolección de datos
Órgano de la planta <i>Caesalpinia spinosa</i> empleado como materia prima	Parte de la planta <i>Caesalpinia spinosa</i>	Hojas, vainas y semillas de <i>Caesalpinia spinosa</i> , procesadas, pulverizadas y almacenadas en frascos individuales.	Hojas Vainas Semillas	Color verde: hojas Color tomate: vainas Color amarillo: semillas	Cualitativa	Nominal	Hojas Vainas Semillas	Ficha de recolección de datos

4.- INSTRUMENTOS, MATERIALES Y RECURSOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.

4.1.- Instrumentos documentales: Ficha de recolección de datos (Anexo 1)

4.2.- Instrumentos mecánicos: Computadora portátil con procesador CORE i5.

4.3.- Materiales:

- Materiales de laboratorio: probetas milimetradas, pipetas, tubos de ensayo, frascos de vidrio, vasos de precipitación, soportes, pinzas, embudos de vidrio, cajas Petri, gradillas metálicas, papel filtro, papel aluminio, máquina de baño maría, balanza, estufa, licuadora, refrigeradora, aereadores, vernier digital.
- Medios de protección y bioseguridad: guantes, gorro, mascarilla, gafas.
- Materiales de escritorio: hojas, esferos, marcadores, cinta, tijeras, estilete.

4.4.- Recursos:

- **Recursos institucionales:** Laboratorio de Biofarmacia y Laboratorio de Genética y Biología Molecular CIITT de la Universidad Católica de Cuenca.
- **Recursos humanos:** Tesista, tutora, asesor de laboratorio, expertos en el campo de Botánica y Biofarmacia.
- **Recursos financieros:** Autofinanciados.

5.- PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE DATOS

5.1.- Ubicación espacial: Laboratorio de Biofarmacia y Laboratorio de Genética y Biología Molecular CIITT de la Universidad Católica de Cuenca, ubicada en la Av. Américas y Humboldt.

5.2.- Ubicación temporal: Este estudio se realizó en dos tiempos continuos; el primero consistió en la obtención de los extractos vegetales, el mismo se llevó a cabo en el periodo comprendido entre los meses de Diciembre 2018 a Abril 2019; comenzando con la recolecta de muestras y finalizando con las diluciones del extracto.

El segundo tiempo inició con la activación y cultivo de las cepas microbianas, y finalizó con la toma de resultados; éste se llevó a cabo durante los meses de Mayo, Junio y Julio 2019.

5.3.- Procedimiento para la toma de datos

- a. Recolección de la muestra: Se recolectaron del sector Bullcay del cantón Gualaceo: 3 kg de hojas de *Caesalpinia spinosa*, 3 kg de vainas con semilla de *Caesalpinia spinosa*, de los cuáles 1.7 corresponden a las vainas, y 1.3 a las semillas. Anexo # 2 (Ubicación)

- b. Identificación y certificación de la especie: Se llevaron las muestras de la planta, a las instalaciones de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Católica de Cuenca; donde docentes expertos en el campo de la Botánica, caracterizaron y tipificaron la familia y especie de la planta. Anexo #3 (Certificado)

- c. Preparación de la muestra.

Hojas: Fueron desalojadas de sus ramas, y almacenadas en cajas de cartón de 50x50 cm. Posteriormente, de la muestra de 3Kg, se seleccionaron las que estaban en mejores condiciones, y se desecharon aquellas muy trizadas, manchadas y con cambios de coloración. Enseguida, fueron lavadas con agua destilada para eliminar cualquier sustancia extraña. Finalmente, se las puso a secar, a temperatura ambiente y a la sombra, durante 7 días.

Vainas y Semillas: De la muestra de 3Kg, se desecharon aquellas vainas que estaban en malas condiciones (oscurecidas y blandas). Se las lavó con abundante agua destilada, removiendo las sustancias extrañas con un cepillo. Se las puso a secar, a temperatura ambiente y a la sombra, durante 7 días.

 - Traslado de la muestra: Las muestras se trasladaron al laboratorio, en bolsas de papel Kraft individualizadas.
 - Secado en estufa: cada muestra se colocó en bolsas de papel Kraft con agujeros en su base, y estas fueron introducidas a la estufa para el secado final, a 38°C, dos días por cada muestra (hojas, vainas con semilla).

- d. Separación de vainas y semillas: Se extrajo las semillas de las vainas, manualmente, para obtener muestras independientes.

- e. Molido de las muestras.

Hojas

- Pesaje de hojas secas
- Triturado en licuadora
- Almacenamiento de las hojas trituradas, en un frasco grande de vidrio.

Vainas

- Pesaje de las vainas
- Triturado en licuadora
- Almacenamiento de las vainas trituradas, en un frasco de vidrio

Semillas

- Pesaje de las semillas
- Molido en molino manual
- Almacenamiento de la harina de las semillas, en un frasco de vidrio

f. Preparación de los extractos vegetales

a. Preparación del extracto alcohólico por el Método de Maceración en Frio.

- Colocamos 750 ml de etanol 96⁰ en 100 gr de muestra de hojas.
- Colocamos 1100 ml de etanol 96⁰ en 600 gr de muestra de vainas.
- Colocamos 900 ml de etanol 96⁰ en 600 gr de muestra de semillas.

Las cantidades de etanol se colocaron en base al volumen necesario para cubrir completamente la muestra. Previo a verter el etanol en su totalidad, se la hidrató la muestra con 100 ml.

- Los frascos fueron membretados y forrados con papel aluminio.
- Los agitamos cada 12 horas durante 4 días.

g. Filtrado: Las muestras de hojas se reutilizaron 3 veces, de vainas 2 y de semillas dos.

Después de pasar la parte líquida en papel filtro, se obtuvo:

- 690 ml de extracto filtrado de hojas
- 1050 ml de extracto filtrado de vainas
- 840 ml de extracto filtrado de semillas

h. Evaporación: Para ello se introdujo cada frasco con extracto filtrado; en baño maría a 35⁰ C, y se introdujo en cada uno de ellos, una cánula conectada a un aireador.

Posteriormente se procedió a desecar los extractos, con silica gel naranja, durante 7 días. Post – desecación se obtuvo:

- 36 gramos de principio activo de hojas
- 144 gramos de principio activo de vainas
- 20 gramos de principio activo de semillas

- i. Se los puso en refrigeración durante 7 días.
- j. Dilución de los extractos con etanol, hasta obtener concentraciones de:
- 100%, 75%, 50% y 25%, basados en la regla de 500 mg/1000 μ l (x2), obtenida del principio químico de porcentaje peso a volumen.

Hojas:

- 100%: 12 mg/ 24 μ l de extracto concentrado (EC)
- 75%: 9 mg/ 18 μ l EC + 6 μ l etanol
- 50%: 6 mg/ 12 μ l EC + 12 μ l etanol
- 25%: 3 mg/ 6 μ l EC + 18 μ l etanol

Vainas:

- 100%: 12 mg/ 24 μ l de extracto concentrado (EC)
- 75%: 9 mg/ 18 μ l EC + 6 μ l etanol
- 50%: 6 mg/ 12 μ l EC + 12 μ l etanol
- 25%: 3 mg/ 6 μ l EC + 18 μ l etanol

Semillas:

- 100%: 12 mg/ 100 μ l de extracto concentrado (EC)
- 75%: 9 mg/ 75 μ l EC + 25 μ l etanol
- 50%: 6 mg/ 50 μ l EC + 50 μ l etanol
- 25%: 3 mg/ 25 μ l EC + 75 μ l etanol

k. Preparación de discos de difusión.

- Cortarlos con perforadora.
- Esterilizarlos en autoclave.

l. Embebimos los extractos en los discos de papel filtro:

Se colocaron:

- 24 μ l de extracto de hojas; a las distintas concentraciones (4), en discos individuales para cada caja Petri (3) y por cuádruplicado: dando un total de 48 discos.
- 24 μ l de extracto de vainas; a las distintas concentraciones (4), en discos individuales para cada caja Petri (3) y por cuádruplicado: dando un total de 48 discos.

- 100µl de extracto de semillas; a las distintas concentraciones 4), en discos individuales para cada caja Petri (3) y por cuádruplicado: dando un total de 48 discos.
- m. Tratamiento de los controles científicos.
- Los controles positivos fueron discos de sensibilidad. Para las cepas de *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*: Ampicilina 10mcg; y para la cepa de *Candida albicans*: Fluconazol 24mcg.
- Los controles negativos fueron discos de papel filtro previamente esterilizados y humectados con etanol 96%.
- n. Medios de cultivo:
- Medios para activar las cepas:
 - Agar Sangre: *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*.
 - Agar Saboraud: *Candida albicans*.
 - Medio para las pruebas de susceptibilidad (antibiograma):
 - Agar Muller Hilton
- o. Activación e incubación de las cepas patógenas humanas.
- El inóculo se preparó colocando 2-3 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Staphylococcus aureus*, cultivado hace 18-24 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland (1-2 x10⁸ UFC/ml).
- Para sembrar el microorganismo, se realizó la técnica en césped con ayuda de un hisopo; resultando cubierta toda la superficie.
 - Rotulado de las Placas Petri.
- p. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en discos.
- Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M44-A2 y M60.
- Con una pinza estéril colocamos los discos embebidos, en las cajas Petri (4 con extracto, 1 control negativo y 1 control positivo).
 - Llevamos a la estufa a una temperatura de 37.5⁰ C y dejamos 24 horas.

6.- PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE DATOS

6.1.- Método de Difusión en Disco

- Pasado el tiempo de incubación, se examinó cada placa Petri, y con ayuda de un vernier digital se midieron los diámetros de las zonas de inhibición formados.
- La lectura se realizó mediante la medición en milímetros de los halos de inhibición bacteriana y fúngica, formados por los discos embebidos con la concentración de extracto de *Caesalpinia spinosa*, y los controles científicos.

Se consideró que el diámetro del disco de papel filtro era de 6mm, restándole este valor al obtenido.

- Los resultados se colocaron en la ficha de recolección de datos, donde se los comparó con los halos de inhibición formados por el control positivo y negativo.

Para evaluar la significancia estadística entre los tipos de extracto y entre sus distintas concentraciones, se aplicó el análisis de varianza (ANOVA).

7.- ASPECTOS BIOÉTCOS

Este proyecto de investigación se realizó siguiendo los protocolos de bioseguridad establecidos por el departamento de coordinación de los laboratorios de microbiología y biología molecular de la Universidad Católica de Cuenca. Además se respetaron todas las normas éticas planteadas en la declaración de Helsinki de 1964.

Código: FI26EFEOD58

CAPÍTULO III
RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

1. RESULTADOS

Método de Kirby Bauer

Tabla 1. Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

# Placa	Diámetro halo de inhibición (mm)				CP	CN
	100%	75%	50%	25%		
1	3	2	1	1	7	0
2	3	2	1	1	7	0
3	3	2	1	1	7	0
4	6	4	2	1	9	0
MEDIA	3,75	2,50	1,25	1	7,5	0

Interpretación: El mayor halo fue de 6mm, al 100%, el menor de 1mm al 50% y 25%. No existe variación significativa entre las concentraciones de 50% y 25%.

Tabla 2. Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

# Placa	Diámetro halo de inhibición (mm)					
	100%	75%	50%	25%	CP	CN
1	8	7	6	5	16	0
2	8	7	6	5	16	0
3	9	8	7	6	17	0
4	9	8	7	6	17	0
MEDIA	8,5	7,5	6,5	5,5	16,5	0

Interpretación: El mayor halo fue de 9mm, al 100%, el menor de 5mm al 25%. *Nota:* En la placa # 1 observamos el sinergismo del extracto con el antibiótico.

Tabla 3. Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 90028.

# Placa	Diámetro halo de inhibición (mm)					
	100%	75%	50%	25%	CP	CN
1	20	19	17	15	21	0
2	18	17	15	13	19	0
3	19	18	16	14	20	0
4	19	18.5	15	13	19	0
MEDIA	19	18,1	15,75	13,75	19,75	0

Interpretación: El mayor halo fue de 20mm, al 100%, el menor de 13mm al 25%.

Tabla 4. Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

# Placa	Diámetro halo de inhibición (mm)					
	100%	75%	50%	25%	CP	CN
1	10	8	7	3	9	0
2	10	8	7	3	9	0
3	10	8	7	3	9	0
4	9	7	6	2	8	0
MEDIA	9,75	7,75	6,75	2,75	8,75	0

Interpretación: El mayor halo fue de 10 mm, al 100%, el menor de 2 mm al 25%. Existe una variación significativa con la concentración del 25%, respecto a las demás. La media de inhibición del extracto etanólico de vainas de *C. spinosa* superó al del control positivo (Ampicilina 10m).

Tabla 5. Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

# Placa	Diámetro halo de inhibición (mm)					
	100%	75%	50%	25%	CP	CN
1	11	10	9	8	16	0
2	11	10	9	8	16	0
3	11	10	9	8	16	0
4	11	10	9	8	16	0
MEDIA	11	10	9	8	16	0

Interpretación: El mayor halo fue de 11 mm, al 100%, el menor de 8 mm al 25%.

Tabla 6. Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 90028.

# Placa	Diámetro halo de inhibición (mm)					
	100%	75%	50%	25%	CP	CN
1	22	20	18	16	26	0
2	21	19	17	15	25	0
3	20	18	16	15	24	0
4	22	20	18	15	26	0
MEDIA	21,25	19,25	17,25	15,25	25,25	0

Interpretación: El mayor halo fue de 22 mm, al 100%, el menor de 15 mm al 25%.

Tabla 7. Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de semillas de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

# Placa	Diámetro halo de inhibición (mm)					
	100%	75%	50%	25%	CP	CN
1	1	1	0	0	9	0
2	1	1	0	0	9	0
3	1	0	1	0	9	0
4	1	1	1	0	9	0
MEDIA	1	0,75	0,50	0	9	0

Interpretación: A la concentración del 25% no hubo inhibición. El mayor halo fue de 1 mm, dando una variación significativa comparada con el control positivo, que dio una inhibición de 9 mm.

Tabla 8. Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de semillas de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

# Placa	Diámetro halo de inhibición (mm)					
	100%	75%	50%	25%	CP	CN
1	9	7	6	4	16	0
2	9	7	6	4	16	0
3	10	8	7	5	17	0
4	9	7	6	4	16	0
MEDIA	8,50	7,25	6,25	4,25	16,25	0

Interpretación: El mayor halo fue de 10 mm, al 100%, el menor de 4 mm al 25%.

Tabla 9. Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto etanólico de semillas de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 90028.

# Placa	Diámetro halo de inhibición (mm)					
	100%	75%	50%	25%	CP	CN
1	1	0	0	0	8	0
2	1	0	0	0	8	0
3	1	0	0	0	8	0
4	1	0	0	0	8	0
MEDIA	1	0	0	0	8	0

Interpretación: Se observa una inhibición mínima (1mm) a la mayor concentración.

COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA (HALOS DE INHIBICIÓN) DE LA CAESALPINIA SPINOSA ENTRE LOS DISTINTOS TIPOS DE EXTRACTOS Y SU CORRESPONDIENTE ANÁLISIS DE VARIANZA.

Tabla 10. Eficacia antimicrobiana de los tipos de extracto de *C. spinosa*, sobre los distintos microorganismos y su respectivo análisis de varianza.

CEPA MICROBIANA	TIPO DE EXTRACTO	HALO DE INHIBICIÓN / Concentración de 100%	ANOVA P
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	HOJAS	3,75mm	< 0,0001
	VAINAS	9,75mm	
	SEMILLAS	1mm	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	HOJAS	8,50mm	< 0,0001
	VAINAS	11mm	
	SEMILLAS	8,50mm	
Sobre <i>C. albicans</i> ATCC 90028	HOJAS	19mm	< 0,0001
	VAINAS	8,75mm	
	SEMILLAS	1mm	

INTERPRETACIÓN: En orden descendente la eficacia es de la siguiente manera: **1ro.** Extracto de hojas sobre *C. albicans* ATCC 90028, **2do.** Extracto de vainas sobre *aureus* ATCC 25923, **3ro.** Extracto de vainas sobre *E. faecalis* ATCC 29212, **4to.** Extracto de vainas sobre *C. albicans* ATCC 90028, **5to.** Extracto de hojas y semillas para *S. aureus* ATCC 25923, **6to.** Extracto de hojas sobre *E. faecalis* ATCC 29212: y **7mo.** Extracto de semillas sobre *E. faecalis* ATCC 29212 y sobre *C. albicans* ATCC 90028. Según el análisis de varianza entre el efecto causado por los distintos tipos de extracto a la concentración del 100%, sobre los diferentes microorganismos, las diferencias son estadísticamente significativas.

2. DISCUSIÓN

Esta investigación constituye un aporte novedoso para la comunidad científica ya que existe muy poca información publicada acerca del tema. En Ecuador, se reportan únicamente dos estudios; y ambos prueban el efecto antibacteriano del fruto de la *C. spinosa* sobre *E. faecalis*. Mientras tanto, éste estudio abarca un campo de investigación más amplio, haciendo comparaciones entre los distintos tipos de extracto obtenidos de diferentes órganos de la planta (hojas, vainas y semillas); y su efecto inhibitorio sobre el crecimiento de dos tipos de bacterias y un hongo; algunos de los más frecuentes responsables de patologías orales.

Se atribuye la actividad antimicrobiana de la *C. spinosa*, a la presencia de metabolitos de taninos y flavonoides entre sus componentes; además estos poseen acción antihemorrágica local, antihepatotóxica y antidiarréica.²⁹⁻³³

Así, el estudio de Bornaz V⁴⁹, que compara el efecto antimicrobiano de *C. spinosa* 60%, con el del hipoclorito de sodio (HClO) al 5.25%, sobre el *E. faecalis*; dio como resultado un halo inhibitorio de 6,33 mm con *C. spinosa*; frente al HClO, que logró un halo de 2,82 mm. Estos resultados se asemejan a lo obtenido en ésta investigación, donde observamos un halo de 6,75 mm con el extracto etanólico de vainas al 50%, y un halo de 9,75mm al 100%.

Es importante citar el estudio de Benites C.⁽⁴⁸⁾, donde se obtuvo el extracto del fruto entero (vaina + semilla) de *C. spinosa*, y se probó su efecto anti fúngico sobre *C. albicans*; el halo de inhibición fue de 15.25 mm; en nuestro estudio se obtuvo los extractos por separado, ambos resultados del halo de inhibición no superaron los 11 mm; podemos atribuir éste hecho a que el sinergismo entre ambos componentes de la planta, incrementen la eficacia antimicrobiana del extracto.

El estudio de Chávez L.⁽⁴⁵⁾, reveló que el extracto etanólico de *C. spinosa* 100% (34.50mm) supera el efecto inhibitorio de oxacilina (31.50mm), sobre el *E. faecalis*. Del mismo modo este estudio probó que el extracto etanólico de vainas (9.75mm) supera el efecto inhibitorio de la ampicilina (8.75mm), sobre el *E. faecalis*. Por lo que éste extracto podría ser utilizado como un coadyuvante con ampicilina en el tratamiento contra *E. faecalis*.

En cuanto a los tipos de extracto de acuerdo a su forma de obtención, Cano D.⁽⁴⁷⁾, probó que la actividad antimicrobiana del aceite esencial (18.09mm) de *C. spinosa* es mayor en comparación al de su infusión (17.11mm). Nuestra investigación aporta que el extracto etanólico, es aún más eficaz, dando un halo promedio de 19 mm, sobre el *S. aureus*, y a este valor hay que sumarle 6 mm; ya que en el estudio de Cano D., no se restó el diámetro original del disco, lo que nos daría un halo de 25mm.

El halo de inhibición causado por efecto del extracto etanólico de vainas de *C. spinosa* sobre cepas de *S. mutans*, reportado en el estudio de Centurión K⁽⁵⁰⁾, fue de 26.5mm en promedio; significativamente mayor al reportado por Cortéz K⁽⁵¹⁾, que evidencio un halo de 13mm. Los halos que obtuvimos con el mismo extracto, aplicado sobre *E. faecalis*, *S. aureus* y *C. albicans*; fueron de (9.75mm, 11mm y 8.75mm respectivamente). Notamos que existen diferencias importantes entre los resultados, por lo que se recomienda seguir estudiando los distintos tipos de extracto (de hojas, de vainas y de semillas) sobre más tipos de microorganismos.

En cuanto al efecto anti fúngico de la *C. spinosa* sobre la *C. albicans*, Benites C., en su publicación, obtuvo un promedio de halo de inhibición de 8.60 mm; lo que concuerda con nuestros resultados (8.75mm).

Recomendación.

Considero importante aprovechar del potencial medicinal de este recurso natural, contribuyendo a mejorar la calidad de vida y salud de las personas; y alternativa a la creciente resistencia antimicrobiana; además de que el costo de su producción, es sumamente bajo en comparación con los fármacos genéricos tradicionales.

Se recomienda realizar estudios para probar el efecto antimicrobiano de *Caesalpinia spinosa*, sobre otros microorganismos patógenos.

3. CONCLUSIONES

- Los extractos etanólicos de *Caesalpinia spinosa* tienen efecto antimicrobiano *in vitro* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 90028.
- El extracto etanólico de hojas de *Caesalpinia spinosa* posee efecto antimicrobiano *in vitro*, directamente proporcional a su concentración.
- El extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* posee efecto antimicrobiano *in vitro*, directamente proporcional a su concentración.
- El extracto etanólico de semillas de *Caesalpinia spinosa* posee efecto antimicrobiano *in vitro*, directamente proporcional a su concentración.
- La mejor eficacia antimicrobiana de la *Caesalpinia spinosa*; está en sus hojas, cuando se coloca sobre *C. albicans* ATCC 90028. Inmediatamente después, se ubica el extracto de las vainas, que fue eficaz en la inhibición de los tres tipos de microorganismos estudiados. Finalmente, el extracto de semillas fue el que mostró menor acción inhibitoria, siendo casi nula sobre *E. faecalis* ATCC 29212 y sobre *C. albicans* ATCC 90028.

BIBLIOGRAFÍA

1. Calderón GR y Aguilar LU. Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica. Vol. XXIII (621) 757-763, 2016. Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/621/art03.pdf>
2. Cruz SM, Sjostrom PD, Arias DS, et al. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. Revista Cubana Estomatología. Vol.54 (1) 84-99, 2017. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072017000100008
3. Cabrera YC, Fadragas AF y Guerrero LG. Antibióticos Naturales. Mito o realidad. Revista Cubana Medicina General Integral. Vol. 21(3-4). 2005. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252005000300025
4. Howard FJ y Richard JL. Ecología microbiana oral. Capítulo 5. En: Lamont RJ. Microbiología e Inmunología Oral. Primera edición. México DF: Editorial El Manual Moderno; 2015. Páginas 93-107.
5. Liébana JU, González MP, Liébana MJ y Parra LE. Composición y ecología de la microbiota oral. Capítulo 51. En: Liébana JU. Microbiología oral. Segunda edición. Madrid: Editorial McGraw-HIL; 2002. Páginas 515-526.
6. Burton R, Louis R y Craig J. Microbiología endodóntica. Capítulo 18. En: Lamont RJ. Microbiología e Inmunología Oral. Primera edición. México DF: Editorial El Manual Moderno; 2015. Páginas 341-350.
7. Méndez MC, Tejerina JM y Villa MA. Microbiología de los procesos endodónticos. Capítulo 56. En: Liébana JU. Microbiología oral. Segunda edición. Madrid: Editorial McGraw-HIL; 2002. Páginas 597-606.
8. Canalada SC y Brau AE. Endodoncia. Técnicas clínicas y bases científicas. Segunda edición. Barcelona: Editorial Masson; 2006.
9. Carrero CM, González MC, Martínez MA, et al. Baja frecuencia de *Enterococcus faecalis* en mucosa oral de sujetos que acuden a consulta odontológica. Rev. Fac Odontol Univ Antioq 2014; 26(2): 261-270. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfoua/v26n2/v26n2a03.pdf>
10. Liébana JU. Microbiología Oral. Segunda edición. Madrid: 2002.
11. Lamont RJ, Hajishengallis GN y Jenkinson HF. Microbiología e Inmunología Oral. Primera edición. México DF: 2015.

12. Hincapié CO, Caraballo CC, et al. Caracterización clínica y microbiológica de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus*. Rev. Acta Médica Colombiana 2018; Vol. 43 N°4. Disponible en: <http://www.actamedicacolombiana.com/anexo/articulos/2018/04-2018-04.pdf>
13. Delaloye J y Calandra T. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. Rev. Virulence 2014; 5:1, 161–169. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3916370/pdf/viru-5-161.pdf>
14. Organización Mundial de la Salud. ¿Qué es la resistencia a los antimicrobianos? [Internet]. 2017. Disponible en: <http://www.who.int/features/qa/75/es/>
15. Pérez HP y Contreras AR. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. Revista Médica MD 2013 4(3):186-191pp. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2013/md133i.pdf>
16. Rojas GC y Ulate LA. Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. Revista médica de Costa Rica y Centroamérica 2016; (621) 757 – 763. Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/621/art03.pdf>
17. López KA, Dzul KR, Lugo CC, et al. Mecanismos de resistencia anti fúngica de los azoles en *Candida albicans*. Art. De Revisión. Rev. Biomed 2016; 27:127-136. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2016/bio163e.pdf>
18. Durán MD. Resistencia antimicrobiana e implicancias para el manejo de infecciones. Rev. Med. Clin. Condes - 2018; 29(2) 213-221. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-pdf-S0716864018300294>
19. Dhananjaya SP y Hans UD. Pharmacological potentials of phenolic compounds from *Prosopis* spp.-a review. Journal of Coastal Life Medicine: 2014; 2(11): 918-924. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/284167272_Pharmacological_potentials_of_phenolic_compounds_from_Prosopis_spp-a_review
20. Charco J. La Tara: Ficha técnica # 9. Cartilla Ecuador forestal. 2015. Disponible en: <http://www.ecuadorforestal.org/download/contenido/tara.pdf>
21. Cabello IL. Monografía; Tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. 2010. Disponible en: <http://repositorio.promperu.gob.pe/repositorio/handle/123456789/1373>

22. Ocharan CS, Novoa EM, Linares EA, et al. Avances En La Morfología Floral De *Caesalpinia Spinosa* (Feuillee Ex Molina) Kuntze “Tara”, Un Árbol Nativo De La Flora Peruana. *The Biologist* (Lima) 2016: Vol. 14, Nº1. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/296639030_Advances_on_the_floral_morphology_of_Caesalpinia_spinosa_Feuillee_ex_Molina_Kuntze_tara_a_native_tree_to_Peruvian_flora
23. Abdo S, Guaman M y Flores L. Comparación del efecto cicatrizante de extractos de “guarango” (*Caesalpinia spinosa*) y “sangre de drago” (*Croton lechleri*) en heridas de castración de “lechones” (*Sus scrofa*). *Vitae, Revista de La Facultad De Química Farmacéutica Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia* 2014: 21(1): 2145-2660. Disponible en: <http://www.redalyc.org/service/redalyc/downloadPdf/1698/169831208054/6>
24. Callohuari R, Sandoval M, Huamán O, et al. Efecto gastroprotector y capacidad antioxidante del extracto acuoso de las vainas de *Caesalpinia spinosa* ‘tara’, en animales de experimentación. *A Fac med.* 2017; 78(1):61-6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v78i1.13023>
25. Santamaría C, González A y Astorga F. Extractos vegetales aplicación para la reducción del estrés. *Rev. Nutrnews.* 2015: 75-80. Disponible en: <https://nutricionanimal.info/download/0315-ena-WEB.pdf>
26. Reyes F, Palou E y López A. Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana y de determinación de los componentes químicos de los aceites esenciales. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos.* 2014; 8 (1): 68-78
27. World Health Organization. Annex 2: WHO good practices for pharmaceutical microbiology laboratories. En: *WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: forty-fifth report.* Geneva: World Health Organization; 2011. (WHO technical report series; 961). Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2013/Red-PARF-No11Es.pdf>
28. Huarino AM. Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre la flora salival mixta. Tesis para obtener el título de cirujano dentista, Universidad nacional mayor de San Marcos, Lima, Perú. 2011. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/2829>
29. Aguilar G, Norato GF, Chambi FD, et al. Potential of “tara” (*Caesalpinia spinosa*) gallotannins and hydrolysates as natural antibacterial compounds. *Food chem.* 2014: 1(156): 301-4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24629972>

30. Guevara GJ, Guevara GJ, Guevara DJ, et al. Evaluación del cocimiento de diferentes biovariedades de *Caesalpinia spinosa* ("tara") frente a cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles y resistentes a oxacilina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima, Perú *Anales de la Facultad de Medicina*. 2014; 75 (2): 177-180. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832014000200015&script=sci_abstract
31. Montenegro CJ. Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* ("tara") sobre *Porphyromonas gingivalis*. Universidad Nacional Mayor De San Marcos Facultad De Odontología. Tesis para optar el Título Profesional De Cirujano Dentista. 2014. Lima. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992018000300008
32. Américo JC, Ramos NJ, Juárez JR, et al. Composición Química Del Aceite Esencial De *Caesalpinia Spinosa* "Tara", Evaluación Antioxidante Y Efecto Antibacteriano Frente A *Streptococcus mutans*. *Rev. Ciencia e Investigación* 2016; 19(2): 89-94. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/13636>
33. Bornaz JG, Bornaz VL y Bornaz MC. Efecto In Vitro De La Solución De *Caesalpinia Espinosa* (Tara) Al 60%, E Hidróxido De Calcio Y Gluconato De Clorhexidina Al 2% En El Halo Inhibitorio Microbiano De *Enterococcus faecalis*. *Cienc.desarro. (Tacna)* ISSN 2304-8891; 2014; 17:13-16. Disponible en: <http://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/CYD/article/view/381/0>
34. Añanca ER. 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, Universidad Nacional Jorge Basadre, 2009: Tacna, Perú. Disponible en: <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/624>
35. Araujo DJ y Salas AR. Actividad antimicrobiana del extracto crudo de la vaina de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a *Staphylococcus aureus*. *Científica*, 2009; 6(2), 142-155. Disponible en: <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/624>
36. Campos D, Aguilar A, Noratto G, Chambi F y Debaste F. Potential of tara (*Caesalpinia spinosa*) gallotannins and hydrolysates as natural antibacterial compounds. *Food Chemistry*, 2014; 156(2), 301-304. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24629972>

37. Escobar BL y Chávez CM. Efecto in vitro de diferentes concentraciones de extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae*. Rev. Mes Vallejana, 2008: 5(1), 28-37. Disponible en: https://issuu.com/-ucsur-/docs/cientifica_6-2/52
38. Liu BH, Lengua VL, León MG, et al. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de *Caesalpinia spinosa* "tara" y *Eucalyptus* sp. "Eucalipto". Horizonte médico, 2002: 2(1-2). Disponible en: http://www.medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2002/Art7_Vol2_N1-2.pdf
39. Medel M, Hart M y Batista M. Sensibilidad antimicrobiana in vitro en aislamientos de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* obtenidos de pacientes hospitalizados. Revista Biomédica. Volumen 34. 2014. Disponible en: <https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/2122>
40. Sanabria G. Evolución de la resistencia en el *Staphylococcus aureus*. Revista Inst. Med. Trop. Vol. 3(2) 27-39. Disponible en: <http://www.ins.gov.py/revistas/index.php/revistaimt/article/download/142/113>
41. Zuritta S. Situación de la resistencia anti fúngica de especies del género *Cándida* en Perú. Revista Peruana De Medicina Experimental Y Salud Pública. Vol. 35(1). 2018. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342018000100019
42. Ordóñez D. Uso de plantas medicinales por personas de sabiduría del cantón Sígsig. Universidad De Cuenca, Facultad De Ciencias Médicas. 2015. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/25263/1/Tesis.pdf>
43. Mainato M. Nivel de conocimiento de adolescentes sobre uso de plantas medicinales tradicionales en la comunidad Quilloac. Universidad De Cuenca, Facultad De Ciencias Médicas. 2017. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28791/1/PROYECTO%20DE%20INVESTIGACI%C3%93N.pdf>
44. Melo F, Glorio P, Tarazona R, et al. Efecto de la madurez en los componentes de valor comercial (taninos y goma) de tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. Revista de la Sociedad Química del Perú. 2013, 79 (3). Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371937632004>
45. Chávez L. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa* "tara" sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina. Universidad César Vallejo. Trujillo 2018. Disponible en: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/25520/chavez_bl.pdf?sequence=1&isAllowed=y

46. Cano D. Efecto inhibitorio in vitro de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococcus mutans*. Rev. ALICIA. Puno 2017. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/RNAP_d1373e541253ca810d2f197d0d9a7f34
47. Benites C. Efecto inhibitorio In Vitro del extracto etanólico de *caesalpinia spinosa* ("tara") sobre cepa de *Candida albicans* ATCC 90028. Universidad Privada Antenor Orrego. 2016. Disponible en: <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/1313>
48. Bornaz A, Bornaz J. Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Caesalpinia espinosa* (tara) al 60 %, sobre el *Enterococcus faecalis*. Artículo Original. Revista OACTIVA UC Cuenca. Vol. 3, No. 3, pp. 17-22, Septiembre-Diciembre, 2018. Disponible en: <http://oactiva.ucacue.edu.ec/index.php/oactiva/article/download/274/436>
49. Centurión K. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Universidad Privada Entenor Orrego. Perú. 2015. Disponible en: <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/972>
50. Cortés K., Mego L. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* "Taya", frente a *Streptococcus mutans*. UPAGU. Perú. 2017. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/458>
51. 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*. Universidad Central del Ecuador. 2015. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/4082>.
52. Tolentino J. Efecto del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 2012. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2432>.
53. Nancy Rojas, Rosa Avilés, Eglinton Villacaqui, Elizabeth Neira, et al. Tratamiento de quemaduras con películas obtenidas por radiación gamma que contienen extracto hidroalcohólico de tara (*Caesalpinia spinosa*) en animales de experimentación. Rev. Dermatología Peruana. 21. 6-12. 2011. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/288503638_Tratamiento_de_quemaduras_con_pelculas_obtenidas_por_radiacion_gamma_que_contienen_extracto

- [hidroalcoholico de tara Caesalpinia spinosa en animales de experimentacion/citation/download](#)
54. Charco J. Evaluación De La Actividad Cicatrizante De Un Gel Elaborado A Base De Los Extractos De Guarango (*Caesalpinia Spinosa*), Nogal (*Juglans Regia*) Y Tomillo (*Thymus Vulgaris*) En Ratones (*Mus Musculus*). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2015. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/3945>
 55. Allaica N. Comparación Del Efecto Cicatrizante De Tinturas Elaboradas A Base De Guarango (*Caesalpinia spinosa*) Y Sangre De Drago (*Croton lechleri*) aplicados en ratones (*Mus musculus*). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2015. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4009>
 56. Noriega M. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* sobre la viabilidad de *Streptococcus B-hemolítico*. Perú. 2007. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10583/Tesis%20Maestr%C3%adaX%20%20Magaly%20De%20la%20Cruz%20Noriega.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 57. 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*. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 2016. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2851>
 58. Jiménez J. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*. Chimbote. 2016. Disponible en: http://repositorio.usanpedro.edu.pe/bitstream/handle/USANPEDRO/744/Tesis_43814.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 59. Zurita G. Efecto Inhibitorio *In Vitro* Del Extracto Etanólico De “*Caesalpinia Spinosa*” Sobre *Pseudomonas Aeruginosa*. UPAO. 2018. Disponible en: [http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/73/browse?type=title&sort by=1&order=ASC&rpp=35&etal=1&null=&offset=364](http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/73/browse?type=title&sort%20by=1&order=ASC&rpp=35&etal=1&null=&offset=364)
 60. Huashuayo A y Lucymar A. Actividad antibacteriana de los extractos químicos de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.Rev. ALICIA. 2016. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNSJ_a4228e579b53c60e7f300db51634822f

61. Flores C. Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa* Taya sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 2011. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/442>
62. Ramos A. Actividad Antibacteriana De La *Caesalpinia Spinosa* (Tara) En Diferentes Concentraciones (45% Y 75%) Sobre La *Prevotella Interme* Arequipa – 2016. Disponible en: <http://repositorio.uap.edu.pe/handle/uap/5032>
63. Nuñez W. Evaluación antioxidante y anti enzimática *in vitro* y antiinflamatoria *in vivo* del extracto hidroalcohólico de la *Caesalpinia spinosa* “tara”. Perú. 2017. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/4484>
64. Castro B y Aucapuma N⁶⁴: Efecto Antibacteriano *In Vitro* Del Extracto Alcohólico De *Caesalpinia Spinosa* (Tara), Sobre *Enterococcus Faecalis* y *Staphylococcus Aureus*, Obtenidos De Conductos Radiculares Con Necrosis Pulpar. 2017. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/458>
65. Jiménez L. Efecto Antibacteriano *in vitro* de la *Caesalpinia Spinosa* (Tara) en diferentes concentraciones sobre el *Lactobacillus Acidophilus*. Arequipa. Perú. 2016. Disponible en: <http://repositorio.uap.edu.pe/handle/uap/4388>
66. Huarino M y Ramos D. Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre flora salival mixta. Revistas de investigación UNMSM. Perú. 2012. Vol. 15 Núm. 1. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/2829>
67. Villavicencio E., Torracchi E., Pariona M., Alvear M., ¿Cómo plantear las variables de una investigación?: Operacionalización de las variables, Revista OACTIVA UC. Cuenca, 2019, 4 (1), Pág. 9-14. Disponible en: <http://oactiva.ucacue.edu.ec/index.php/oactiva/article/view/289/500>

ANEXOS



EFFECTO ANTIMICROBIANO *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE *CAESALPINIA SPINOSA*, SOBRE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *CANDIDA ALBICANS*.

**ANEXO 1
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

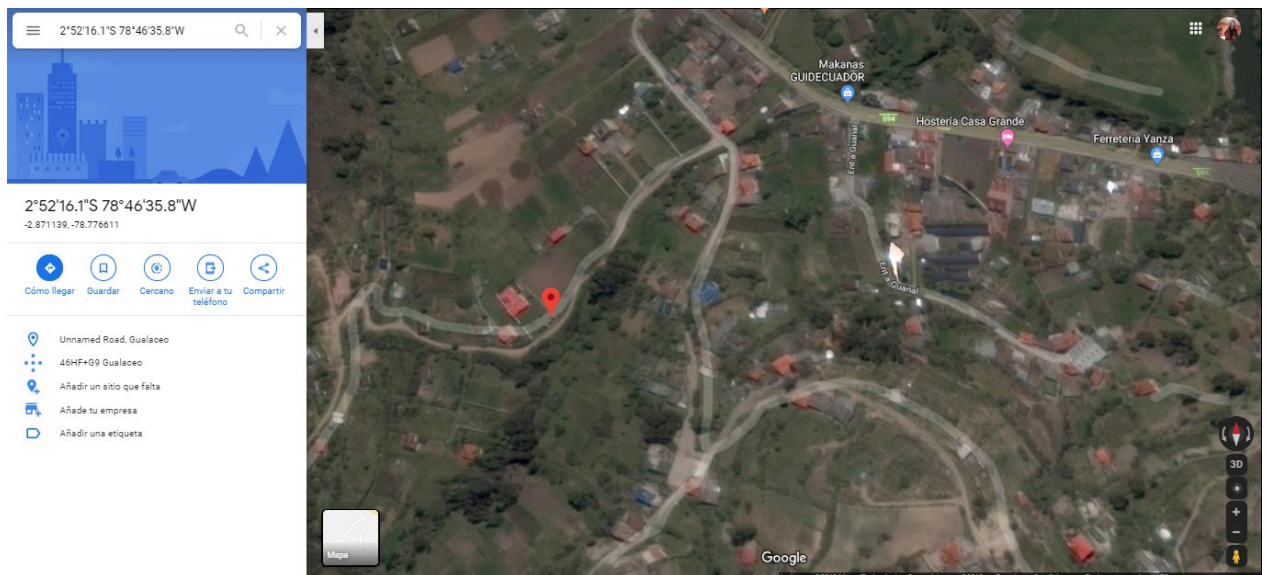
FECHA:						
CEPA MICROBIANA:						
TIPO DE EXTRACTO:						
HALO DE INHIBICIÓN (mm)						
Nro.	100%	75:	50%	25%	CP	CN
Placa 1						
Placa 2						
Placa 3						
Placa 4						
OBSERVACIONES:						

FECHA:						
CEPA MICROBIANA:						
TIPO DE EXTRACTO:						
HALO DE INHIBICIÓN (mm)						
Nro.	100%	75:	50%	25%	CP	CN
Placa 1						
Placa 2						
Placa 3						
Placa 4						
OBSERVACIONES:						

FECHA:						
CEPA MICROBIANA:						
TIPO DE EXTRACTO:						
HALO DE INHIBICIÓN (mm)						
Nro.	100%	75:	50%	25%	CP	CN
Placa 1						
Placa 2						
Placa 3						
Placa 4						
OBSERVACIONES:						

EFFECTO ANTIMICROBIANO *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE *CAESALPINIA SPINOSA*, SOBRE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *CANDIDA ALBICANS*.

**ANEXO 2
UBICACIÓN DEL SECTOR DE DONDE SE RECOLECTARON LAS MUESTRAS**





EFFECTO ANTIMICROBIANO *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE *CAESALPINIA SPINOSA*, SOBRE *ENTEROCOCCUS FAECALIS*, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *CANDIDA ALBICANS*.

**ANEXO 3
CERTIFICADO DE LA IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE DE LA PLANTA,
POR EXPERTOS EN EL ÁREA DE BOTÁNICA Y AGRICULTURA.**



UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE CUENCA
COMUNIDAD EDUCATIVA AL SERVICIO DEL PUEBLO

Cuenca, 2019-05-01

Asunto: Avance a identificación de especie

Señor Ingeniero
René Orellana Maita Mgs.
Director de Carrera de Ingeniería Agronómica
Unidad Académica de Agricultura, Silvicultura, Pesca y Veterinaria
Su despacho.

Señor Director:

Como un avance al oficio en el que se dio respuesta a la identificación de la planta del género *Caesalpinia* y fundamentado en el nuevo material proporcionado, se establece que la especie en cuestión es *Caesalpinia spinosa*.

Es todo cuanto se informa para los fines pertinentes.

Gracias la atención

Un saludo

Juan Carlos González Rojas

P.F. No. ACCESS-2018-Z06-0056547

CERTIFICADO DE PERMISO DE FUNCIONAMIENTO

SERVICIOS DE SALUD

CLASE DE RIESGO : **A**

De conformidad con lo establecido en la Ley Orgánica de Salud, se confiere el Permiso de Funcionamiento a:

Razon social: **UNIVERSIDAD CATOLICA DE CUENCA** Nombre comercial: **LABORATORIO QUIMICO MICROBIOLOGICO Y BROMATOLOGICO**

Propietario o representante legal: **POZO CABRERA ENRIQUE EUGENIO**

No. RUC: **0190032981001**

No. establecimiento: **018**

Entidad: **PRIVADO**

Unicodiglo: **28216**

Tipo: **ESTABLECIMIENTOS DE SERVICIOS DE SALUD PÚBLICOS Y PRIVADOS / SERVICIOS DE APOYO / LABORATORIO DE ANALISIS CLINICO / Laboratorio de Análisis Clínico de mediana complejidad** Código: **5.2.2**

Responsable técnico: **PARDO VICUÑA MARIA DE LOURDES**

Ubicación:

Provincia: **AZUAY**

Cantón: **CUENCA**

Parroquia: **CUENCA**

Dirección: **AV. AMERICAS S/N y HUMBOLT**

Barrio: **BELLAVISTA**

Fecha de emisión: **2018-11-18**

Fecha de vencimiento: **2019-11-18**

Aprobado por:

**ALARGON CALLE JENNIFER ALEXANDRA
DELEGADO/A PROVINCIAL DE LA ACCESS**

Verifique la validez del certificado



ANEXO 5. APROBACIÓN DEL COMITÉ DE BIOÉTICA DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA



UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE CUENCA
COMUNIDAD EDUCATIVA AL SERVICIO DEL PUEBLO

Cuenca, 30/5/2019

El Comité Institucional de Bioética en Investigación en Seres Humanos de la Universidad Católica de Cuenca, Carrera de Medicina.

CERTIFICA

Que ha conocido, analizado y aprobado el **proyecto de investigación** titulado

EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE EXTRACTOS DE CAESALPINIA SPINOSA, SOBRE ENTEROCOCCUS FAECALIS, STAPHYLOCOCCUS AUREUS Y CANDIDA ALBICANS.

Trabajo de titulación realizado por Carol Gissel Flores Regalado

Código: FI26EFEOD58



A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Carlos Flores Montesinos'.

DR. CARLOS FLORES MONTESINOS

RESPONSABLE COMITÉ DE BIOÉTICA

ANEXO 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE VARIANZA (ANOVA)

- Análisis de varianza de los halos de inhibición producidos por los diferentes tipos de extracto (hojas, vainas, semillas), para *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 25923 y *C. albicans* ATCC 90028.

Tabla 10. Análisis de varianza entre los tipos de extracto para *E. faecalis* 29212.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	2	160,167	80,083	96,100	< 0,0001
Error	9	7,500	0,833		
Total corregido	11	167,667			

Interpretación: Las diferencias son estadísticamente significativas.

Tabla 11. Análisis de varianza entre los tipos de extracto para *S. aureus* ATCC 25923.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	2	13,167	6,583	33,857	< 0,0001
Error	9	1,750	0,194		
Total corregido	11	14,917			

Interpretación: Las diferencias son estadísticamente significativas.

Tabla 12. Análisis de varianza entre los tipos de extracto para *C. albicans* ATCC 90028.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	2	652,167	326,083	156,520	< 0,0001
Error	9	18,750	2,083		
Total corregido	11	670,917			

Interpretación: Las diferencias son estadísticamente significativas.

- **Análisis de varianza entre las distintas concentraciones del extracto (100%,75%,50%,25%); tanto para EEHCS, EEVCS y EESCS; sobre *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 25923 y *C. albicans* ATCC 90028, respectivamente.**

Tabla 13. Análisis de varianza entre las distintas concentraciones del extracto de hojas sobre *E. faecalis* ATCC 29212.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	3	19,250	6,417	7,333	0,005
Error	12	10,500	0,875		
Total corregido	15	29,750			

Interpretación: Las diferencias no son estadísticamente significativas.

Tabla 14. Análisis de varianza entre las distintas concentraciones del extracto de hojas sobre *S. aureus* ATCC 25923.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	3	20,000	6,667	20,000	< 0,0001
Error	12	4,000	0,333		
Total corregido	15	24,000			

Interpretación: Las diferencias son estadísticamente significativas.

Tabla 15. Análisis de varianza entre las distintas concentraciones del extracto de hojas sobre *C. albicans* ATCC 90028.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	3	95,250	31,750	4,854	0,020
Error	12	78,500	6,542		
Total corregido	15	173,750			

Interpretación: Las diferencias son estadísticamente significativas.

Tabla 16. Análisis de varianza entre las distintas concentraciones del extracto de vainas sobre *E. faecalis* ATCC 29212.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	3	104,000	34,667	138,667	< 0,0001
Error	12	3,000	0,250		
Total corregido	15	107,000			

Interpretación: Las diferencias son estadísticamente significativas.

Tabla 17. Análisis de varianza entre las distintas concentraciones del extracto de vainas sobre *S. aureus* ATCC 25923.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	3	20,000	6,667		
Error	12	0,000	0,000		
Total corregido	15	20,000			

Interpretación: Las medias de las muestras son idénticas.

Tabla 18. Análisis de varianza entre las distintas concentraciones del extracto de vainas sobre *C. albicans* ATCC 90028.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	3	41,188	13,729	9,551	0,002
Error	12	17,250	1,438		
Total corregido	15	58,438			

Interpretación: Las diferencias no son estadísticamente significativas.

Tabla 19. Análisis de varianza entre las distintas concentraciones del extracto de semillas sobre *E. faecalis* ATCC 29212.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	3	2,188	0,729	5,000	0,018
Error	12	1,750	0,146		
Total corregido	15	3,938			

Interpretación: Las diferencias no son estadísticamente significativas.

Tabla 20. Análisis de varianza entre las distintas concentraciones del extracto de semillas sobre *S. aureus* ATCC 25923.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	3	52,000	17,333	69,333	< 0,0001
Error	12	3,000	0,250		
Total corregido	15	55,000			

Interpretación: Las diferencias son estadísticamente significativas.

Tabla 21. Análisis de varianza entre las distintas concentraciones del extracto de semillas sobre *C. albicans* ATCC 90028.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	3	3,000	1,000		
Error	12	0,000	0,000		
Total corregido	15	3,000			

Interpretación: Las medias de las muestras son idénticas.

ANEXO 7. FOTOGRAFÍAS DEL PROCESO DE INVESTIGACIÓN Y RESULTADOS.



Fig 1. Recolección de la muestra



Fig 2 y 3. Fruto y hojas de *C. spinosa*.



Fig 4. Preparación de la muestra.



Fig 5 y 6. Secado en la estufa.



Fig 7 y 8. Separación de las vainas y semillas.

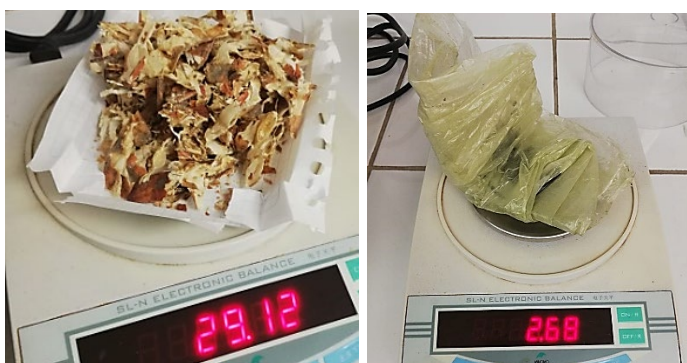


Fig 9. Pesaje y control de porcentaje de pérdida de muestra



Fig 10,11y12. Triturado de vainas y hojas / molido de semillas.



Fig 13, 14 y 15. Reposo de las muestras de hojas, vainas y semillas; en etanol.



Fig 16. Filtrado del concentrado etanólico.

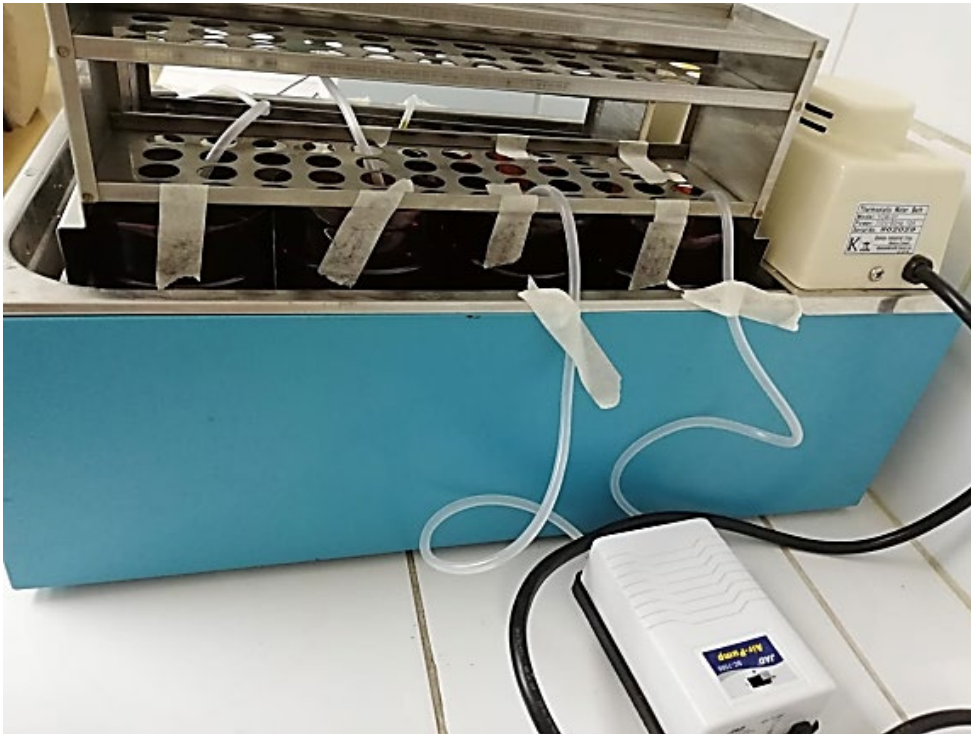


Fig 17. Evaporación con el uso de baño maría y aireadores.



Fig 18. Control de humedad y desecamiento con sílica gel.



Fig 19. Diluciones al 100%, 75%, 50% y 25% de cada extracto.



Fig 20 y 21. Dilución con pipeta en tubos de ensayo.

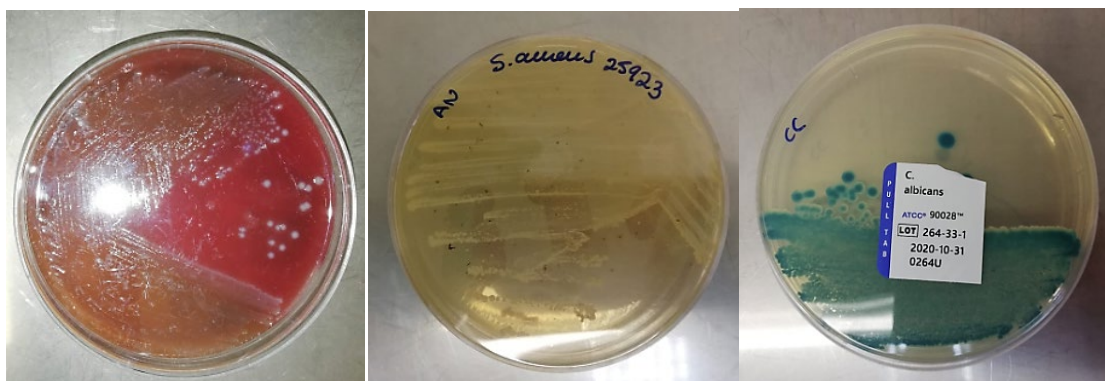


Fig 22, 23 y 24. Cepas microbianas activadas: *E. faecalis*, *S. aureus* y *C. albicans*

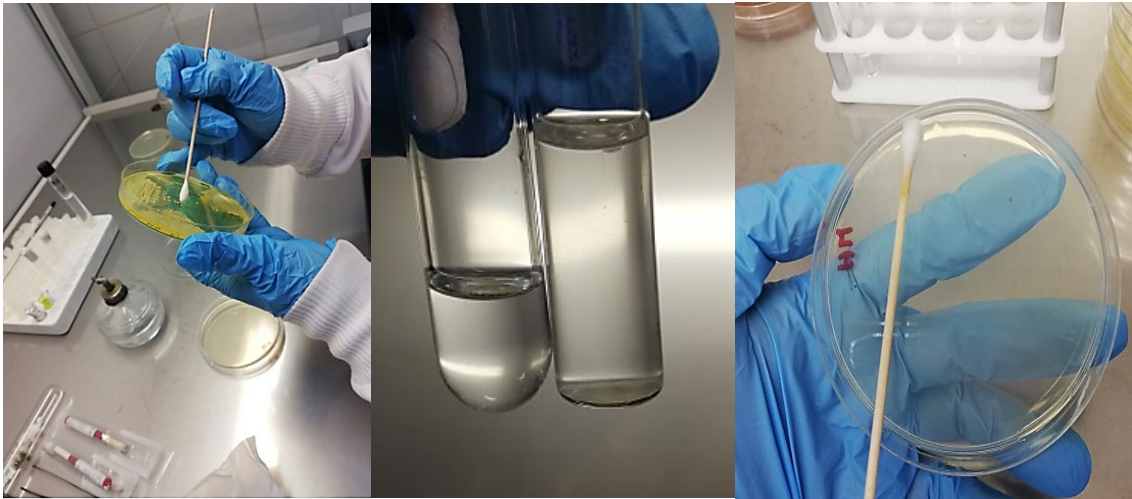


Fig 25, 26 y 27. Sembrado de los microorganismos con la técnica en césped.

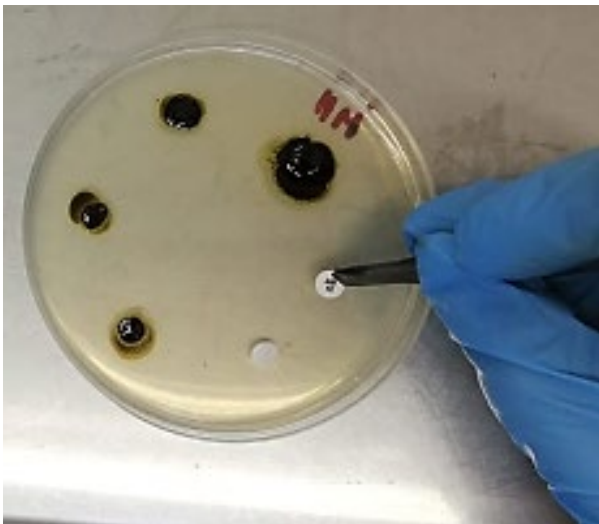


Fig 28. Colocación de los discos y controles.



Fig 29. Lectura de os halos de inhibición.

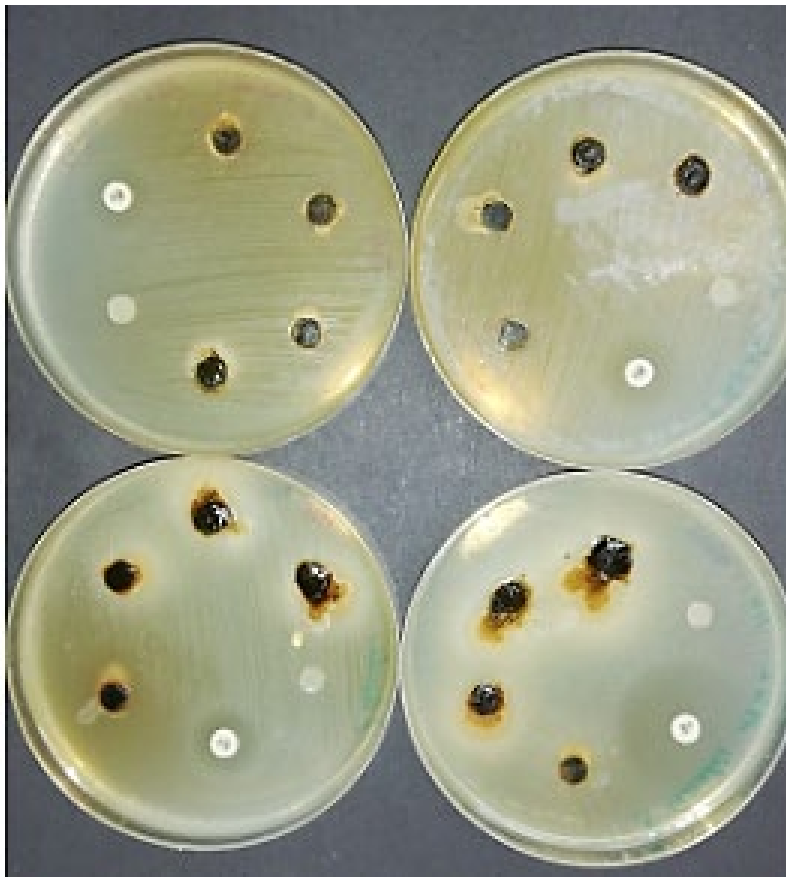


Fig 30. EEHCS sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

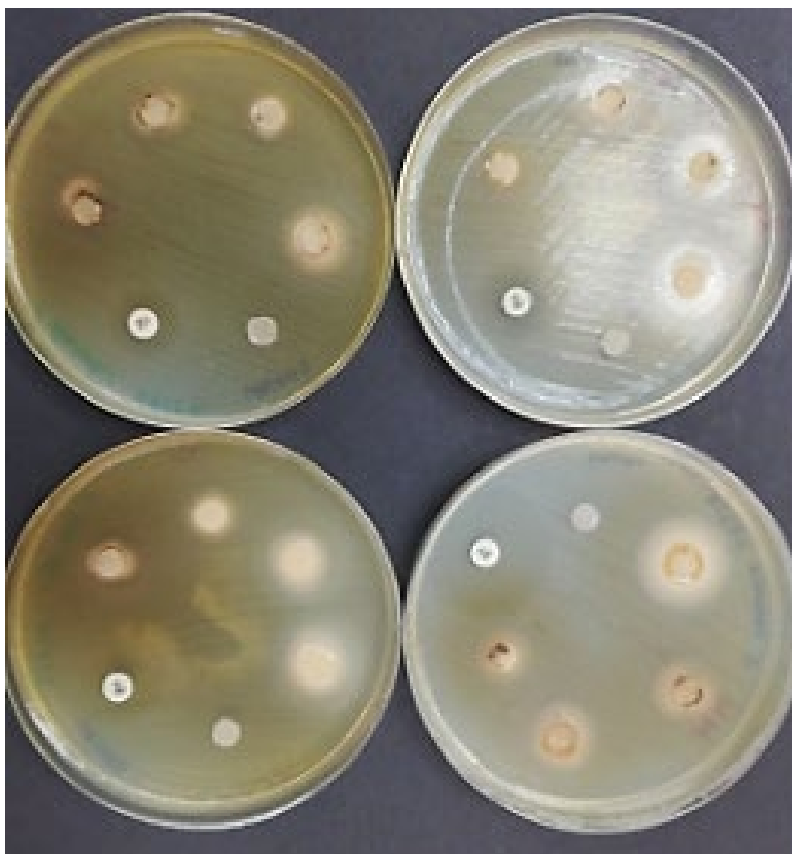


Fig 31. EEVCS sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

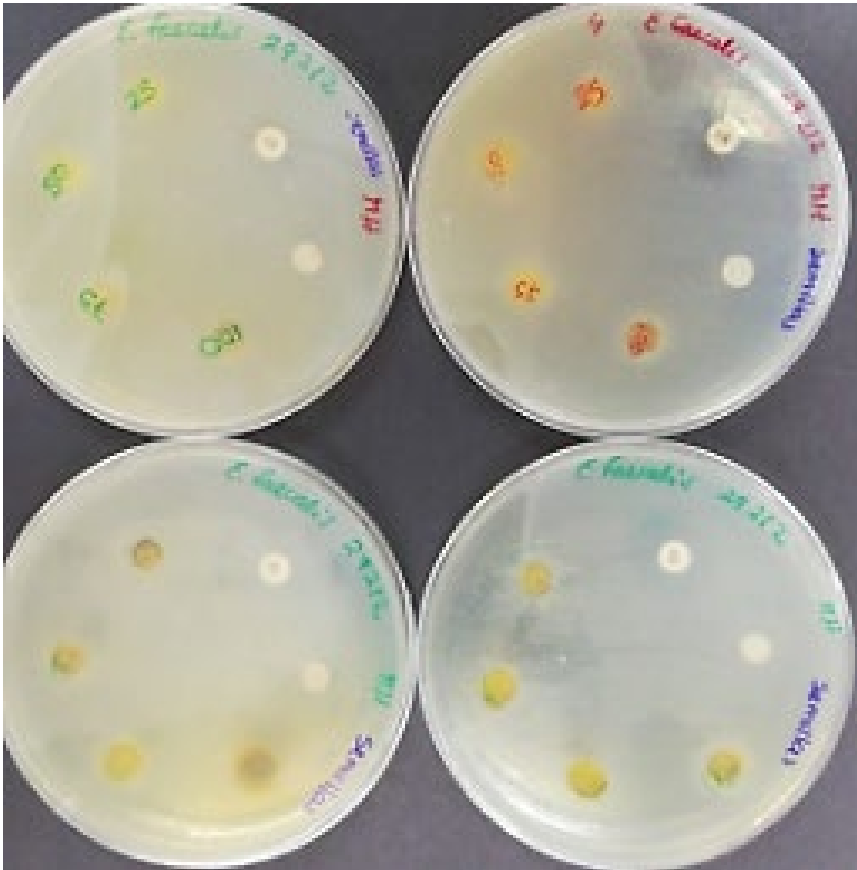


Fig 32. EESCS sober *Enterococcus faecalis* ATCC 29212



Fig 33. EEHCS sober *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

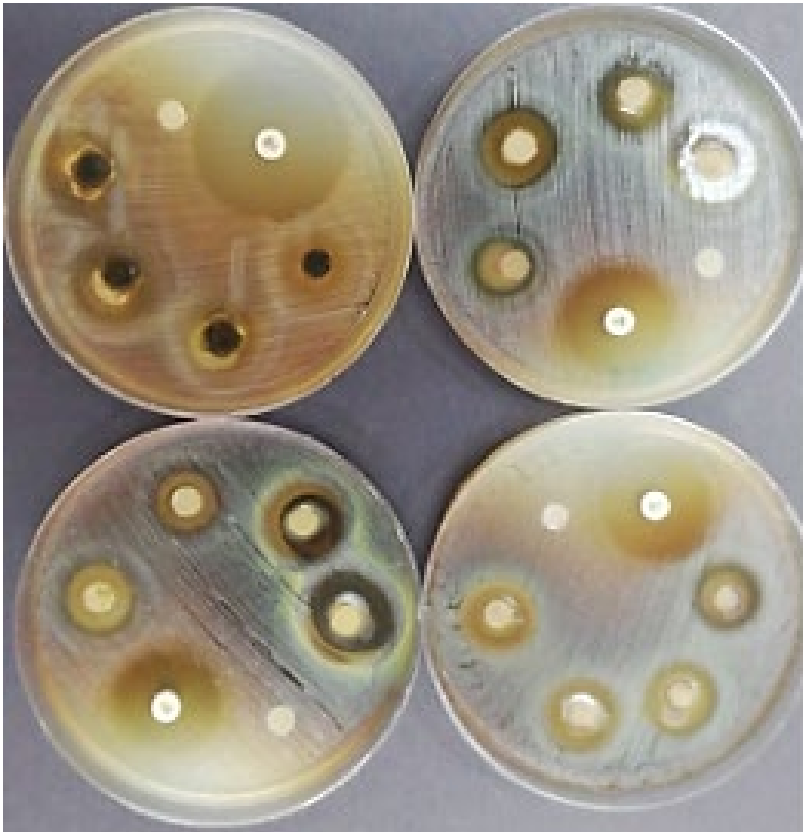


Fig 34. EEVCS sober *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

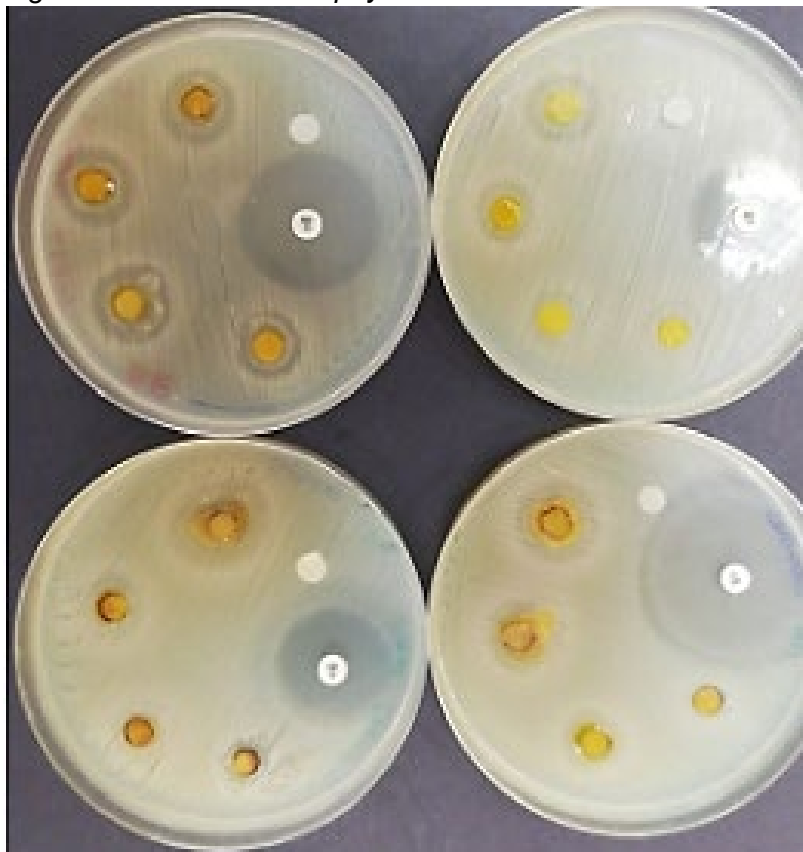


Fig 35. EESCS sober *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Fig 36. EEHCS sobre *Candida albicans* ATCC 90028.



Fig 37. EEVCS sobre *Candida albicans* ATCC 90028.

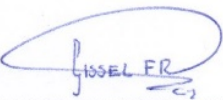


Fig 38. EESCS sobre *Candida albicans* ATCC 90028.

PERMISO DEL AUTOR DE TESIS PARA SUBIR AL REPOSITORIO
INSTITUCIONAL

Yo Flores Regalado Carol Gissel En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación "Efecto antimicrobiano in vitro de extractos de *Caesalpinia spinosa*, sobre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.....
....." de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de Los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, Así mismo; autorizo a la Universidad para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, Octubre 2019

F: 

de cédula

Tesis C. espinosa

por Gissele Flores

Fecha de entrega: 23-sep-2019 10:23p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1178806529

Nombre del archivo: Gissele_PLAGIO.docx (24.18K)

Total de palabras: 2369

Total de caracteres: 14118



Tesis C. espinosa

INFORME DE ORIGINALIDAD

4%

INDICE DE SIMILITUD

4%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

www.dspace.uce.edu.ec

Fuente de Internet

2%

2

creamjournal.org

Fuente de Internet

1%

3

www.eldiario.es

Fuente de Internet

1%

4

Salyers, A.A.. "The human intestinal tract - a hotbed of resistance gene transfer? Part II", *Clinical Microbiology Newsletter*, 20070215

Publicación

1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias

< 1%

Excluir bibliografía

Apagado