

Efecto *in vitro* del aceite esencial de los frutos de *Caesalpinia spinosa* (molina) Kuntze, tara sobre la viabilidad de cultivos de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente

In vitro effect of the *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, tara, pods essential oil on the viability of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Yony Alexander Terán Rojas^{1*}, José Guillermo González Cabeza^{2*}, Kellyn Myluska Gómez Castro^{3*}, Lennis Antonio Reyna López^{4*} y Elio Fernando Avila Vereau^{5*}

Recibido: 18 de junio de 2015

Aceptado: 28 de agosto de 2015

Resumen

Se han evaluado, con resultados positivos, extractos de legumbres de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, tara, especie vegetal nativa del Perú, contra microorganismos procariotas (bacterias) y eucariotas (hongos). En el presente estudio se decidió utilizar aceite esencial, a fin de evaluar su efecto *in vitro* sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM) y a la vez determinar las CMI y CMBs.

De legumbres secas de tara se obtuvo aceite esencial, el que se extrajo por medio del sistema de hidrodestilación. Fueron evaluadas *S. aureus* ATCC 25923, cepa sensible y la cepa SARM ATCC 43300, el cultivo SARM HRDT347 por medio de la prueba de difusión en agar y excavado en placa, así como con la de dilución en caldo. Para determinar las CMI y las CMBs, las dilucio-

nes utilizadas de aceite esencial de tara fueron 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0.156, 0.078, 0.039, 0.019 y 0.009 % respectivamente.

Los resultados nos permitieron llegar a las siguientes conclusiones: existe efecto inhibitorio del aceite esencial tara sobre la viabilidad de cultivos SARM; las CMI para *S. aureus* ATCC 43300 y HRDT347 son similares, es decir, son del orden del 0.156% del aceite esencial, mientras que para *S. aureus* ATCC 25923 es 0.039%; las CMBs para *S. aureus* ATCC 4330 y HRDT347 son similares, es decir, son del orden del 0.312% del aceite esencial, mientras que para *S. aureus* ATCC 25923 es 0.156%

Palabras clave: SARM, tara, efecto antimicrobiano, CMI, CMB.

Abstract

Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze, tara, a leguminose native to Peru, pods extracts has been tested with positive results, against prokaryotic (bacteria) and eukaryotic (fungi) microorganisms;

in this study it was decided to evaluate the tara essential oil *in vitro* effect on the viability of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and to find MICs and MBCs.

1 Técnico laboratorista, laboratorio de microbiología molecular y biotecnología, UPAO

2 Biólogo. Doctor en Biotecnología. Profesor del Departamento de Ciencias de la UPAO

3 Biólogo – Microbiólogo. MsC. Microbiología de alimentos. Profesor del Departamento de Ciencias de la UPAO.

4 Biólogo – Microbiólogo. MsC. Microbiología clínica. Profesor del Departamento de Ciencias de la UPAO.

5 Biólogo – Microbiólogo. Profesor del Departamento de Ciencias de la UPAO. eavilav1@upao.edu.pe

* Grupo de Investigación en Microbiología molecular y biotecnología de la UPAO.

From dried tara pods was obtained the essential oil using an hydrodistillation system, *S. aureus* ATCC 25923, sensible strain, the SARM strain ATCC 43300 and the SARM culture HRDT347, were tested using the modified agar diffusion and the broth dilution tests.

To obtain MICs and MBCs were used the following tara essential oil dilutions: 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0.156, 0.078, 0.039, 0.019 y 0.009 %.

The results lead to the next conclusions, there is a tara pods essential oil inhibitory effect on SARM; *S. aureus* ATCC 43300 and SARM culture HRDT347 MICs are similar, 0.156 %; *S. aureus* ATCC 25923 MIC is 0.039%; and *S. aureus* ATCC 43300 and SARM culture HRDT347 MBCs are similar, 0.312 %; *S. aureus* ATCC 25923 MIC is 0.156%

Key words: MRSA, tara, antimicrobial effect, MIC, MBC

I. INTRODUCCIÓN

El empleo de las plantas con fines curativos nunca ha dejado de tener vigencia, es una práctica que se utiliza desde la prehistoria cuando las plantas eran veneradas por las virtudes que se les había reconocido, transmitiéndose sus propiedades curativas de generación en generación. Así se profundizó en el estudio de las distintas especies vegetales que poseían propiedades curativas y medicinales, actualmente se busca aislar los principios activos contenidos en sus diferentes extractos (Carrión-Lazo, y col., 2011; Araujo y Salas, 2009; Escobar y Chávez, 2008).

Las propiedades curativas de las plantas se atribuyen a la presencia de un "principio activo", el cual produce un efecto fisiológico. Un gran porcentaje de estos principios activos están comprendidos dentro de los productos naturales o metabolitos que son compuestos de estructura compleja y de distribución restringida, entre ellos alcaloides, esteroides, terpenoides, flavonoides, aceites esenciales, gomas, resinas y taninos, que pueden encontrarse distribuidos por toda la planta o en alguna de sus partes (Escobar y Chávez, 2008). Los aceites esenciales generalmente son fluidos, más livianos que el agua, de olor fuerte y penetrante que recuerdan a la planta de origen, incoloros o amari-llentos, translúcidos, miscibles en solventes orgánicos e inmiscibles en agua, generalmente todos presentan en algún grado efecto antimicrobiano (Ventura y col., 2009; Carson, y Hammer, 2011).

Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze, conocida como "tara", es una leguminosa nativa del Perú, su

producción se distribuye por toda la costa peruana desde Piura hasta Tacna, así como en los valles interandinos de Ancash, Apurímac, Arequipa, Ayacucho, Cajamarca, Huancavelica, Huánuco y Junín. *Caesalpinia* se denomina en honor a Andrea Caesalpinia (1524 - 1603), botánico y filósofo italiano; *spinosa*, del latín "*spinusus*", con espinas (Cabello, 2009)

La tara es un árbol pequeño en sus inicios, de dos a tres metros de altura; pero puede llegar a medir hasta 12 metros en su vejez; de fuste corto, cilíndrico y a veces tortuoso, y su tronco está provisto de una corteza gris espinosa, con ramillas densamente pobladas, en muchos casos las ramas se inician desde la base dando la impresión de varios tallos. El fruto es una legumbre sésil de 9 cm de color naranja rojizo, rico en taninos, formado por una vaina oblonga y esponjosa que contiene hasta 7 semillas ovoides de 8 mm de ancho por 1 cm de largo, de color marrón oscuro cuando están maduros. Cada árbol de tara puede rendir un promedio de 20 kg a 40 kg de vaina cosechándolo dos veces al año (De la Cruz, 2004).

Es ampliamente utilizada en medicina tradicional desde tiempos prehispánicos debido a sus efectos contra enfermedades respiratorias e infecciones a la piel; muy frecuentemente para aliviar malestares de la garganta, sinusitis, infecciones vaginales, infecciones por hongos; lavado de los ojos inflamados; heridas crónicas y caries dentales, dolor de estómago; las diarreas, cólera, reumatismo y resfriado; depurativo del colesterol. (Cabello, 2009; De la Cruz, 2004; Campos y col., 2014).

Las legumbres de tara y sus semillas han sido usadas como fuente de taninos y gomas, poseen un alto porcentaje de taninos, entre 40 y 60%, los cuales son del tipo hidrolizable, con ácido gálico como el principal constituyente. Estos y sus derivados (galotaninos de diverso peso molecular) han mostrado poseer actividad bacteriostática y bactericida contra *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *Salmonella typhimurium*, entre otras cepas grampositivas y gramnegativas (Campos y col., 2014)

Los taninos, en general, son compuestos fenólicos cuya toxicidad a los microorganismos involucra varios mecanismos incluyendo la inhibición enzimática por compuestos fenólicos oxidados (Cowan, 1999).

Con respecto a diversos ensayos antibacterianos y antifúngicos, López y col. en el año 1998 encuentran que *Caesalpinia spinosa* tiene diferente acción antimicrobiana frente a *B. subtilis*, *S. au-*

reus, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.*

Liu y col., en el 2002 realizaron evaluaciones sobre la efectividad del extracto de las legumbres de tara, en las que se demostró actividad inhibitoria sobre cepas grampositivas como *S. aureus* y *B. subtilis*. Los componentes del fruto relacionados con dicha actividad corresponden exclusivamente a la cáscara de la vaina, la pepa no muestra actividad inhibitoria. Los halos de inhibición de la tara fueron mayores a los que se produjeron con extractos de eucalipto.

Escobar y Chávez, en el 2008, estudiaron el efecto *in vitro* de diferentes concentraciones de extracto alcohólico de tara sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae*. Las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de tara presentaron halos de inhibición de mayor diámetro que los obtenidos con penicilina y eritromicina, antibióticos que se ensayaron como referencia de comparación. Mediante esta técnica se demostró que, a medida que se aumenta la concentración del extracto, el halo de inhibición sería mayor para dicha bacteria. Mediante el método de Kirby - Bauer se determinó que el extracto acuoso de legumbres de tara presenta efecto inhibitorio sobre cepas de *S. aureus* y *Streptococcus pyogenes* (Añanca, 2009).

También se ha determinado una actividad antimicrobiana marcada de las vainas maduras (extracto crudo) de *Caesalpinia spinosa* "tara" contra *S. aureus*, aunque no se ha logrado determinar una verdadera concentración mínima bactericida debido a que el extracto crudo, no diluido, no logró matar aún a todas las bacterias, de ahí que algunos piensen que el ácido gálico presente en estos vegetales sólo ejerza una acción sinérgica con otros compuestos antimicrobianos, de hecho ya hay estudios al respecto (Araujo y Salas, 2009).

A los diversos extractos de sus vainas se le atribuyen entre otras propiedades actividad bactericida sobre bacterias grampositivas como el género *Staphylococcus* (Novoa y Ramírez, 2007; Liu y col., 2002; López y col., 1998).

Los estafilococos (del griego *Staphile* = racimo) son cocos grampositivos de 0,5-1 μm de diámetro, inmóviles, aerobios y anaerobios facultativos; *S. aureus*, prototipo de los estafilococos patógenos, es el agente causal de la mayoría de infecciones; se caracteriza por producir coagulasas o fermentar el manitol, elaboran diversas toxinas cuando *S. aureus* se desarrolla en medios adecuados puede producirlas, en relación con estados de lisogenia o asociadas a la presencia de plásmidos (Pumarola, 1992; Madigan y co., 2006; Murray y col., 2014).

El *S. aureus* debido a la acción de sus toxinas puede desencadenar en el ser humano patologías como infecciones localizadas en la piel y mucosas, infecciones metastásicas de localización visceral, procesos generalizados (mediante la formación de trombo o coágulo intravenoso, a partir del cual el microorganismo se multiplica e invade la sangre produciendo septicemia), cuadros de intoxicación alimentaria, síndrome de Liell o de 1a pie1 escaldada en su grado intenso que produce una exfoliación cutánea generalizada (necrólisis epidérmica tóxica), síndrome del shock tóxico caracterizado por fiebre, eritrodermia generalizada con descamación de las manos y los pies, edema, hipotensión con alteraciones hepáticas y fallo renal que presenta una letalidad del 5-10 % (Pumarola, 1992; Koneman, 2006; Murray y col., 2014).

En la especie humana, el *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) es uno de los patógenos nosocomiales más importantes. Se trata de un patógeno virulento, capaz por sí solo de aumentar la incidencia global de la infección estafilocócica. Además, las infecciones invasoras por SARM se asocian con mayor mortalidad y coste económico que las causadas por *S. aureus* sensibles (Cosgrove, y col 2003; Carmeli y Cosgrove, 2003).

En los últimos tiempos, el uso indiscriminado de antibióticos ha hecho que ciertos microorganismos causantes de infecciones en el ser humano generen resistencia, razón por la cual se hace cada día más difícil combatir dichas infecciones. Tal es el caso del SARM, resistencia que se genera en su genoma, el cual no sólo provee resistencia a la meticilina sino que estos genes están asociados a la resistencia a otros antibióticos. Así se habla de "cassettes" de resistencia, por lo tanto se amerita la búsqueda de fármacos antimicrobianos que ayuden a combatir estas situaciones.

Hallar nuevas terapia antimicrobianas para combatir estos gérmenes resistentes, SARM, implica una continua búsqueda de productos y principios básicos a partir de especies nativas vegetales, a fin de suplir a los ya existentes, para los que se ha generado resistencia; tal es el caso del presente estudio en el que se buscó conocer el efecto del aceite esencial de frutos de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze sobre la viabilidad de SARM.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en su estrategia "Salud para todos en el año 2000", reconoce la necesidad de incorporar a la salud pública los recursos y técnicas de la medicina tradicional. Así, el medicamento natural puede contribuir a la solución del problema de salud rural, así como aliviar del alto costo y difícil adquisición de medicamentos hechos a base de insumos químicos, los

que han reemplazado a muchas de las antiguas y bien establecidas drogas vegetales (Escobar y Chávez, 2008).

De acuerdo a lo mencionado, nuestro objetivo principal en el presente estudio fue evaluar el efecto del aceite esencial de los frutos de *Caesalpinia spinosa*, tara sobre la viabilidad de cultivos de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (SARM); es decir, existe efecto inhibitorio del aceite esencial, según lo investigado bibliográficamente debe haber un efecto inhibitorio sobre la viabilidad de los gérmenes en estudio, no existen estudios sobre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de tara, pero se conoce que en algún grado los aceites esenciales presentan actividad antimicrobiana (Carson, y Hammer, 2011).

Asimismo planteamos como objetivos determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) para promover la formulación de un antimicrobiano eficaz y alternativo; por otra parte, al ser la tara un recurso renovable, nativo y abundante, buscamos que su exportación no sólo sea como materia prima sino generar nuevos estudios e inquietudes que contribuyan a proponer tecnologías que permitan la producción de antimicrobianos y otros, en nuestro medio, para generar valor agregado a la tara.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

Cultivo y cepas control

El cultivo de *S. aureus* utilizado pertenece a la colección de cultivos del laboratorio de microbiología molecular y biotecnología de la Universidad Privada Antenor Orrego (UPAO), encontrándose conservado a -35°C en medios glicerizados. Este fue obtenido y caracterizado a partir de muestras de hisopado nasal procedentes del Hospital Regional Docente de Trujillo, se le asignó el código *S. aureus* HRDT347.

La cepa sensible de *S. aureus subespecie aureus Rosebach* ATCC 25923 y la cepa resistente a la meticilina de *S. aureus subespecie aureus Rosebach* ATCC 43300 fueron adquiridas de la firma comercial GenLab del Perú S.A.C., estaban liofilizadas.

Frutos de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, TARA

Los frutos, legumbres, de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, tara, fueron recolectados del área rural de la región La Libertad y de Bambamarca en la región Cajamarca, en los 3 primeros meses

del 2014 y se secaron en el laboratorio de microbiología molecular y biotecnología de la UPAO.

PROCEDIMIENTOS

Extracción del aceite esencial

Para la extracción del aceite esencial se trabajó con 20 Kg de frutos de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, tara, utilizando un sistema de hidrodestilación por arrastre con vapor de agua, como solvente orgánico se utilizó diclorometano. La fracción de aceite esencial extraída se almacenó en frascos oscuros a 4°C para los análisis posteriores (Ventura y col., 2009).

Reactivación del cultivo y cepas

El cultivo de *S. aureus* HRDT347 fue reactivado en caldo soya tripticasa (Trypticase Soy Broth: TSB) para luego ser mantenido en Agar soya tripticasa (TSA) y Agar manitol salado. A partir de TSA se prepararon las diluciones correspondientes a ser ensayadas. Las cepas control de *S. aureus* tanto ATCC 25923 como ATCC 43300 fueron reactivadas según catálogo de la empresa comercializadora en TSA (Microbiologics); en forma similar fueron mantenidas en TSA y Agar manitol salado para preparar las diluciones a ser ensayadas.

Evaluación del efecto del aceite esencial de frutos de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze sobre la viabilidad de *S. aureus* meticilino resistente

Para la evaluación del efecto del aceite esencial de tara sobre la viabilidad de *S. aureus* meticilino resistente (SARM), se realizó la prueba de difusión en agar y excavado en placa, estandarizando el inóculo, a partir de cultivos de *S. aureus* de 16 horas en caldo Mueller Hinton, con el tubo N° 0.5 del nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 UFC/mL).

Se agregó 2 mL del inóculo estandarizado a 8 mL de Agar Mueller Hinton fundido, el que se vertió sobre una placa petri con el mismo agar (placa vertida) para obtener un crecimiento uniforme ("en césped").

Luego se excavó pozos de aproximadamente 10 mm de diámetro a los cuales se agregó 100 μL del aceite esencial y 100 μL de agua destilada como control negativo, así también se utilizaron como controles los siguientes D.S. marca Beckton Dickinson: oxacilina de 1 μg (OX), Vancomicina de 30 μg (VA) y ciprofloxacina de 5 μg (CIP), se incubó por 18 horas a 37°C , leyéndose los halos de inhibición formados.

Paralelamente se realizó una prueba preliminar de dilución en caldo, dos diluciones del aceite esencial de tara: 10 y 5 % fueron inoculadas con 100 µL de la concentración microbiana utilizada para la prueba anterior, luego de incubarse por 24 a 37°C se sembró una azada en TSA.

Determinación del la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Para estimar la concentración mínima inhibitoria (CMI) se utilizó el método modificado de dilución en caldo (Araujo y Salas, 2009), los inóculos utilizados tuvieron la misma concentración microbiana utilizada en el método anteriormente descrito, fueron 100 µL, para 8 o 10 diluciones del aceite esencial de *Caesalpinia spinosa*, tara: 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0,156, 0.078, 0.039 y/o 0.019, 0.009 %, alcanzando un volumen final por tubo de 1 mL, se incubó por 24 horas a 37°C en agitación constante, se leyó absorbancias inicial (antes de incubación) y final (a las 24 horas de incubación) en espectrofotómetro Génesis 6 a una longitud de onda de 600 nm.

Determinación de la concentración mínima bactericida (cmb)

Para estimar la concentración mínima bactericida (CMB) de cada uno de los 8 o 10 tubos incubados en el proceso anterior se realizó un sembrado por estrías en TSA, incubándose a 37°C por 24 horas.

Recolección y procesamiento de datos

Los datos obtenidos fueron procesados en Microsoft Excel 2010

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracción del aceite esencial

En la extracción de aceite esencial de tara realizado por el método de hidrodestilación por arrastre con vapor de agua, no se obtuvo un buen rendimiento ya que luego de procesar 20 Kg de frutos secos de tara, se logró obtener sólo 2.5 mL de producto; lo que dificultó nuestras pruebas posteriores. La bibliografía consultada afirma justamente que los frutos de tara contienen poca cantidad de aceite esencial (López y col., 1998; De la Cruz, 2004; Cabello, 2009).

Evaluación del efecto del aceite esencial tara sobre la viabilidad de *S. aureus* meticilino resistente

Como observamos en el cuadro 1, al realizar la prueba de difusión en agar y excavado en placa, el aceite esencial no muestra actividad antimicrobiana frente a las cepas control de *S. aureus* (*S. aureus* ATCC 43300 es una cepa SARM) ni frente al cultivo HRDT347 SARM, lo cual es contrario a los resultados obtenidos al realizar las pruebas preliminares de dilución en caldo, con dos diluciones del aceite esencial de tara: 10 y 5 %, pues en estos últimos hubo inhibición del crecimiento y al sembrar en placas de TSA no hubo crecimiento, lo cual indica actividad antimicrobiana del aceite esencial frente a las cepas y el cultivo. Se explica esta situación debido a la dificultad de difundir que muestra el aceite esencial en el agar Mueller Hinton, lo que no permite una observación clara del efecto antimicrobiano, mientras que en el método de dilución en caldo, incubación en agitación constante, este efecto si se observa (Figura 1). Estas pruebas de dilución en caldo confirman que existe efecto inhibitorio del aceite esencial de legumbres de tara sobre *S. aureus* como refieren trabajos con otros tipos de extractos de los frutos del vegetal en estudio (Liu y col., 2002; Escobar y Chávez, 2008; Araujo y Salas, 2009; Añanca, 2009; Campos y col., 2014).

CUADRO 1
HALOS DE SENSIBILIDAD (en mm) DE LAS CEPAS Y CULTIVO DE *S. aureus* FRENTE AL ACEITE ESENCIAL DE TARA

Microorganismos	Controles				T ⁵
	OX ¹	VA ²	CIP ³	CN ⁴	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	22	20	32	6	8
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	6	20	30	6	8
<i>S. aureus</i> HRDT347	6	19	6	6	8

¹D.S. Oxacilina 1 µg

³D.S. Ciprofloxacina 5 µg

⁵ Aceite esencial de tara

²D.S. Vancomicina 30 µg

⁴D.S. Control negativo

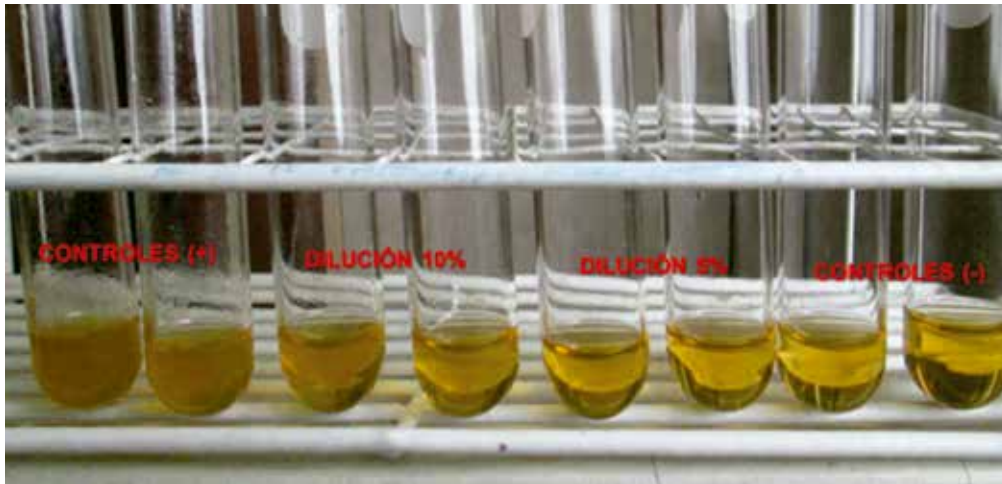


Figura 1 Pruebas preliminares de dilución en caldo para determinar el efecto del aceite esencial de tara sobre la viabilidad de SARM.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) Y DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB) DEL ACEITE ESENCIAL DE TARA

Los cuadros 2, 3, 4, 5 y 6, muestran los resultados obtenidos luego de enfrentar las diluciones de aceite esencial de frutos de tara: 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0.156, 0.078, 0.039, 0.019 y 0.009 %, a las cepas control y cultivo de *S. aureus* respectivamente.

Podemos observar que la CMI para *S. aureus* ATCC 25923, cepa sensible, se alcanza en la dilución 0.039% del aceite esencial de frutos de tara (cuadro 2 y gráfico 1). Esta dilución es la mínima en la cual no se muestra un incremento significativo de la D.O., absorbancia (se eleva de 0.414 a 1.462 en la siguiente dilución), mientras que la CMB se alcanza en la dilución 0.156% del aceite esencial (cuadro 3 y gráfico 2), por lo que podemos afirmar que las diluciones 0.039 y 0.078 generan un efecto bacteriostático sobre la cepa en mención.

CUADRO 2
EFFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE LOS FRUTOS DE TARA SOBRE LA VIABILIDAD DE *S. aureus* ATCC 25923, CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

Nº	Concentración del aceite (%)	Promedio de lectura D.O. T ₀	Lectura D.O. tratamiento 1 (24 horas)	Lectura D.O. tratamiento 2 (24 horas)	Lectura D.O. tratamiento 3 (24 horas)	Promedio de lectura D.O. T ₁	Lectura Final (Lectura promedio T ₁ -Lectura promedio T ₀)
1	5.000	2.123	2.100	2.124	2.120	2.115	-0.008
2	2.500	1.414	1.412	1.450	1.400	1.421	0.007
3	1.250	0.965	0.970	0.940	0.990	0.967	0.002
4	0.625	0.602	0.847	0.620	0.683	0.717	0.115
5	0.312	0.473	0.870	0.550	0.403	0.608	0.135
6	0.156	0.374	0.785	0.455	0.501	0.580	0.206
7	0.078	0.255	0.650	0.570	0.673	0.631	0.376
8	0.039 ¹	0.230	0.463	0.620	0.850	0.644	0.414
9	0.019	0.189	1.551	1.623	1.780	1.651	1.462
10	0.009	0.152	2.306	2.258	2.396	2.320	2.168
11	C.P. ²	0.111	2.451	2.750	2.564	2.588	2.477

¹ Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) ² Control positivo

CUADRO 3
EFFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE LOS FRUTOS DE TARA SOBRE *S. aureus* ATCC 25923, CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA

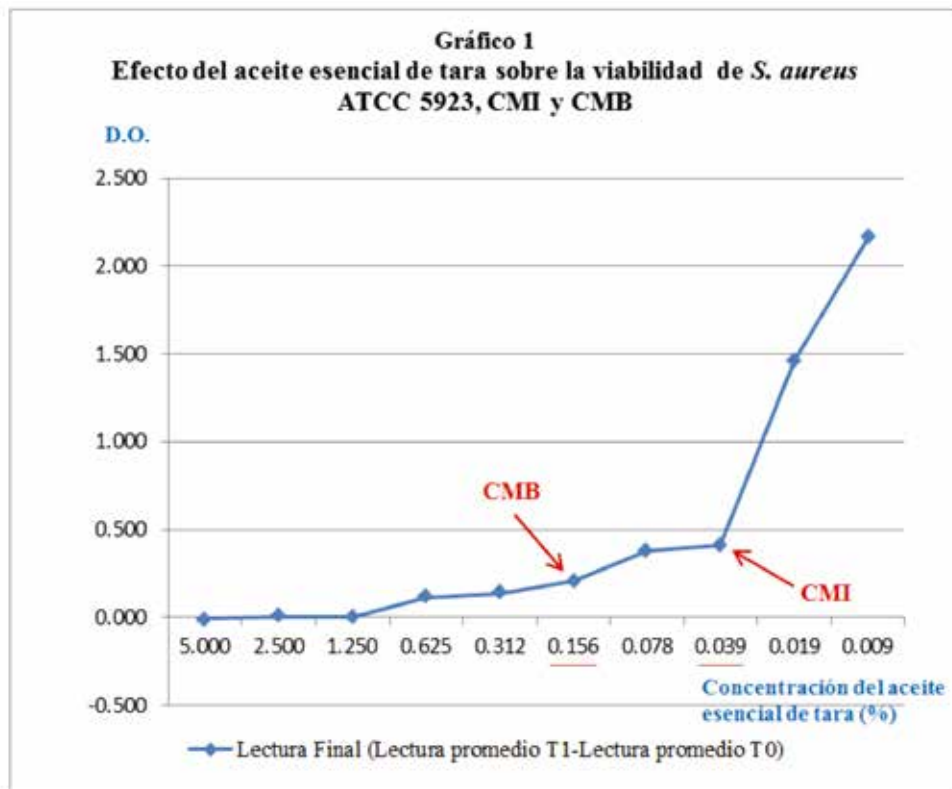
Nº	Concentración del aceite (%)	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
1	5.000	NC ³	NC	NC
2	2.500	NC	NC	NC
3	1.250	NC	NC	NC
4	0.625	NC	NC	NC
5	0.312	NC	NC	NC
6	0.156	NC	NC	NC
7	0.078	C ⁴	C	C
8	0.039	C	C	C
9	0.019	C	C	C
10	0.009	C	C	C
11	C.P. ²	C	C	C

¹ Concentración mínima bactericida (CMB)

² Control positivo

³ No hubo crecimiento

⁴ Hubo crecimiento



Por otro lado, la CMI para la cepa SARM ATCC 43300, y el cultivo SARM HRDT347, se alcanzan coincidentemente en la dilución 0.156 % del aceite esencial de tara (cuadros 4 y 6; gráficos 2 y 3), mientras que la CMB también coincidentemente se logra en la dilución 0.312 % del aceite esencial (cuadros 5 y 7; gráficos 2 y 3), consideramos que la dilución 0.156 % en ambos casos ejerce un efecto bacteriostático, la cepa y el cultivo SARM. Vale mencionar que no existen estu-

dios previos referentes a la actividad antimicrobiana del aceite esencial de tara en nuestro medio.

CUADRO 4
EFFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE LOS FRUTOS DE TARA SOBRE *S. aureus* ATCC 43300, CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

Nº	Concentración del aceite (%)	Promedio de lectura D.O. T ₀	Lectura D.O. tratamiento 1 (24 horas)	Lectura D.O. tratamiento 2 (24 horas)	Lectura D.O. tratamiento 3 (24 horas)	Promedio de lectura D.O. T ₁	Lectura Final (Lectura promedio T ₁ -Lectura promedio T ₀)
1	5.000	2.123	2.444	2.000	1.910	2.118	-0.005
2	2.500	1.414	1.884	1.223	1.550	1.552	0.138
3	1.250	0.965	1.218	1.013	1.115	1.115	0.150
4	0.625	0.602	0.389	1.022	0.705	0.705	0.103
5	0.312	0.473	0.335	0.400	0.375	0.370	-0.103
6	0.156 ¹	0.374	0.800	0.328	0.563	0.564	0.190
7	0.078	0.255	1.714	1.335	1.524	1.524	1.269
8	0.039	0.230	1.718	1.729	1.723	1.723	1.493
9	CP ²	0.111	2.009	2.059	2.033	2.034	1.923

¹ Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) ²Control positivo

CUADRO 5
EFFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE LOS FRUTOS DE TARA SOBRE *S. aureus* ATCC 43300, CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA

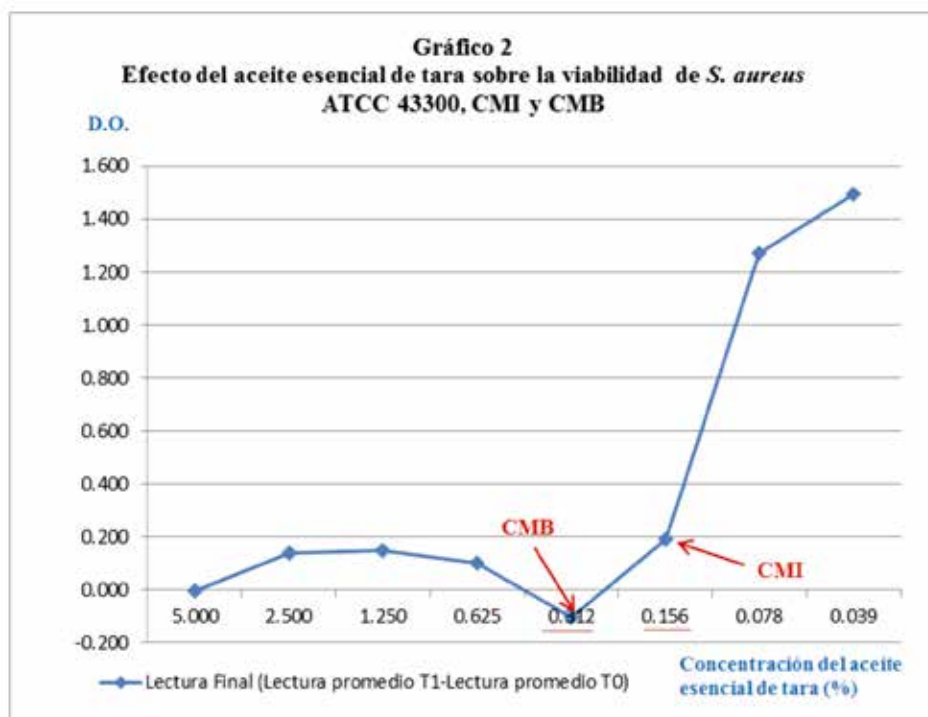
Nº	Concentración del aceite (%)	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
1	5.000	NC ³	NC	NC
2	2.500	NC	NC	NC
3	1.250	NC	NC	NC
4	0.625	NC	NC	NC
5	0.312 ¹	NC	19 colonias	NC
6	0.156	C ⁴	C	C
7	0.078	C	C	C
8	0.039	C	C	C
9	C.P. ²	C	C	C

¹Concentración Mínima Bactericida (CMB)

²Control positivo

³No hubo crecimiento

⁴Hubo crecimiento



CUADRO 6
EFFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE LOS FRUTOS DE TARA SOBRE *S. aureus* HRDT347, CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

Nº	Concentración del aceite (%)	Promedio de lectura D.O. T ₀	Lectura D.O. tratamiento 1 (24 horas)	Lectura D.O. tratamiento 2 (24 horas)	Lectura D.O. tratamiento 3 (24 horas)	Promedio de lectura D.O. T ₁	Lectura Final (Lectura promedio T ₁ -Lectura promedio T ₀)
1	5.000	2.311	2.555	2.470	2.450	2.492	0.181
2	2.500	2.153	2.451	2.401	2.395	2.416	0.263
3	1.250	1.564	1.821	1.731	1.833	1.795	0.231
4	0.625	0.867	1.278	1.201	0.900	1.126	0.259
5	0.312	0.600	0.994	0.965	0.948	0.969	0.369
6	0.156	0.450	0.830	0.780	0.835	0.815	0.365
7	0.078	0.336	1.696	1.685	1.672	1.684	1.348
8	0.039	0.236	1.873	1.838	1.825	1.845	1.609
9	0.019	0.227	2.247	2.201	2.215	2.221	1.994
10	0.009	0.207	2.374	2.345	2.396	2.372	2.165
11	C.P. ²	0.043	2.523	2.742	2.800	2.688	2.645

¹ Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) ²Control positivo

CUADRO 7
EFFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE LOS FRUTOS DE TARA SOBRE
***S. aureus* HRDT347, CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA**

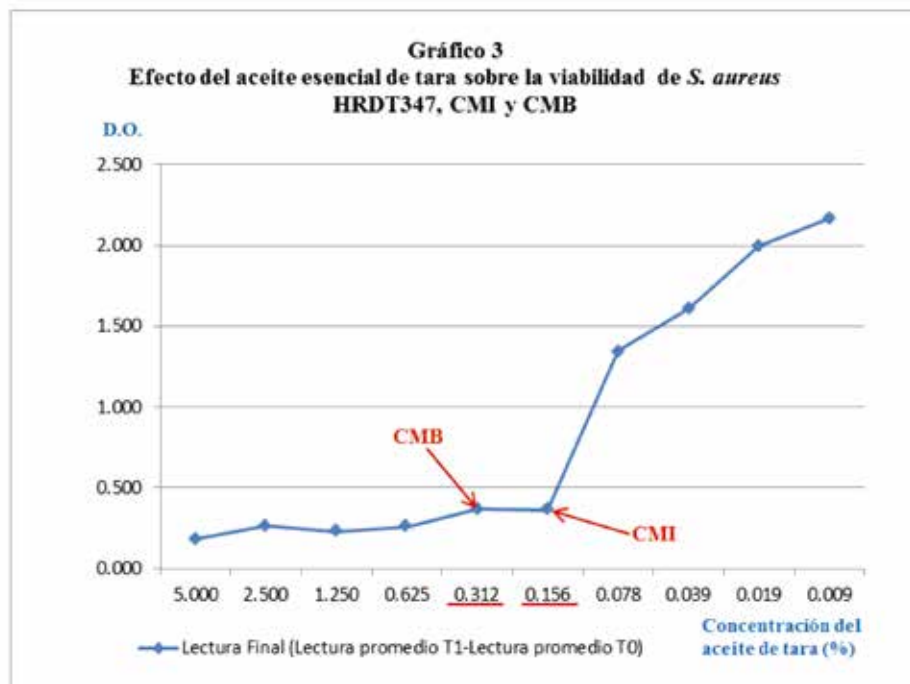
Nº	Concentración del aceite (%)	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
1	5.000	NC ³	NC	NC
2	2.500	NC	NC	NC
3	1.250	NC	NC	NC
4	0.625	NC	NC	NC
5	0.312 ¹	NC	NC	NC
6	0.156	C ⁴	C	C
7	0.078	C	C	C
8	0.039	C	C	C
9	0.019	C	C	C
10	0.009	C	C	C
11	C.P. ²	C	C	C

¹Concentración Mínima Bactericida (CMB)

²Control positivo

³No hubo crecimiento

⁴Hubo crecimiento



IV. CONCLUSIONES

Existe efecto inhibitorio del aceite esencial obtenido de los frutos de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, tara, sobre la viabilidad de cultivos SARM.

Las CMI para *S. aureus* ATCC 4330 y HRDT347 son similares, es decir, son del orden del 0.156% del aceite esencial obtenido, mientras que para *S. aureus* ATCC 25923 (cepa sensible) es del 0.039%.

Las CMB para *S. aureus* ATCC 4330 y HRDT347 son similares, es decir, son del orden del 0.312% del aceite esencial obtenido, mientras que para *S. aureus* ATCC 25923 es del 0.156%.

V. AGRADECIMIENTOS

Al Vice-rectorado de Investigación de la Universidad Privada Antenor Orrego, Oficina de Investigación en la persona del Ing. Freddy Pérez Azahuanche, por la oportunidad de realizar el presente estudio.

Al equipo de docentes y colaboradores del laboratorio de microbiología molecular y biotecnología del Departamento de Ciencias de la Universidad Privada Antenor Orrego, por su colaboración en el presente estudio.

Al equipo de docentes del laboratorio de química del Departamento de Ciencias de la Universidad Privada Antenor Orrego, por su colaboración en el presente estudio.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez L., F., Palomar, M., Insausti, J., Olaechea, P., Cerdá, E., Sánchez-Godoy, J., De la Torre, M. V., & Grupo ENVIN-UCI. (2006). Infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en pacientes críticos en unidades de cuidados intensivos. *Med Clin (Barc)*, 126(17), 641-646.
- Añanca, E. R. (2009). *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, Tacna, Perú.
- Araujo D., J., & Salas A., R. (2009). Actividad antimicrobiana del extracto crudo de la vaina de *Caesalpinia spinosa* "tara" frente a *Staphylococcus aureus*. *Científica*, 6(2), 142-155.
- Cabello L., I. (2009). *Monografía para el cultivo de tara Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze*. Lima, Perú: Perúbiodiverso.
- Camarena, J., & Sánchez, R. (2003). *Infección por Staphylococcus aureus resistente a meticilina*. Obtenido de [Boletín en línea] Control de calidad: Sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica: <http://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>
- Campos, D., Aguilar-Gálvez, A., Noratto, G., Chambi, F., & Debaste, F. (2014). Potential of tara (*Caesalpinia spinosa*) gallotannins and hydrolysates as natural antibacterial compounds. *Food Chemistry*, 156(2), 301-304.
- Carmeli, Y., & Cosgrove, S. E. (2003). The impact of antimicrobial resistance on health and economic outcomes. *Clin Infect Dis*, 36(11), 1433-1437.
- Carrión-Lazo, L., Quispe-Condori, S., & Matos-Chamorro, A. (2, 3 y 4 de Noviembre de 2011). Goma de tara (*Caesalpinia spinosa*): descripción y aplicaciones. *I Congreso nacional de investigación - IASD*. (D. g. unión, Ed.) Lima, Perú.

- Carson, C., & Hammer, K. (2011). Chemistry and Bioactivity of Essential Oils. En H. T. Editor, & H. Thormar (Ed.), *Lipids and essential oils as antimicrobial agents* (págs. 203-223). United Kingdom: John Wiley & Sons, Ltd.
- Cosgrove, S. E., Sakoulas, G., Perencevich, E. N., Schwaber, M. J., Karchmer, A. W., & Carmeli, Y. (2003). Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*, 36(1), 53-59.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*, 12(4), 564-582.
- De la Cruz L., P. (2004). Aprovechamiento integral y racional de la tara *Caesalpinia spinosa* - *Caesalpinia tinctoria*. *Revista del instituto de investigación FIGMMG*, 7(14), 64-73.
- Echevarría Z., J., & Iglesias Q., D. (2003). Estafilococo metilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. 14(4), 195-203.
- Escobar B., L. E., & Chávez C., M. (2008). Efecto in vitro de diferentes concentraciones de extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae*. *Rev Med Vallejana*, 5(1), 28-37.
- Huarino A., M. (2011). *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.
- Koneman, E. (2006). Cocos grampositivos. Parte I: Estafilococos y cocos grampositivos relacionados. En W. C. Koneman E., *Koneman diagnóstico microbiológico. Texto y atlas en color* (6ta ed., págs. 593-638). Buenos Aires: Editorial médica panamericana.
- Liu B., H., Lengua V., L. A., León M., G., La Torre D., C., Huapaya Y., J., & Chauca, J. (2002). Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de *Caesalpinia spinosa* "tara" y *Eucaliptus* sp. "Eucalipto". *Horizonte médico*, 2(1-2).
- López, C., Garro, V., Yrel, V., & Gallardo, T. (1998). Acción antimicrobiana de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze o tara, de diferentes regiones del Perú. *Ciencia e investigación*, 1(1), 27-31.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (2006). Enfermedades microbianas transmitidas de persona a persona: 26.9 Estafilococos. En M. T. Madigan, *Brock. Biología de los microorganismos* (10ma ed., págs. 885-886). Madrid: Pearson Prentice Hall.
- Microbiologics. (s.f.). *Quality control microorganism products* (40th Edition retail catalog ed.).
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2014). *Staphylococcus* y cocos grampositivos relacionados. En P. R. Murray, *Microbiología médica* (7ma ed., págs. 174-185). Barcelona: Elsevier.
- Novoa, S., & Ramírez, E. K. (2007). *Evaluación del estado de conservación de Caesalpinia spinosa "tara" en el departamento de Ayacucho*. (P. Instituto nacional de recursos naturales. Lima, Ed.) Obtenido de Serie de publicaciones de flora y fauna silvestre: http://www.inrena.gob.pe/iffs/iffs_biodiv_estud_flora_fauna_silvestre.htm
- Ogata G., K. (2006). *Diversidad de microorganismos en la rizósfera de "tara" (Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze) y su efecto en el crecimiento del cultivo*. Tesis para optar el título de biólogo, Universidad nacional agraria La Molina, Lima.
- Ogata, K., Arellano, C., & Zuñiga, D. (2008). Efecto de diferentes bacterias aisladas de rizósfera de *Caesalpinia spinosa* en la germinación de diferentes especies vegetales cultivados. *Zonas áridas*, 12(1), 137-153.
- Pumarola, A. (1992). *Staphylococcus*. En A. R.-T.-R.-A. Pumarola, *Microbiología y parasitología médica* (2da. ed., págs. 343-352). Barcelona: Salvat Editores S.A.
- Takaishi, Y., Kondo, K., Shibata, H., & Higuti, T. (2006). ILSMRs (intensifier of B-lactam-susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) from Tara [*Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze]. *Phytomedicine*, 13, 209-212.

- Ventura, G., Castro, A., Roque, M., & Ruiz, J. (2009). Composición química del aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam var. *coca* (coca) y evaluación de su actividad antibacteriana. *Ciencia e investigación*, 12(1), 24-28.