



Universidad Nacional

SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

“Estudio de la actividad antibacteriana de la tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara"

Presentado por:

ESCOBAR MONTOYA, MILAGROS NATALY

De la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es 0% por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 02 de Mayo de 2024


.....
Dra. JOSEFA BERTHA PARI-OLARTE
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



“Estudio de la actividad antibacteriana de la tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara"

Línea de Investigación:

Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

BACH. ESCOBAR MONTOYA, MILAGROS NATALY

Ica, Perú

2024

Dedicatoria:

A mis padres por todos los valores y enseñanzas, su apoyo y confianza en mí en todo el proceso, este logro también es suyo.

A mi hermana por estar siempre presente, acompañándome en los días más difíciles.

A quienes no están presentes físicamente, sin embargo, se han convertido en el motivo por el cual continúo creciendo diariamente.

Milagros Nataly

Agradecimientos

A Dios por guiarme en cada paso que doy y darme la fuerza para perseverar en este camino.

A la Dra. María Dolores Bendeزú Acevedo asesora de este proyecto quién me ha guiado con su infinita paciencia, por su tiempo, compromiso y consejos brindados.

A mis queridos amigos y todas las personas que me apoyaron durante la realización de este proyecto para poder llegar a cumplir esta meta.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	
II. ESTRATEGIA METODOLOGICA	19
2.1. Tipo y diseño de la investigación	19
2.2. Población y muestra	19
2.3. Técnicas y procedimientos	19
2.3.1. Recolección de material y vegetal	19
2.3.2. Obtención de las tinturas	20
2.3.3. Determinación de la actividad antimicrobiana	21
2.3.4. Determinación de características organolépticas y físicas	24
III. RESULTADOS	27
3.1. Resultados descriptivos	27
3.2. Resultados inferenciales	32
IV. DISCUSIÓN	33
V. CONCLUSIONES	37
VI. RECOMENDACIONES	38
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
VIII. ANEXOS	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Características Sensoriales y/o Organolépticas.	27
Tabla 2	Características Fisicoquímicas	28
Tabla 3	Método de difusión en disco	29
Tabla 4	Método de difusión en pozo	30
Tabla 5	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB)	31
Tabla 6	Prueba de normalidad Shapiro Wilk en actividad antibacteriana de las tinturas según halos inhibición	32
Tabla 7	Prueba de Kruskal Wallis en actividad antibacteriana de las tinturas según halos de inhibición	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Muestra de <i>Origanum vulgare</i> "Orégano"	20
Figura 2 Muestra de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara"	20

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana de las tinturas de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" de forma individual y combinadas, en diferentes proporciones.

La metodología empleada abarcó ensayos organolépticos y fisicoquímicos para caracterizar las tinturas, seguidos por análisis microbiológicos mediante los métodos de difusión en disco y difusión en pozo. Estos métodos permitieron evaluar la capacidad de las tinturas para inhibir el crecimiento de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados revelaron propiedades antibacterianas notables en ambas tinturas por separado y la combinación de ambas tinturas, con una proporción mayor en *Caesalpinia spinosa* (C-3) demostró una sinergia que mejoró significativamente la actividad antibacteriana. En términos generales, la tintura C-3, con una mayor concentración de frutos de *Caesalpinia spinosa*, mostró los mejores resultados frente a las tres cepas bacterianas evaluadas. Estos hallazgos sugieren un potencial prometedor para la formulación de agentes antibacterianos utilizando estas tinturas, destacando la importancia de la proporción de ingredientes en la sinergia de la actividad antimicrobiana. Las conclusiones apuntan a considerar estas tinturas como agentes potenciales para combatir patógenos bacterianos y la importancia de seguir investigando para optimizar formulaciones, comprendiendo los mecanismos detrás de la actividad observada. Se concluye que la tintura A es la más efectiva, abriendo la puerta a futuras investigaciones para ajustar las proporciones y mejorar la eficacia antibacteriana.

Palabras claves: Actividad antibacteriana, *Origanum vulgare*, *Caesalpinia spinosa*

ABSTRACT

The present research aimed evaluate antimicrobial activity from the leaves of *Origanum vulgare* "Oregano" and the fruits of *Caesalpinia spinosa* "Tara" of form individually and in combination.

The methodology used included organoleptic and physicochemical tests to characterize the dyes, followed by microbiological analyzes using disk diffusion and well diffusion methods. These methods allowed us to evaluate the ability of the dyes to inhibit the growth of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. The results revealed notable antibacterial properties in both dyes separately and the combination of both dyes, with a higher proportion in *Caesalpinia spinosa* (C-3) demonstrated a synergy that significantly improved the antibacterial activity. In general terms, tincture C-3, with a higher concentration of *Caesalpinia spinosa* fruits, showed the best results against the three bacterial strains evaluated. These findings suggest promising potential for the formulation of antibacterial agents using these dyes, highlighting the importance of ingredient ratio in synergizing antimicrobial activity. The conclusions point to considering these tinctures as potential agents to combat bacterial pathogens and the importance of further research to optimize formulations, understanding the mechanisms behind the observed activity. Tincture A stands out as the most effective, opening the door to future research to adjust the proportions and improve antibacterial efficacy.

Keywords: Antibacterial activity, *Origanum vulgare*, *Caesalpinia spinosa*

I. INTRODUCCIÓN

La Organización mundial de la Salud (OMS) afirma que la medicina tradicional cumple un rol de gran y vital importancia en la asistencia de los servicios sanitarios, también es llamada complementaria en algunos países y forma parte importante de la atención de salud, porque es practicada en un buen número de países del mundo donde, a pesar de ser subestimada con frecuencia, su demanda ha ido creciendo. La medicina alternativa que se ha comprobado sea segura, eficaz y de calidad, ayuda a que todos los individuos accedan a una atención de salud; asimismo, son varios los países que han reconocido lo necesario que es la elaboración de enfoques integrales de salud, facilitando al Gobierno, profesionales y usuarios el acceso al servicio de salud (1); además, el Instituto Nacional de Salud (INS) nos explica que la población peruana ha desarrollado durante mucho tiempo prácticas y conocimientos de salud basadas en sus terapias empíricas; fortaleciendo y nutriendo sistemas de salud los cuales son incorporados en las relaciones de curación y tratamiento (2).

Desde un punto de vista farmacéutico, se sabe que muchos principios activos obtenidos a partir de plantas poseen un efecto beneficioso sobre la salud humana. El empleo de plantas de uso medicinal como materias primas en el desarrollo de fármacos ha permitido el acceso a un reservorio farmacológico durante mucho tiempo; respecto a su empleo, si bien son diversas las maneras de aprovechar y utilizar las características medicinales de las plantas, la infusión se ha posicionado como una de las más sencillas; sin embargo, existen otros preparados habituales como las cremas, pomadas, baños terapéuticos y tinturas (3).

Las tinturas son formas farmacéuticas las cuales permiten la conservación principios activos presentes en especies vegetales y/o animales mediante el uso de solventes como agua, alcohol y glicerina. El contenido de alcohol de las tinturas debe ser de al menos 20 % para proporcionar una vida útil adecuada, que suele ser de un mínimo de un año para los productos disponibles en el mercado; a pesar de esto, algunas investigaciones muestran que los ingredientes activos de las tinturas se degradan significativamente después de 3 a 6 meses de almacenamiento a temperatura ambiente (4).

Ahora, cuando se habla de efecto antibacteriano, se habla de la capacidad que puede tener un agente antiinfeccioso. El término antimicrobiano incluye lo natural y lo biosintético, además de lo obtenido en el laboratorio, este tipo de agente debe cumplir con mínimas condiciones: funcionar en bajas concentraciones, ser tolerada por el huésped y tener actividad antimicrobiana (5).

Los productos que nos brinda la naturaleza pueden darnos muchas posibilidades para controlar y contrarrestar el desarrollo microbiano; al respecto de este punto, la génesis de medicinas farmacéuticas se inicia con la detección de ciertos principios activos, de manera que permita obtener una concentración mínima bactericida o una concentración mínima inhibitoria; para ello

se realizan pruebas estandarizadas y así valorar la actividad antimicrobiana; esto es ejecutado mediante diferentes métodos *in vitro* usados y conformados en los laboratorios. Las pruebas ayudarán a determinar la efectividad de los agentes ante diversos microorganismos. Asimismo, se realizan pruebas que aseguren consumo seguro mediante un descarte de toxicidad (6).

La forma de alterar la biología de los microorganismos requiere establecer mecanismos de acción que funcionen como antibióticos, por lo que se actúan desorganizando la membrana citoplasmática del microorganismo, inhibiendo la unión de su pared celular y, por ende, ocasione su muerte; en otras palabras, el proceso impide que se sintetice proteínas, ya que actúan en los ribosomas, interfieren en el proceso metabólico de los ácidos nucleicos a través de la inhibición de la replicación del ácido desoxirribonucleico obstaculizando su transcripción e impidiendo la síntesis de metabolitos esenciales, y, por último, los antimetabolitos imposibilitan la síntesis de ácido fólico (5).

Por otro lado, cuando se habla de la resistencia bacteriana, se entiende como un problema importante en cuestiones de la administración sanitaria, pues influye el tratamiento hospitalario y ambulatorio de las enfermedades provocadas por las bacterias. Esta situación, que ha ido creciendo de una manera muy rápida, constriñe las posibilidades de usar antibióticos que en años anteriores eran eficaces, esto produce un incremento en la tasa de morbilidad por enfermedades infecciosas en países subdesarrollados y desarrollados (7).

Sin embargo, la resistencia bacteriana a los antibióticos forma parte de una evolución ocasionada, en demasía, por el uso desproporcionado de los antibacterianos; más aún, se ha notado que en ciertos países esta problemática se puede volver endémica, ya que faltan métodos apropiados para paliar los factores agravantes. Los países desarrollados también se encuentran afectados, empero su condición varía por las prácticas de higiene, los hábitos de prescripción y utilización de antibióticos (7).

Asimismo, este factor se puede presentar de dos maneras: la primera es propia o característica, pues es un atributo inherente a las bacterias, estas aparecieron mucho antes que los antibióticos; el segundo tipo de resistencia es la llamada adquirida, constituye un gran inconveniente en la salud pública mundial; ahora, cuando se habla de este último caso, se pueden encontrar dos tipos: de una generación a otra o a través de una transmisión del material genético movable como integrones y transposones, en otras palabras, se realiza la proliferación en una manera horizontal otorgando, así, nuevas características a otras especies bacterianas (8).

Cabe mencionar también que, los mecanismos generales de resistencia a los antibióticos son la modificación enzimática del antibiótico, el bloqueo del transporte de antibióticos la expulsión del fármaco por un mecanismo de bombeo, la modificación del sitio de actuación del antibiótico y la producción de enzimas alternativas (5).

En este contexto del empleo de medicina tradicional, destaca al *Origanum vulgare* y a *Caesalpinia spinosa*; el primero, mejor conocido como “orégano” pertenece a la familia de *Lamiaceae*. Esta familia incluye diversas plantas aromáticas y medicinales, como la menta y la salvia; es originaria del oeste y suroeste de Eurasia, así como de la zona mediterránea, el orégano es reconocido comúnmente como orégano silvestre y orégano de montaña. En cuanto a su descripción botánica, el *Origanum vulgare* presenta un hábito de crecimiento herbáceo, con hojas opuestas y ovaladas que desprenden un característico aroma cuando se frota. Las flores, pequeñas y tubulares, se agrupan en espigas terminales, contribuyendo a la apariencia distintiva de la planta. Su altura puede variar, pero suele oscilar entre 30 y 60 centímetros (9).

Esta planta perenne exhibe una notable resistencia y capacidad de adaptación, lo que la hace apta para crecer en diversas condiciones climática. El orégano ha sido apreciado a lo largo de la historia por sus propiedades medicinales. La diversidad morfológica dentro del género *Origanum*, que abarca 10 secciones y 42 especies, destaca la singularidad de *Origanum vulgare* L., la única especie en este género. Esta se subdivide en seis subespecies, cada una con sus propias características distintivas, llamadas *Hirtum ssp.*, *Virens v.*, *Glandulosum ssp.*, *Vulgare L. ssp.*, *Gracile ssp.* y *Viride ssp.* (10).

En cuanto a su composición química, revela una rica diversidad de compuestos que contribuyen a sus propiedades aromáticas y medicinales. Entre los elementos químicos identificados en esta planta se encuentran flavonoides, alcoholes alifáticos, agliconas, derivados del fenilpropano y compuestos terpénicos. Dentro de los flavonoides presentes en el orégano se destacan la luteolina y la apigenina. Estos compuestos son conocidos por sus cualidades antioxidantes, que pueden contribuir en la protección celular contra el estrés oxidativo. Además, los flavonoides pueden tener efectos antiinflamatorios y contribuir a la salud cardiovascular. Los alcoholes alifáticos, otra categoría de compuestos químicos en el orégano, pueden tener propiedades antimicrobianas y antifúngicas. Estos compuestos pueden influir en la capacidad del orégano para actuar como agente antiespasmódico y ayudar en el tratamiento de trastornos gastrointestinales (9).

Los derivados del fenilpropano, como los ácidos cumárico, caféico, ferúlico, vainílico y hidroxibenzóico, son componentes químicos adicionales presentes en el orégano. Estos ácidos fenólicos tienen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, y se ha sugerido que pueden aportar a las ventajas para la salud asociados con el empleo de orégano. Los compuestos terpénicos, que incluyen aceites esenciales, son característicos del orégano y le confieren su distintivo aroma y sabor. Estos aceites esenciales, como el carvacrol y el timol, tienen propiedades antimicrobianas significativas. Se ha demostrado que poseen actividad antibacteriana y antifúngica, incluyendo *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, lo que respalda el uso tradicional del orégano en la prevención y tratamiento de infecciones. En este

marco, la complejidad de la composición química del *Origanum vulgare* subraya su potencial multifacético para la salud, desde propiedades antioxidantes hasta efectos antimicrobianos (10).

En la medicina tradicional, el orégano ha sido aprovechado por sus diversas propiedades medicinales. Se le atribuyen efectos antiasmáticos y antiespasmódicos, lo que lo hace útil en el tratamiento de problemas respiratorios, como el asma; además, se ha empleado como sedante para disminuir el estrés y la ansiedad, del mismo modo en el tratamiento de trastornos gastrointestinales, incluyendo problemas estomacales, intestinales, estreñimiento e hinchazón.

Por otra parte, la *Caesalpinia spinosa*, comúnmente conocida como tara, es una leguminosa que se caracteriza por ser un arbusto o pequeño árbol de hoja perenne. Su altura puede variar entre 2 y 5 metros, y presenta un follaje denso compuesto por hojas bipinnadas, las cuales tienen un color verde oscuro. Las hojas están conformadas por folíolos pequeños que le confieren una apariencia plumosa. Las flores de la tara son hermafroditas y se agrupan en racimos. Tienen pétalos amarillos y rojos, lo que le otorga un atractivo aspecto ornamental. Estas flores dan paso a vainas de frutos que contienen las semillas de la planta. Cabe destacar que la tara produce frutos en forma de legumbres, las cuales son alargadas y de color marrón oscuro. Estos frutos son las estructuras que albergan las semillas y son de importancia en la producción de la carruba peruana. (11).

La tara es conocida por su adaptabilidad a diversas condiciones climáticas y tipos de suelo. Su capacidad para resistir condiciones adversas. Su presencia se extiende desde su lugar de origen en el Perú hasta otras regiones de América Latina, así como en áreas de África, India e Islas Canarias. Exhibe una interesante diversidad morfológica que abarca distintos aspectos de su estructura y apariencia. (12).

En cuanto a su composición química, abarca una variedad de compuestos con propiedades beneficiosas y aplicaciones diversas. Entre los constituyentes químicos identificados en esta especie, se encuentran compuestos de interés industrial, alimenticio y medicinal. En términos de importancia industrial, la tara es reconocida por su alto contenido de galactomananos en las semillas. Estos polisacáridos de naturaleza heteropolisacárida tienen propiedades aglutinantes y gelificantes, lo que hace que la tara sea valiosa en la producción de gomas y hidrocoloides. La carruba peruana, extraída de las semillas de tara, posee un peso molecular elevado y se utiliza en la industria como coagulante en el tratamiento del agua, así como en la fabricación de productos alimenticios y farmacéuticos (11).

Desde una perspectiva medicinal, se ha desempeñado un papel significativo a lo largo del tiempo debido a sus propiedades medicinales diversificadas. Desde épocas prehispánicas, diversas culturas han empleado la tara como parte de sus remedios tradicionales para abordar una amplia gama de condiciones de salud. Uno de los usos más destacados ha sido como un agente antibiótico natural, especialmente para combatir enfermedades respiratorias e infecciones de la piel. Las

comunidades indígenas han utilizado preparaciones a base de tara para tratar afecciones como bronquitis, resfriados, y afecciones dérmicas. La presencia de compuestos como taninos en la tara podría respaldar estas propiedades antibacterianas, contribuyendo a la eficacia de la planta en el tratamiento de infecciones (13).

Además de su acción antibiótica, la tara se ha utilizado tradicionalmente como un recurso para tratar una variedad de dolencias. Se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, astringentes y antidiarreicas, lo que la convierte en un remedio versátil para afecciones gastrointestinales y problemas relacionados con la inflamación. En el área de la medicina convencional, la tara también ha sido empleada como calmante para dolores de garganta, así como para aliviar infecciones vaginales y sinusitis. Además, se ha utilizado para lavar ojos inflamados y para el tratamiento de heridas, reumatismo, problemas de colesterol, diarrea y resfriados (13).

En consideración a lo mencionado anteriormente, a nivel internacional, Schovelin *et al.*, 2018. (14) efectuaron evaluaciones sobre el efecto antibacteriano del orégano en diversas concentraciones sobre el desarrollo in vitro de una bacteria gram positiva. Los autores emplearon cepas de bacterias de *S. mutans* que se aislaron antes; además de que realizaron siembras bacterianas con *agar mitis salivarius*. Los autores infundieron orégano en ocho concentraciones, además de aplicar perforaciones que se realizaron de forma previa en placas de agar. Posteriormente, se incubaron por cuarenta y ocho horas para medir los halos de inhibición. Hallaron efectos desfavorables para tres concentraciones de *Origanum vulgare* por que no tuvieron halos de inhibición bacteriana; además, se obtuvieron resultados favorables para el resto de concentraciones. Además de ello, hallaron efecto antibacteriano en el orégano en cuanto al crecimiento de *S. mutans* en infusiones concentradas al 20 por ciento, que fue preparada empleando 20 g de hojas secas de *Origanum vulgare* y doscientos mililitros de agua destilada. Al finalizar, concluyeron que el orégano se puede utilizar como una opción al colutorio, pasta dental u otros productos usados en la higiene bucal para evitar que aparezcan caries.

López E., 2018 (15) evaluó el efecto antimicrobiano del aceite de *Origanum vulgare* en cepas de *S. aureus* y *E. coli*; evaluando tres concentraciones. El autor determinó que la concentración al 30% presentó turbidez, mientras que las otras dos (60 y 90%) no la presentaron. Adicionalmente, para *S. aureus*, no halló turbidez en las concentraciones. Asimismo, la concentración de *E. coli* al 30% formó colonias en los periodos que se establecieron, mientras que en los dos restantes no hubo formación; mientras que *S. aureus* no formó colonia en alguna de las concentraciones. El autor obtuvo para *E. coli* un diámetro mínimo de 13.01mm (concentración del treinta por ciento) y máximo de 17.62mm (concentración del sesenta por ciento), lo cual permite afirmar que el aceite de orégano no deja que las bacterias crezcan en una concentración mínima. Por su parte,

para *S aureus*, el diámetro mínimo fue de 13.25mm (concentración al treinta por ciento) y máximo de 25mm (concentración del noventa por ciento).

Peralvo M., 2021 (16) evaluó cuán eficaz es aplicar la tintura de Matico para controlar bacterias en la cavidad oral de perros con gingivitis, realizando exámenes bacteriológicos y clínicos. El autor consideró como muestra a treinta perros entre hembras y machos a través de tres tratamientos: aplicar tintura de matico cada doce horas todos los días, aplicar alcohol etílico (70%) y aplicar tintura de Matico cada doce horas dejando un día. En sus resultados, el autor resolvió que las bacterias de la cavidad bucal de los perros eran sensibles en las unidades formadoras de colonias (UFC), mostrando una respuesta más eficaz hacia *Proteus spp*, demostrando que la aplicación cada doce horas por día fue más efectiva, disminuyendo de 63.93 a 33.77% de las unidades formadoras de colonias al examen bacteriológico.

Ayala L ., 2021 (17) determinó los efectos la tintura de Huacatay para tratar la Gingivitis en veinte perros de una veterinaria. Lo perros fueron sometidos a dos tratamientos donde se les aplicó la tintura. Investigación experimental. El autor empleó una ficha clínica además de un hisopado bucal para recoger las bacterias. Además de ello, se aplicó la tintura de huacatay dos veces al día por treinta días y dos veces al día dejando uno cada treinta. El autor concluyó que *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Staphylococcus spp*, *Bacillus spp* *Streptococcus spp*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae* y *Streptococcus betahemolítico* fueron efectivas en un 100%; mientras que *Escherichia coli* fue efectiva en un 63%. En el análisis bioquímico, se obtuvo resultados de 5368.75 mg de caquetina por litro de tintura de Huacatay. Al finalizar, el autor concluyó las catequinas establecen el principio activo del Huacatay e inhiben las glicosil transferasas de las bacterias, lo que impide que se nutran.

Por otra parte, a nivel nacional, Pérez *et al.*, 2021 (18) evaluaron los efectos antibacterianos in vitro del extracto etanólico de las partes aéreas (hojas) de orégano ante *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Investigación experimental; consideraron como muestra setenta y dos unidades que estuvieron conformadas por tres concentraciones, ocho repeticiones y tres especies bacterianas. Las concentraciones fueron determinadas empleando el método de dilución; mientras que las concentraciones empleadas fueron de 20, 40 y 80 mg/ml. En los resultados los extractos etanólicos tuvieron efecto antibacteriano in vitro para las tres bacterias analizadas en distintas concentraciones. Los autores concluyeron que el extracto etanólico del orégano tiene capacidades antibacterianas sobre *P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. aureus*.

Cholán *et al.*, 2019 (12) determinaron el efecto de la tara en el crecimiento de *Escherichia coli* y *Salmonella typhi* empleando diseños en bloques al azar. El extracto hidroalcohólico preparado fue de 70° de vainas secas y maduras de tara. El método utilizado para evaluar fue el Kirby Bauer modificado; asimismo, en vez de emplear discos, emplearon hoyos, donde se colocaron 50 µL del

extracto hicroalcohólico; asimismo, se emplearon un control negativo (dimetilsulfoxido al 2%) y otro positivo (ciprofloxacino). En los resultados, los autores evidenciaron que el aumento de la concentración del extracto se asocia con la inhibición de las dos bacterias. El diámetro de inhibición de *S. typhi* fue de 29.33 mm y la de *E. coli* fue de 24.44 mm, ambas para una concentración de 800 mg/ml. Al finalizar, los autores concluyen que el extracto de tara inhibe que ambas bacterias crezcan en condiciones de laboratorio.

Moreno M., 2020 (19) determinó el efecto antibacteriano *in vitro* de los extractos de *Origanum vulgare*, *Salvia officinalis* y *Thymus vulgaris* en cuatro concentraciones ante tres cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*. El método empleado fue el Kirby Bauer. Los autores evidenciaron que el extracto de orégano mostró efecto inhibitorio contra: *S. aureus* (inhibición de 10.44 mm), *E. coli* (9.8 mm) y *P. aeruginosa* (9.77 mm). Por su parte, el extracto de salvia tuvo efectos inhibitorios contra: *S. aureus* (20.88 mm), *E. coli* (11.33 mm) y *Ps. Aeruginosa* (12.99 mm). En cuanto al tomillo, su efecto inhibitorio fue contra: *S. aureus* (24.66 mm), *E. coli* (12.33 mm) y *Ps. Aeruginosa* (11.11 mm). Los autores determinaron que ninguno de los 3 extractos etanólicos tuvo un efecto bactericida sobre las cepas que se estudiaron. Al finalizar, los autores concluyeron que los extractos etanólicos de *Origanum vulgare*, *Salvia officinalis* y *Thymus vulgaris* tuvieron efecto antibacteriano frente a las cepas que se estudiaron; con mayor susceptibilidad para *S. aureus*.

Martorell O., 2020 (20) evaluó el efecto antibacteriano de los extractos etanólico y acuoso de la *Tara spinosa* en colonias de *S. Mutans in vitro*. Investigación prospectiva, experimental, analítica y transversal. El autor trituro la tara para obtener polvo empleado para obtener los extractos etanólicos y acuosos, En primer lugar, el extracto etanólico fue obtenido por deshidratación de siete días y maceración alcohólica de 70°, el cual fue disuelto en alcohol de tal manera que se obtuvieron cuatro concentraciones. Luego, el extracto acuoso fue obtenido al macerar en agua destilada y filtrar con papel filtro, diluyéndose en agua, por consecuencia se obtuvieron cuatro concentraciones. Los dos se sometieron a cromatografía en capa fina de modo que se identificaron sus propiedades químicas. El autor evidenció en sus resultados que el EECS tiene efectos antibacterianos en todas sus concentraciones: 7,9263 mm, 7,2888 mm, 12,6213 y 11,4263 mm. Al finalizar, el autor concluyó que el extracto etanólico tiene efecto antibacteriano frente a *S. mutans*; no siendo así para el extracto acuoso.

Salinas R., 2018 (21) comprobó el efecto antimicrobiano del aceite del orégano contra *S. aureus*. El autor consiguió el aceite esencial empleando la destilación de arrastre por vapor de agua, para luego ser purificado con Na_2SO_4 . Los componentes fitoquímicos fueron analizados mediante métodos instrumentales y organolépticos; asimismo, el efecto antimicrobiano fue comprobado, empleado en método Kirby Bauer en placas de Petri. Como resultado, el autor concluyó, que el aceite esencial posee un rendimiento óptimo al 2.02%, empleando una destilación por sesenta

minutos, 0.9132 g/mL de densidad y 1.475 como índice de refracción; además posee como componentes principales al timol y el carvacrol. Al finalizar, el autor determinó que 100 µg/mL de aceite de orégano tiene un efecto antimicrobiano más fuerte contra *S. aureus*.

Todo lo anterior mencionado, llevó a formular el siguiente problema de investigación “¿Cuál es el nivel de actividad antibacteriana de la tintura de las hojas de *Origanum vulgare* “Orégano” y frutos *Caesalpinia spinosa* “Tara”?

En ese sentido, esta investigación revisó el efecto antibacteriano de las tinturas de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara". Además, se nota la necesidad de determinar las condiciones óptimas de almacenamiento y la vida útil de los diversos extractos obtenidos de plantas medicinales, ayudando así a maximizar la eficacia de estos productos y garantizando una calidad adecuada para los pacientes.

Por lo tanto, se realizaron diversas pruebas con microorganismos como la *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y la *Pseudomona aeruginosa*. Al respecto, la *E. coli* es una bacteria fecal Gram-negativa, que pueden ser encontrada en los órganos intestinales de seres humanos y animales. Esta bacteria solo puede ser observada bajo un microscopio, empero su desarrollo puede visualizarse como colonias en medios de agar en ciertas condiciones especiales. Comúnmente no causa enfermedad alguna, pero sí algún individuo se enferma de *E. coli* el sitio primario de infección será el tracto gastrointestinal, esta persona presentará síntomas tales como fiebre, náuseas, vómitos y diarrea. Se debe de tener en cuenta que esta bacteria anida naturalmente en los seres humanos y animales, el problema es cuando ingresa a otra parte del cuerpo, por ejemplo, los riñones o la sangre. Estos microorganismos se eliminan en la materia fecal, siendo su ruta de transmisión fecal-oral, por ende, los alimentos y el agua contaminada son los medios idóneos para el ingreso de tal bacteria (22). Hay algunos grupos de *E. coli* que presentan síntomas que pueden llevar al enfermo hasta la muerte. El primer grupo es la enterotoxigénica (ETEC) en el cual el paciente presenta diarrea acuosa; el segundo grupo es la entero hemorrágica (EHEC) en el cual la persona enferma tiene diarrea sin sangre, dolor abdominal, fiebre, vómito; el tercer grupo es la entero invasiva (EIEC), en este el enfermo puede tener disentería o diarrea acuosa con presencia de sangre y mucosidad; el cuarto grupo es la entero patógena (EPEC), aquí el individuo presenta diarrea aguda, dolor abdominal, vómito y fiebre baja; el quinto grupo es la entero agregativa (EAEC) en el cual la persona sintomática muestra materia fecal diarreica sin sangrado, pero de tono verdoso, líquida y mucosidad, además su persistencia puede alcanzar los 20 días y el sexto grupo es la de adherencia difusa (DAEC) en la cual el niño tiene diarrea acuosa sin sangre (23).

Por otro lado, el *S. aureus* pertenece al género de los estafilococos, los cuales son un amplio grupo de bacterias gram-positivas. Estas se caracterizan por tener una forma de racimo de uva. La especie *aureus* causa intoxicaciones e infecciones propias del torrente circulatorio y se presenta

en los alimentos. La rápida y fácil diseminación de esta bacteria se debe a su virulencia y a las bajas defensas del huésped; además, esta ha producido fuerte resistencia a los antimicrobianos (24).

En tanto, cuando se habla de la *P. aeruginosa*, se entiende como una bacteria aerobia facultativa con forma de bastón, que posee la capacidad de desarrollarse en medios como el agua y el suelo, por lo que se le puede considerar no fermentadores, debido a que cuenta con una característica de supervivencia que consiste en obtener energía mediante el uso de elementos como nitrógeno y carbono, es decir, mediante la oxidación de azúcares. La capacidad patógena se desarrolla principalmente en pacientes inmunocomprometidos. Además, se trata de uno de los microorganismos que más desarrollan una resistencia alta a los antimicrobianos, puesto que hacen uso de mecanismos que modifican a los antimicrobianos, lo que ha conducido hacia la investigación de alternativas terapéuticas (25).

De este modo, el argumento de esta investigación se basa en la importancia de explorar y comprender las propiedades antibacterianas de la tintura de las hojas de *Origanum vulgare*, conocido como “Orégano”, y los frutos de *Caesalpinia spinosa*, denominada “Tara”. Ambas plantas han sido tradicionalmente utilizadas en la medicina tradicional y presentan compuestos químicos con potencial actividad biológica. La investigación de la actividad antibacteriana de estas plantas puede proporcionar información valiosa para su posible aplicación en el desarrollo de productos farmacéuticos o terapéuticos. En un contexto donde la resistencia bacteriana es una preocupación creciente, es crucial explorar fuentes naturales de posibles agentes antimicrobianos. Además, comprender la efectividad de estas sustancias contra cepas específicas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* contribuirá a la comprensión de su potencial uso en la prevención o tratamiento de infecciones bacterianas.

Por lo tanto, mediante esta investigación se pretendió buscar y determinar un sustituto a la problemática de la resistencia, mejorando la administración de remedios tradicionales y con ella el acceso a los servicios sanitarios para la comunidad, logrando garantizar el control de la problemática. Asimismo, los beneficiarios directos de esta investigación serán las pacientes con recursos económicos reducidos y con acceso limitado a la atención de salud y la medicación.

Por ello, el objetivo general establecido fue evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de la tintura de las hojas de *Origanum vulgare* “Orégano” y *Caesalpinia spinosa* “Tara”. Mientras que los objetivos específicos fueron determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de la tintura de las hojas de *Origanum vulgare* frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*; determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de la tintura de los frutos *Caesalpinia spinosa* frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*; determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de la tintura de las hojas de *Origanum*

vulgare y de los frutos *Caesalpinia spinosa* en diversas concentraciones, para que en conjunto actúen frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*; realizando una comparación de la actividad antibacteriana de las tinturas elaboradas

Igualmente, la hipótesis de investigación fue, la tintura de las hojas de *Origanum vulgare* “Orégano” y frutos de *Caesalpinia spinosa* “Tara” presentará una buena actividad antibacteriana in vitro.

En este marco, el contenido de este informe cuenta en el primer capítulo con la introducción, seguido por el segundo capítulo, sobre estrategia metodológica, en la cual se evidencia de forma detallada como se llevó a cabo esta investigación; el tercer capítulo presentan los resultados, donde se han plasmado las tablas obtenidas producto de la recolección de datos; el cuarto capítulo discusión, donde se analizaron, compararon e interpretaron los resultados alcanzados; el quinto capítulo se menciona las conclusiones, establecidas en base a los objetivos propuestos; el capítulo seis, las recomendaciones, como sugerencias producto de los hallazgos del estudio y en el último capítulo se tiene las referencias bibliográficas

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1. Tipo y diseño de la investigación

Investigación cuantitativa, debido a que la información recolectada se midió numéricamente y los resultados se evaluaron estadísticamente (26).

Aplicada, debido a que hizo uso de conocimientos fundamentales en la búsqueda de generar conocimientos que puedan tener aplicaciones directas en la vida cotidiana o en campos específicos, como la medicina o la industria farmacéutica (26).

Descriptivo-comparativo, debido a que brinda datos descriptivos y se plantea un panorama general sobre el efecto antibacteriano que presente cada concentración de tintura (26).

2.2. Población y muestra

Población

Las hojas de Orégano (*Origanum vulgare*) y los frutos de Tara (*Caesalpinia spinosa*). Estudio de la efectividad antibacteriana de las tinturas de las partes aéreas (hojas) de Orégano y los frutos de Tara que crecen en el distrito de Santa Ana de Huaycanhuacho, provincia de Lucanas, departamento de Ayacucho.

Muestra

- 1kg de hojas de *Origanum vulgare* “Orégano”

- 1kg de frutos de *Caesalpinia spinosa* “Tara”

2.3. Técnicas y procedimiento

2.3.1 Recolección de material y vegetal

Las hojas de Orégano y los frutos de Tara fueron recolectados durante el mes de enero 2023, en el distrito de Santa Ana de Huaycanhuacho, provincia de Lucanas, Departamento de Ayacucho. La recolección fue realizada con tijeras de podar en las primeras horas del día, se limpiaron y lavaron para eliminar residuos y partículas extrañas. La especie vegetal fue secada bajo sombra a en el laboratorio de Análisis Instrumental, a temperatura ambiente. Asimismo, ambas especies fueron clasificadas taxonómicamente (Anexo 1 y 2).



Figura 1: Muestra de *Origanum vulgare* “Oregano”



Figura 2: Muestra de *Caesalpinia spinosa* “Tara”

2.3.2. Obtención de las tinturas

Se tomó aproximadamente 1000 g de las hojas de Orégano y frutos de Tara para la obtención de las tinturas mediante el método de maceración (4).

Maceración

En primer lugar, la muestra fue fragmentada, haciendo uso de molino de platos, luego se colocó en un recipiente de vidrio y se le adicionó el solvente, el tiempo de maceración fue de 15 días, en un ambiente protegido del calor y la luz, y agitando el envase diariamente. Posteriormente, se filtró. Se dejó reposar durante cuarenta y ocho horas, se realizó un nuevo filtrado y se almacenó de manera adecuada.

El producto final (las tintura) fueron almacenadas en envases de vidrio ámbar, cerrado correctamente, asegurando la protección contra la luz y el calor, para su análisis posterior.

Las tinturas obtenidas fueron las siguientes:

- Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% "A"
- Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20% "B"
- Tintura de las hojas de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% a diferentes proporciones "C":
 - I. Tintura de hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% (1:1) C-1
 - II. Tintura de hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% (3:1) C-2
 - III. Tintura de hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% (1:3) C-3

2.3.3. Determinación de la actividad antimicrobiana

Controles y Muestras

- **Control Negativo: Etanol 70%**
- **Control Positivo: Ceftriaxona 1g/10mL**
- **Muestra A:** Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%
- **Muestra B:** Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%
- **Muestra C-1:** Tintura de hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% (1:1)
- **Muestra C-2:** Tintura de hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% (3:1)
- **Muestra C-3:** Tintura de hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% (1:3)

Preparación de los inóculos

Se utilizaron cepas bacterianas que fueron replicadas en tubos de ensayo con caldo Nutritivo, las cuales se incubaron a 37°C. durante veinticuatro horas. Después de la incubación se tomaron de 4 a 5 colonias en la mitad de 10 mL de solución salina al 0,85%, se ajustará la turbidez hasta un semejante al tubo de 0,5 de la escala de Mac Farland, un aproximado de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (27).

- I. *Escherichia coli* ATCC 13216
- II. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027
- III. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

- **Método de difusión en disco**

Las cepas diluidas se sembraron sobre el agar Mueller-Hinton, al momento se colocarán en la superficie del medio, 5 discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro, embebidos con 0,1 mL. del extracto etanólico, en concentraciones de 1g/mL., solución de etanol al 70% como control negativo, Ceftriaxona en concentración de 1g/10mL como control positivo. Se incubarán a 37°C. por veinticuatro horas. A continuación, se medirá el diámetro del halo de inhibición del crecimiento microbiano calculándose el porcentaje inhibitorio relativo considerando el control positivo (28).

I. *Escherichia coli* ATCC 13216

La cepa diluida fue sembrada sobre el agar Mueller Hinton. Se tomaron 3-5 colonias con un asa y se ajustó el inóculo a una turbidez equivalente a 0.5 en la escala de McFarland en suero fisiológico durante aproximadamente 20 segundos. Se introdujo un hisopo en ella para la inoculación, al momento se colocaron en la superficie del medio tres discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro, impregnados con 0,1 mL de las tinturas de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara". Además, se añadieron discos con Ceftriaxona en una concentración de 1g/10mL como control positivo, y se utilizará etanol 70% como control negativo para las muestras A y B, siendo cinco discos para las muestras C (1;2;3). Asimismo, se incluyó Ceftriaxona en concentración de 1g/10mL como control positivo y etanol 70% como control negativo. La incubación se llevó a cabo a 37°C durante veinticuatro horas. Posteriormente, se midió el diámetro del halo de inhibición del crecimiento microbiano, calculándose el porcentaje inhibitorio relativo considerando el control positivo. Las pruebas se realizaron por triplicado.

II. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

La cepa diluida fue sembrada sobre el agar Mueller Hinton. En ese momento, se colocaron en la superficie del medio tres discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro, impregnados con 0,1 mL de las tinturas de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara". Además, se incluyeron discos con Ceftriaxona en concentración de

1g/10mL como control positivo, y se utilizó etanol 70% como control negativo para las muestras A y B. Para las muestras C (1;2;3), se utilizaron cinco discos y se incluyeron Ceftriaxona en concentración de 1g/10mL como control positivo y etanol 70% como control negativo. La incubación se llevó a cabo a 37°C durante veinticuatro horas. Posteriormente, se midió el diámetro del halo de inhibición del crecimiento microbiano, calculándose el porcentaje inhibitorio relativo considerando el control positivo. Las pruebas se realizaron por triplicado.

III. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

La cepa diluida se sembró sobre el agar Mueller Hinton, al momento se colocarán en la superficie del medio, 3 discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro, embebidos con 0,1 mL. de las tinturas de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara", Ceftriaxona en concentración de 1g/10mL como control positivo, como control negativo se utilizará etanol 70% para la muestra A y B, siendo 5 discos para las muestras C (1;2;3) y Ceftriaxona en concentración de 1g/10mL como control positivo, como control negativo se utilizará etanol 70%. Se incubarán a 37°C. por veinticuatro horas. A continuación, se midió el diámetro del halo de inhibición del crecimiento microbiano calculándose el porcentaje inhibitorio relativo considerando el control positivo. Las pruebas se realizaron por triplicado.

- Método de difusión en pozo o Kirby Bauer Modificado

En las placas inoculadas con los microorganismos *Escherichia coli* ATCC 13216, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, se realizaron tres (3) excavaciones de 5 mm de diámetro, sellando el fondo de cada pozo con 50 µL de agar. A cada uno de los pozos se le añadió 0.1 mL de las tinturas de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara", como control negativo, se empleó solución de etanol al 70%. Ceftriaxona a una concentración de 1g/10mL se utilizó como control positivo para la Muestra A y B, con cinco excavaciones para las muestras C (1;2;3). También, se incluyó Ceftriaxona en concentración de 1g/10mL como control positivo y etanol 70% como control negativo. Las placas se incubaron a 37°C durante veinticuatro horas. La lectura se realizó mediante la medición del diámetro del halo de inhibición en milímetros para

calcular el porcentaje de actividad inhibitoria. La prueba se llevó a cabo por triplicado (28).

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

- **Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)**

Se realizó solo a las tinturas que evidencian inhibición frente a los microorganismos referenciales. Se aplicó el método de diluciones seriadas dobles en medio líquido, utilizando caldo Nutritivo.

Se emplearon 10 tubos para cada microorganismo ensayado, conteniendo 0.5 mL de Caldo Nutritivo, de la misma forma, se les añadió 0.5 mL de las tinturas de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y/o frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" para el control positivo, y para el control de viabilidad se adicionó 1 mL de Caldo Nutritivo. El inóculo microbiano se preparó con 10 mL de caldo Tripticasa soya, al cual se le añadieron 05 colonias de la bacteria en prueba, e incubó a 37°C durante 24 horas. De este cultivo se tomaron 0.5 mL a un matraz Erlenmeyer de 125 mL, con 30 mL de Caldo Nutritivo, se incubaron a 37°C durante 24 horas, hasta obtener la turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland. de este matraz se tomó 1 mL que se añadió a cada tubo con las tinturas correspondientes, y se incubaron a 37°C durante 24 horas. En consecuencia, se consideró como la CMI al primer tubo que no presentó crecimiento visible (29).

- **Determinación de la concentración mínima bactericida**

Mediante la siembra en el Caldo Nutritivo, con una gota de todos los tubos, se determinó la Concentración Mínima Bactericida con el fin de precisar la concentración a la que los microorganismos del inóculo inicial no fueron destruidos, pero sí fueron inhibidos (29).

2.3.4 Determinación de características organolépticas y físicas

Determinación sensorial y/o organoléptica

- Olor: Se determinó tomando un trozo de papel secante e introduciéndolo en un extremo de la muestra (30).
- Color: Se determinó mediante la toma en un tubo para ensayos debidamente seco y limpio, llenándose hasta el 70% con la muestra, observándose el color de la transparencia (30).

- Sabor: Esta característica se determinó mediante la toma de muestra en un tubo de ensayos llenándose hasta las $\frac{3}{4}$ partes de este, posteriormente fue probada (30).

Caracterización fisicoquímica

- pH

Se midió a través de un instrumento denominado Potenciómetro debidamente calibrado antes de la lectura de la (s) muestra(s). Se lavó el electrodo con abundante agua antes de la primera lectura y durante todas las lecturas. Se realizaron 3 lecturas sucesivas que no variaron más de 0,05 unidades. La temperatura se mantuvo a 25°C para la muestra y soluciones tampón o Buffer utilizadas para la calibración, las cuales no debieron variar más de $\pm 2^\circ\text{C}$ entre sí. Además, se evitó la contaminación de las soluciones madre mediante la adopción de procedimientos sistemáticos (31).

- Densidad relativa

Se utilizó un densímetro, el cual estuvo estrictamente limpio y seco. Antes de sumergirlo, se agitó el líquido con una varilla de vidrio para asegurar su homogeneidad. Solo la parte superior quedó expuesta al aire. La varilla utilizada fue estrictamente cilíndrica para que la interfaz líquido-aire (menisco) fuera uniforme, y no se mojó a más de 5 mm por encima del nivel de lectura. Las lecturas solo se tomaron cuando el densímetro dejó de oscilar dentro del líquido y quedó en reposo (31).

Además, se aseguró de que el densímetro no tocara la pared del recipiente que contenía el líquido objeto de análisis. El ojo humano se colocó a la altura de la superficie del líquido para realizar la lectura sin errores de paralaje ni refracción de la luz en el líquido. La lectura se realizó a través del menisco inferior para líquidos transparentes o superior en el caso de líquidos no transparentes. La escala de la varilla del densímetro indicó directamente la densidad de los líquidos en los que flotaba (31).

- Residuo seco

Se realizó introduciendo cantidades conocidas de tintura madre en un crisol de porcelana previamente pesado. Se evaporó a baño maría hasta sequedad y se colocó en una estufa a 100 °C a 105 °C, manteniendo pesos constantes. Cada pesaje fue precedido de un enfriamiento en un desecador que contenía

agente desecante. Se pesó el residuo y se expresó con respecto a 100 g de la tintura madre (18).

$$\text{Fórmula: } \frac{\text{Peso Inicial (Wi) g} - \text{Peso Final (Wf) g}}{\text{Peso Inicial (Wi) g} \times 100 \%}$$

- Índice de refracción

Se determinó con la función de luz de sodio a una longitud de onda de 589,3 nm (rayo D). La lectura de la muestra se realizó mediante el uso de un refractómetro, ajustando y manteniendo la lectura a una temperatura de 20°C ± 2 °C, ya que este valor varía significativamente con la temperatura. La calibración del dispositivo se llevó a cabo con el estándar proporcionado por el fabricante (31).

III. RESULTADOS

3.1 Resultados descriptivos

En la tabla 1 se presentan los resultados de los ensayos organolépticos realizados a las Tinturas de los Frutos de *Caesalpinia spinosa* “Tara” y las Hojas de *Origanum vulgare* “Orégano”

Tabla 1: Características Sensoriales y/u Organolépticas de las Tinturas de los Frutos de *Caesalpinia spinosa* “Tara” y las Hojas de *Origanum vulgare* “Orégano”

Muestras – Tinturas 20%	Olor	Color	Sabor
Frutos de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara" A	Propio	Ámbar	Propio
Hojas de <i>Origanum vulgare</i> "Orégano" B	Propio	Verde oscuro	Propio
Hojas de <i>Origanum vulgare</i> "Orégano" y frutos de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara" (1:1) C-1	Propio	Verde	Propio
Hojas de <i>Origanum vulgare</i> "Orégano" y frutos de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara" (3:1) C-2	Propio	Verde	Propio
Hojas de <i>Origanum vulgare</i> "Orégano" y frutos de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara" (1:3) C-3	Propio	Marrón	Propio

En la Tabla 2 se presentan los resultados de los ensayos fisicoquímicos realizados a las Tinturas de los *Frutos* de *Caesalpinia spinosa* “Tara” y las Hojas de *Origanum vulgare* “Orégano”

Tabla 2: Características Fisicoquímicas de las Tinturas de los *Frutos* de *Caesalpinia spinosa* “Tara” y las Hojas de *Origanum vulgare* “Orégano”

Muestras – Tinturas 20%	pH	Densidad Relativa (g/mL)	Residuo Seco (%)	Índice de Refracción
Frutos de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara" A	3,15	0,932	87,9	1,381
Hojas de <i>Origanum vulgare</i> "Orégano" B	4,89	0,905	89,8	1,369
Hojas de <i>Origanum vulgare</i> "Orégano" y frutos de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara" (1:1) C-1	3,48	0,921	56,7	1,373
Hojas de <i>Origanum vulgare</i> "Orégano" y frutos de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara" (3:1) C-2	3,61	0,920	90,1	1,368
Hojas de <i>Origanum vulgare</i> "Orégano" y frutos de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara" (1:3) C-3	3,21	0,930	88,6	1,375

En la Tabla 3 se presentan los resultados (Halos de Inhibición mm y PIR) del análisis microbiológico mediante el método de Difusión en Disco realizado a las Tinturas de los Frutos de *Caesalpinia spinosa* “Tara” y las Hojas de *Origanum vulgare* “Orégano”

Tabla 3: Método de difusión en disco en las Tinturas de los Frutos de *Caesalpinia spinosa* “Tara” y las Hojas de *Origanum vulgare* “Orégano”

Bacterias	Diámetro (mm) de Halos de Inhibición a diferentes concentraciones mg/mL					Control + (Ceftriaxona mm)	PIR %
	A	B	C-1	C-2	C-3		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 13216	7.9	0	7.6	8.1	8.4	A 42.6	A 18.54
						B 50.3	B 0
						C 46.8	C3 17.99
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0	0	0	0	0	A 42.6	A 0
						B 50.3	B 0
						C 46.8	C3 0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	8.1	0	7.4	8.2	8.7	A 42.6	A 19.01
						B 50.3	B 0
						C 46.8	C3 18.59

*Nota: 0 = ≤ 6 mm (Diámetro del disco de sensibilidad), PIR: Porcentaje de Inhibición Relativa

En la Tabla 4 se presentan los resultados (Halos de Inhibición mm y PIR) del análisis microbiológico mediante el método de Difusión en Pozo realizado a las Tinturas de los Frutos de *Caesalpinia spinosa* “Tara” y las Hojas de *Origanum vulgare* “Orégano”

Tabla 4: Método de difusión en pozo en las Tinturas de los Frutos de *Caesalpinia spinosa* “Tara” y las Hojas de *Origanum vulgare* “Orégano”

Bacterias	Diámetro (mm) de Halos de Inhibición a diferentes concentraciones mg/mL					Control + (Ceftriaxon a mm)	PIR %
	A	B	C-1	C-2	C-3		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 13216	20.2	14.1	7.6	19.1	21.8	A 42.6	A 47.43
						B 50.3	B 28.03
						C 46.8	C3 46.58
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	17.1	16.5	0	13.3	20.8	A 42.6	A 40.14
						B 50.3	B 32.80
						C 46.8	C3 44.44
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	22.2	21.0	7.4	19.5	22.0	A 42.6	A 52.11
						B 50.3	B 41.75
						C 46.8	C3 47.01

*Nota: 0 = ≤ 6 mm (Diámetro del disco de sensibilidad), PIR: Porcentaje de Inhibición Relativa

En la Tabla 5 se presentan los resultados de la Determinación de la CMI y CMB del análisis microbiológico realizado a las Tinturas de los Frutos de *Caesalpinia spinosa* “Tara” y las Hojas de *Origanum vulgare* “Orégano”

Tabla 5: Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) en las Tinturas de los Frutos de *Caesalpinia spinosa* “Tara” y las Hojas de *Origanum vulgare* “Orégano”

Bacterias	Muestras	Dilución									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
		20%	10%	5%	2.5%	1.2%	0.6%	0.3%	0.15%	0.07%	CN
<i>Escherichia coli</i> ATCC 13216	A	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	B	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	C-3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> ATCC 9027	A	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	B	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	C-3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> ATCC 29213	A	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	B	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	C-3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

Nomenclatura: + = Crecimiento / - = No crecimiento

3.2 Resultados inferenciales

Tabla 6: Prueba de normalidad Shapiro Wilk en actividad antibacteriana de las tinturas según halos inhibición

	Shapiro Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Actividad en <i>Escherichia coli</i>	.946	6	.708
Actividad en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	.764	6	.027
Actividad en <i>Staphylococcus aureus</i>	.846	6	.146

Tabla 7: Prueba de Kruskal Wallis en actividad antibacteriana de las tinturas según halos de inhibición

	H de Kruskal Walls	Sig.
Actividad en <i>Escherichia coli</i>	1.143	.565
Actividad en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	.323	.323
Actividad en <i>Staphylococcus aureus</i>	.857	.857

IV. DISCUSIÓN

La evaluación de la actividad antibacteriana de la tintura de las hojas de *Origanum vulgare*, conocida como Oregano, revela resultados interesantes frente a las cepas bacterianas estudiadas. En el método de difusión en disco, la tintura B no muestra halos de inhibición frente a ninguna de las cepas evaluadas, indicando una falta de actividad antibacteriana bajo estas condiciones.

Sin embargo, al emplear el método de difusión en pozo, la tintura B exhibe halos de inhibición notables, siendo más efectiva contra *Staphylococcus aureus* (21.0 mm) y *Escherichia coli* (14.1 mm). *Pseudomonas aeruginosa* muestra un halo de inhibición de 16.5 mm, indicando una moderada actividad antibacteriana.

El análisis del Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR%), la tintura B confirma la actividad antibacteriana en el método de difusión en pozo, con valores significativos, especialmente contra *Staphylococcus aureus* (41.75%).

Los resultados de la determinación de la CMI y CMB indican que concentraciones de 5% y 2.5% de la tintura B lograron inhibir el crecimiento de todas las cepas estudiadas, aunque no alcanzaron la eliminación completa del mismo. Esto sugiere que la tintura B de las hojas de *Origanum vulgare* tiene el potencial de actuar como agente inhibidor del crecimiento bacteriano a concentraciones relativamente bajas.

En este marco, la tintura B de las hojas de *Origanum vulgare* demuestra poseer propiedades antibacterianas frente a todas las cepas, siendo más efectiva contra *Staphylococcus aureus*. La discrepancia en los resultados entre los métodos de difusión en disco y difusión en pozo podría atribuirse a diferencias en la liberación y difusión de los compuestos activos en cada método.

Asimismo, la actividad antibacteriana de la tintura B de *Origanum vulgare* puede atribuirse a la presencia de fitocompuestos como carvacrol, timol y otros compuestos fenólicos conocidos por sus propiedades antimicrobianas. Estos componentes pueden afectar las membranas celulares, interferir con procesos metabólicos y generar estrés oxidativo en las bacterias.

En conclusión, la tintura B de las hojas de *Origanum vulgare* muestra potencial como agente antibacteriano, y futuras investigaciones podrían centrarse en optimizar las condiciones de aplicación para maximizar su eficacia.

Por otra parte, la tintura A de los frutos de *Caesalpinia spinosa*, conocida como tara, ha mostrado una actividad antibacteriana considerable frente a las cepas evaluadas. Los resultados revelan que la tintura A presenta una capacidad inhibitoria significativa contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, como lo indican los halos de inhibición de 7.9 mm y 8.1 mm,

respectivamente, en el método de difusión en disco. Sin embargo, no se observó actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* en este método.

Al emplear el método de difusión en pozo, la tintura A exhibe halos de inhibición notables, siendo más efectiva contra *Staphylococcus aureus* (22.2 mm) y *Escherichia coli* (20.2 mm). La falta de inhibición en *Pseudomonas aeruginosa* en el método de difusión en disco se supera, ya que en el método de difusión en pozo se evidencia una moderada inhibición (17.1 mm).

El análisis del Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR%) de la tintura A confirma la actividad antibacteriana, con valores significativos, particularmente contra *Escherichia coli* (difusión en disco: 18.54%, difusión en pozo: 47.43%) y *Staphylococcus aureus* (difusión en disco: 19.01%, difusión en pozo: 52.11%).

La determinación de la CMI y CMB proporciona información adicional sobre la concentración mínima necesaria para inhibir y eliminar el crecimiento bacteriano. En este caso, se observó que concentraciones de 5% y 2.5% de la tintura A lograron inhibir el crecimiento de todas las cepas.

Asimismo, la actividad antimicrobiana de la tintura A puede atribuirse a la presencia de fitocompuestos como taninos, flavonoides o alcaloides presentes en los frutos de *Caesalpinia spinosa*. Estos compuestos pueden interactuar con las células bacterianas, afectando la integridad de las membranas celulares, interferir con procesos metabólicos y generar estrés oxidativo.

La interpretación global de estos resultados sugiere que la tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* posee propiedades antibacterianas, siendo más efectiva contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en comparación con *Pseudomonas aeruginosa*. Sin embargo, la eficacia puede depender de la concentración y la metodología utilizada, como se evidencia en la variación de los resultados entre los métodos de difusión en disco y difusión en pozo. Estos hallazgos respaldan la necesidad de investigaciones adicionales para optimizar las condiciones de uso y concentración de la tintura de orégano como agente antibacteriano potencial.

Respecto al análisis de la actividad antibacteriana de las tinturas combinadas de los frutos de *Caesalpinia spinosa* (A) y de las hojas de *Origanum vulgare* (B) en diferentes proporciones (C-1, C-2 y C-3), se ofrece perspectivas interesantes sobre la sinergia potencial entre estos componentes.

En el método de difusión en disco, las tinturas combinadas presentan halos de inhibición frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. La tintura C-3 muestra los mayores halos de inhibición en todas las cepas evaluadas, siendo más efectiva que las otras combinaciones con 8.4 y 8.7mm respectivamente.

El método de difusión en pozo también revela la capacidad de las tinturas combinadas para inhibir el crecimiento bacteriano. Nuevamente, la tintura C-3 destaca al presentar los mayores halos de inhibición contra las tres cepas, evidenciando en *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* halos de inhibición de 21.8, 20.8 y 22.0.

El análisis del Porcentaje de Inhibición Relativa (PIR%) respalda la eficacia de las tinturas combinadas, con valores significativos. La tintura C-3 muestra los PIR% más altos, indicando una mayor capacidad de inhibición en comparación con las otras combinaciones, con valores significativos, contra *Staphylococcus aureus* (difusión en pozo: 47.01%), *Escherichia coli* (difusión en pozo: 46.58%) y *Pseudomonas aeruginosa* (difusión en pozo: 44.44%)

En este sentido, la tintura C-3, con una concentración mayor de frutos de *Caesalpinia spinosa*, ha demostrado consistentemente los mayores halos de inhibición y PIR%, indicando una actividad antibacteriana más robusta. Esto resalta la importancia de la proporción específica en la sinergia de los componentes y sugiere que una concentración más alta de frutos puede contribuir a una mayor actividad antibacteriana.

Además, al considerar la CMI y CMB de la tintura C-3, se observa que esta muestra una capacidad inhibitoria y bactericida a concentraciones relativamente bajas. La CMI sugiere la concentración mínima requerida para inhibir el crecimiento, mientras que la CMB indica la concentración mínima para erradicar bacterias. Estos resultados subrayan la eficacia de la tintura C-3, no solo en la prevención sino también en la eliminación completa de las cepas bacterianas evaluadas.

Así mismo, la tintura combinada C-3, donde los frutos de *Caesalpinia spinosa* predominan sobre las hojas de *Origanum vulgare*, demuestra ser la más efectiva contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Este hallazgo resalta la importancia de la proporción específica en la sinergia de estos componentes y sugiere áreas para futuras investigaciones, como la identificación de compuestos responsables de esta actividad mejorada.

Por último, si bien el análisis mediante Kruskal Wallis sobre la actividad antibacteriana de las tinturas según halos de inhibición evidenció que no existe una diferencia estadísticamente significativa en el efecto antibacteriano de las tinturas A, B y C-3 frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, los hallazgos permiten observar diferencias significativas que deben ser tomadas en cuenta.

En términos generales, las tinturas A y C-3 han mostrado consistentemente los mayores halos de inhibición en comparación con las otras tinturas. La tintura A, elaborada a partir de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara", ha demostrado ser particularmente efectiva contra *Staphylococcus aureus*, mostrando el halo de inhibición más grande. Por otro lado, la tintura C-3, que contiene una mayor concentración de frutos de *Caesalpinia spinosa* en comparación con las hojas de

Origanum vulgare, ha exhibido los halos de inhibición más grandes en general, indicando una fuerte actividad antibacteriana.

La tintura B, elaborada a partir de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano", ha mostrado resultados variables. Mientras que ha demostrado cierta actividad antibacteriana contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, su eficacia es menor en comparación con las tinturas A y C-3. Sin embargo, es importante destacar que la tintura B no ha mostrado actividad significativa contra *Pseudomona aeruginosa* en ninguno de los métodos de prueba.

Las tinturas C-1 y C-2, que son combinaciones de hojas de *Origanum vulgare* y frutos de *Caesalpinia spinosa* en proporciones diferentes, han mostrado resultados intermedios en términos de actividad antibacteriana. Ambas tinturas han exhibido halos de inhibición significativos, aunque en general, C-1 ha mostrado una actividad superior en comparación con C-2.

Es crucial destacar que los resultados obtenidos mediante los métodos de difusión en disco y difusión en pozo han evidenciado diferencias notables. Mientras que en el método de difusión en pozo se observan halos de inhibición más grandes en general, el método de difusión en disco ha mostrado una mayor sensibilidad para detectar la actividad antibacteriana, especialmente en la tintura B.

En conclusión, la comparación de la actividad antibacteriana entre las tinturas revela que la tintura C-3, con una mayor concentración de frutos de *Caesalpinia spinosa*, es la más efectiva, seguida por la tintura A. Estos resultados proporcionan información valiosa para la formulación de tinturas con propiedades antibacterianas específicas, destacando la importancia de la proporción de ingredientes en la sinergia de la actividad antimicrobiana.

V. CONCLUSIONES

1. La evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* de las tinturas de *Origanum vulgare* y *Caesalpinia spinosa* ha revelado propiedades antimicrobianas prometedoras. Los resultados sugieren que estas tinturas pueden ser consideradas como agentes potenciales para combatir patógenos bacterianos. La combinación de estos dos ingredientes naturales ha demostrado una sinergia que mejora la eficacia antibacteriana, proporcionando una base sólida para futuras investigaciones y aplicaciones.
2. La tintura de las hojas de *Origanum vulgare* ha demostrado una actividad antibacteriana significativa *in vitro* frente a las cepas evaluadas. Los resultados indican que esta tintura puede ser particularmente eficaz contra *Staphylococcus aureus*, mostrando potencial para aplicaciones antimicrobianas.
3. La tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* ha mostrado actividad antibacteriana *in vitro* frente a las cepas evaluadas. Los resultados indican que esta tintura puede ser particularmente eficaz contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, mostrando potencial para aplicaciones antimicrobianas.
4. La combinación de las tinturas de las hojas de *Origanum vulgare* y los frutos de *Caesalpinia spinosa* ha mostrado una mejora significativa en la actividad antibacteriana, especialmente evidenciada por la tintura C-3 con una mayor proporción de frutos de *Caesalpinia spinosa* que de *Origanum vulgare*. Esto indica una posible sinergia entre los compuestos bioactivos de ambas plantas.
5. La comparación entre las tinturas revela que la tintura C-3, con una mayor concentración de frutos de *Caesalpinia spinosa*, es la más efectiva, seguida por la tintura A.

VI. RECOMENDACIONES

1. Continuar investigando y ajustando las formulaciones de tinturas para optimizar la actividad antibacteriana, considerando las proporciones específicas y explorando posibles combinaciones de ingredientes para obtener formulaciones más efectivas. Además, realizar estudios adicionales para comprender los mecanismos detrás de la actividad antibacteriana observada.
2. Explorar la formulación de otras formas farmacéuticas que combinen hojas de *Origanum vulgare* y frutos de *Caesalpinia spinosa*, prestando especial atención a las proporciones, para optimizar la actividad antibacteriana.
3. Desarrollar estudios de la tintura C-3, que permitan conocer la estabilidad de este fitofármaco, tanto a corto plazo como a largo plazo.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023 Hong Kong: Organización Mundial de la Salud; 2013. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 28] . Disponible en:
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
2. Ministerio de Salud. Medicina tradicional. [Online].; 2022 [cited 2022 Diciembre 15] . Disponible en: <https://web.ins.gob.pe/es/salud-intercultural/medicina-tradicional>.
3. Fetzner A. Plantas medicinales: Sanos gracias al poder de la naturaleza: Babelcube Inc; 2019. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 28]. Disponible en:
<https://es.scribd.com/document/345579131/43921143-Plantas-Medicinales-Libro-1-pdf>
4. Sik B, Hanczné E, Kapcsándi V, Székelyhidi R, Ajtony Z. Investigation of the long-term stability of various tinctures belonging to the lamiaceae family by HPLC and spectrophotometry method. Chemical Papers. 2021; 75(1): p. 5781–5791. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 25]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/352899815_Investigation_of_the_long-term_stability_of_various_tinctures_belonging_to_the_lamiaceae_family_by_HPLC_and_spectrophotometry_method
5. Paredes F, Roca J. Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicina antimicrobiana. Offarm. Farmacia y Sociedad. 2004; 23(3): p. 116-124. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 25]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-accion-antibioticos-perspectiva-medicacion-antimicrobiana-13059414>
6. Sanchez E, Castillo S, García P. Actividad antimicrobiana. In Rivas C, Oranday M, Verde M. Investigación en plantas de importancia médica.: OmniaScience; 2016. p. 77-96. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 26]. Disponible en:
<https://www.omniascience.com/books/index.php/monographs/catalog/download/97/410/816-1?inline=1>
7. Oromí J. Resistencia bacteriana a los antibióticos. Medicina Integral. 2000; 36(10): p. 367-369. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 26]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-estadisticas-10022180>
8. Fernández F, López J, Ponce L, Machado C. Resistencia bacteriana. Revista Cubana de Medicina Militar. 2003; 32(1): p. 44-48. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 26]. Disponible

en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S013865572003000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es

9. Bahmani M, Khaksarian M, Rafieian M, Abbasi N. Overview of the Therapeutic Effects of *Origanum vulgare* and *Hypericum perforatum* Based on Iran's Ethnopharmacological Documents. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2018; 12(7): p. 1-4. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 15]. Disponible en: <http://eprints.lums.ac.ir/1350/>
- 10 Acevedo D, Navarro M, Monroy L. Composición Química del Aceite Esencial de Hojas de Orégano (*Origanum vulgare*). *Información Tecnológica*. 2013; 24(4): p. 43-48. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 17]. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642013000400005
- 11 Aguilar A, Noratto G, Chambi F, Debaste F, Campos D. Potential of tara (*Caesalpinia spinosa*) gallotaninns and hydrolyzates as natural antibacterial compounds. *Food Chemistry*. 2014; 156(1): p. 301-304. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 17]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814614001423?via%3Dihub>
- 12 Cholán K, Zavaleta G, Saldaña J, Blas W. el efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Fabaceae) sobre el crecimiento de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* usando un diseño en bloques completamente al azar. Para lo cual, se preparó un extracto hidroalcohólico al 70° con vainas. *Arnaldoa*. 2019; 26(2). [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 17]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2413-32992019000200012&script=sci_arttext#:~:text=En%20la%20presente%20investigaci%C3%B3n%20se,maduras%20y%20secas%20de%20C
- 13 Villena J, Seminario J, Valderrama M. Variabilidad morfológica de la "tara" *Caesalpinia spinosa* (Molina.) Kuntze (Fabaceae), en poblaciones naturales de Cajamarca: descriptores de fruto y semilla. *Arnaldoa*. 2019; 26(2): p. 555-574. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 21]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S241332992019000200003&script=sci_arttext
- 14 Schovelin A, Muñoz M. Efecto Antibacteriano de la Infusión de Orégano (*Origanum vulgare*) sobre el Crecimiento in Vitro de *Streptococcus mutans*, 2015. *International Journal of Odontostomatology*. 2018; 12(4). [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 28]. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-381X2018000400337&script=sci_abstract

- 15 Lopez E. efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) .sobre cepas certificadas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Tesis de grado. Universidad Técnica de Ambato; 2018. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 28]. Disponible en:
<https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/27546/1/Tesis%20130%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20568.pdf>
- 16 Peralvo M. Efecto de la tintura de matico (*Buddleja globosa*) para el tratamiento de gingivitis .en caninos domésticos (*canis lupus familiaris*). Tesis magistral. Universidad Técnica de Cotopaxi; 2021. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 28]. Disponible en:
<http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/7767/1/MUTC-001002.pdf>
- 17 Ayala L. Efecto de la tintura de huacatay (*tagetes minuta*) para el tratamiento de gingivitis en .caninos domésticos (*canis lupus familiaris*). Tesis de licenciatura. Universidad Técnica de Cotopaxi; 2021. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 28]. Disponible en:
<http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/7911/1/PC-002055.pdf>
- 18 Perez O, Alvarado R, Yacarini A. Actividad antibacteriana in vitro de extracto etanólico .crudo de las hojas de *Origanum vulgare*, frente *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Journal of the Selva Andina Research Society. 2021; 12(1). [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 28]. Disponible en:: <https://doi.org/10.36610/j.jsars.2021.120100021>
- 19 Moreno M. Efecto antibacteriano in vitro de extractos etanólicos de orégano, tomillo y salvia .sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* con resistencia múltiple. Tesis magistral. Universidad Nacional Pedro ruiz Gallo; 2020. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 28]. Disponible en:
<https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/8421/BC-4824%20MORENO%20MANTILLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 20 Martorell O. Efecto antibacteriano del extracto acuoso y etanólico de la *Caesalpinia spinosa* .(tara) sobre el *streptococcus mutans* ATCC 25175 - estudio in vitro Tacna 2020. Tesis de licenciatura. Universida Privada de Tacna; 2020. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 28]. Disponible en: <https://repositorio.upt.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12969/1634/Martorell-Vilca-Orestes.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 21 Salinas R. Actividad microbiana de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “Orégano .peruano” frente a *Staphylococcus aureus*. Tesis de licenciatura. Universidad Norbert Wiener;

2018. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 28]. Disponible en:
<https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/375>
- 22 Rock C, Rivera B. La calidad del agua, E. Colli y su salud. Universidad de Arizona ; 2011.
.[Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 26]. Disponible en:
<https://extension.arizona.edu/sites/extension.arizona.edu/files/pubs/az1624s.pdf>
- 23 Rodriguez G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de
. Escherichia coli. Salud Pública Mex. 2002; 44(5): p. 464-475. [Online].; 2022 [cited 2022
Octubre 26]. Disponible en:
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003636342002000500011
- 24 Zendejas G, Avalos H, Soto M. Microbiología general de Staphylococcus aureus:
. Generalidades, patogenecida y métodos de identificación. Revista Biomédica. 2014; 25(3):
p. 129-143. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 26]. Disponible en:
<https://doi.org/10.32776/revbiomed.v25i3.42>
- 25 Paz V, Manqwani S, Martínez A, Álvarez D, Solano S, Vázquez R. Pseudomonas
. aeruginosa: patogenecidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. Revista
chilena de infectología. 2019; 36(2): p. 180-189. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 26].
Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v36n2/0716-1018-rci-36-02-0180.pdf>
- 26 Sanchez H, Reyes C, Mejia K. Manual de términos en investigación científica, tecnológica y
. humanística Lima: Universidad Ricardo Palma; 2018. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre
30]. Disponible en: <https://www.urp.edu.pe/pdf/id/13350/n/libro-manual-de-terminos-en-investigacion.pdf>
- 27 Instituto de Medicina Tradicional (IMET)- EsSalud. Protocolo de Estudio de la Actividad
. antimicrobiana; 2007. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 30]. Disponible en:
http://www.essalud.gob.pe/downloads/gcps/medicina_complementaria/Estadisticas/INFORME_DE_GESTION_IMET_2017.pdf
- 28 Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad
. antimicrobiana por el Método del disco difusión. Ministerio de Salud Lima: Ministerio de
Salud, Instituto Nacional de Salud; 2002. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 30].
Disponible en:
https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manua_l_sensibilidad.pdf

- 29 Perez A, Rojas J, Rodriguez J, Doncel A, Arrieta J, Martinez J, et al. Evaluación de métodos . para medir la actividad inhibitoria de extractos vegetales nativos del departamento de sucre sobre bacterias y levadura patógenas. Revista Colombiana De Ciencia Animal - RECIA. 2011; 3(1): p. 90-101. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 30]. Disponible en: <https://repositorio.unisucra.edu.co/handle/001/1322>
- 30 Igarza G, Licea I, San Román R, Ochoa A. Reformulación y estabilidad de la tintura del . fruto de Citrus limón (L.) Osbeck al 20%. Orange Journal. 2021; 3(6): p. 58-69. [Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 30]. Disponible en: <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.06>
- 31 Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira Brasília: Anvisa; 2010. .[Online].; 2022 [cited 2022 Octubre 30]. Disponible en: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/arquivos/8000json-file-1>

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

"AÑO DE LA UNIDAD, LA PAZ Y EL DESARROLLO"

El Bigo, que suscribe determina que, la muestra biológica presentada por la bachiller en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga, **MILAGROS NATALY ESCOBAR MONTOYA**, con DNI N°72860795, para su determinación pertenece al nombre científico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze "tara", según Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist, (1988).

REINO: PLANTAE

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: FABALES

FAMILIA: FABACEAE

SUBFAMILIA: CAESALPINOIDEAE

GÉNERO: *Caesalpinia*

ESPECIE: *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze

N.V. "tara"

Sinonimia:

Tara spinosa (Molina) Britton & Rose

Caesalpinia tara Ruiz & Pav.

Se emite la presente certificación a solicitud del interesado, para fines de estudios

Ica 05 de noviembre del 2022.




Dr. Miriam Miramón David
BIOLOGO
CBP. 3681

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

"AÑO DE LA UNIDAD, LA PAZ Y EL DESARROLLO"

El Bgo, que suscribe determina que, la muestra biológica presentada por la bachiller en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga. **MILAGROS NATALY ESCOBAR MONTOYA**, con DNI N°72860795, para su determinación pertenece al nombre científico de *Origanum vulgare* L. "orégano", según Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist, (1988).

REINO: PLANTAE

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: LAMIACEAE

SUBFAMILIA: NEPETOIDEAE

GÉNERO: *Origanum*

ESPECIE: *Origanum vulgare* L

N.V. "orégano"

Se emite la presente certificación a solicitud del interesado, para fines de estudios

Ica 05 de noviembre del 2022.




Dr. Miranda Huamán David Maximo
 **BIÓLOGO**
CBP. 3681

ANEXO 2: CONSTANCIA DE PERMISO PARA USO DE LABORATORIO

	UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA	
<u>CONSTANCIA</u>		
EL DIRECTOR ACADÉMICO DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA.		
HACEN CONSTAR QUE LA ESTUDIANTE:		
ESCOBAR MONTOYA, MILAGROS NATALY		
Código N° 20142733		
Hará uso de las instalaciones del laboratorio de Análisis Instrumental, para el desarrollo de su proyecto de tesis, la cual lleva como título ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA TINTURA DE LAS HOJAS DE ORIGANUM VULGARE "OREGANO" Y FRUTOS DE CAESALPINIA SPINOSA "TARA", y que aprobado el proyecto deberá presentar un documento con su asesor, indicando los días y horas que hará uso del laboratorio.		
Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.		
UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA Dirección de Escuela Académica  DR. GERARDO Y. KOSAS HERNÁNDEZ DIRECTOR		Ica, 04 de Noviembre 2022

ANEXO 3: RECOLECCIÓN DE ESPECIES

Recolección de la especie *Origanum vulgare* "Orégano" y *Caesalpinia spinosa* "Tara"



ANEXO 4: PROCESO DE MACERACIÓN

Tratamiento de secado de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara". (aproximadamente 15 días).



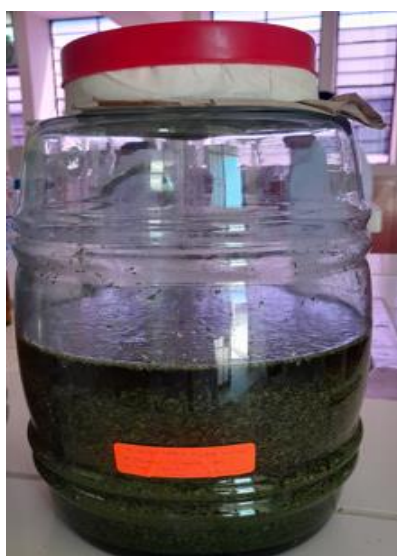
Muestras de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" secadas, OH 70° (líquido extractor), probetas y frascos a utilizar.



Muestras de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" previamente secadas hacia frascos con capacidad suficiente y debidamente rotulados.



Inicio del proceso de maceración de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" en contacto directo con el líquido extractor OH 70°. (aproximadamente 20 días).



Inicio del primer proceso de filtrado de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara". (reposo por 48 horas).



Inicio del segundo proceso de filtrado del obtenido previamente de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara".



Almacenamiento de las muestras obtenidas de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" en frascos ámbar debidamente rotulados.



(Tintura obtenida de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano")



(Tintura obtenida de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara")

Materiales utilizados probetas, vasos precipitados, pipetas, pro-pipetas y frascos ámbar.



Medición de las tinturas de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara".

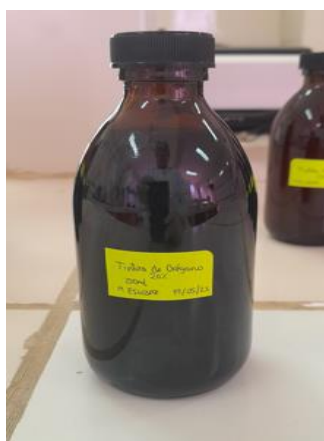




Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% "A"

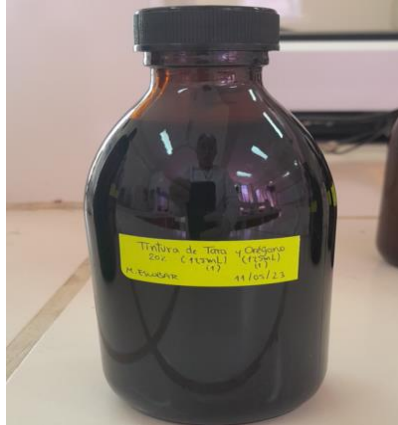


Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20% "B"

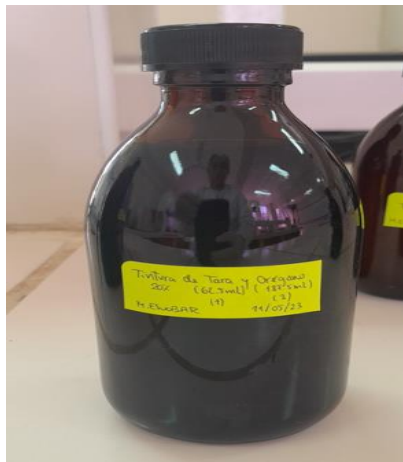


Tintura de las hojas de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% a diferentes proporciones "C":

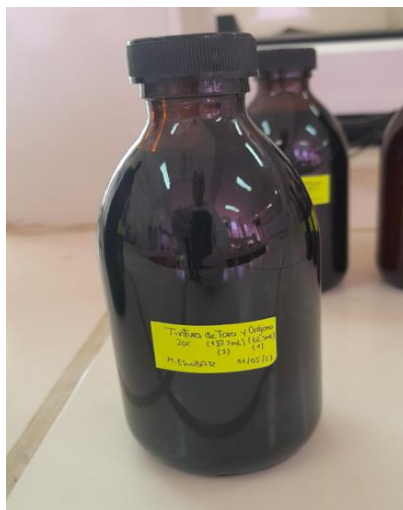
- I. Tintura de hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% (1:1) C-1



- II. Tintura de hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% (3:1) C-2



- III. Tintura de hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% (1:3) C-3



**ANEXO 5: MATERIALES UTILIZADOS PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA**



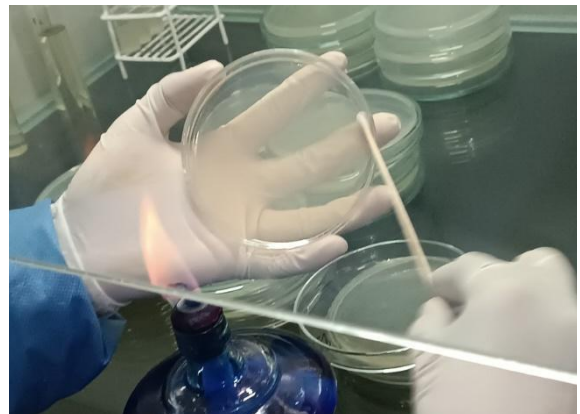
ANEXO 6: MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO

a) Controles y Muestras

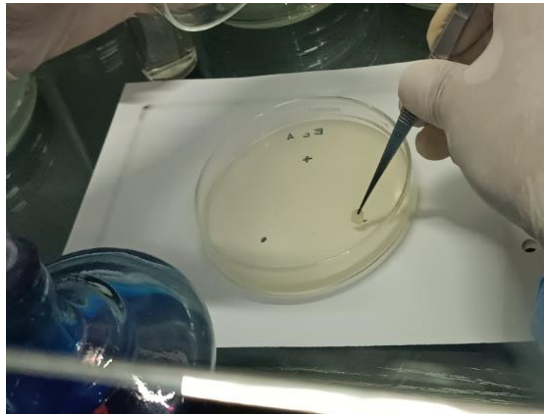
- **Control Negativo:** Etanol 70%
- **Control Positivo:** Ceftriaxona 1g/10Ml
- **Muestra A:** Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%
- **Muestra B:** Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%
- **Muestra C-1:** Tintura de hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% (1:1)
- **Muestra C-2:** Tintura de hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% (3:1)
- **Muestra C-3:** Tintura de hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20% (1:3)



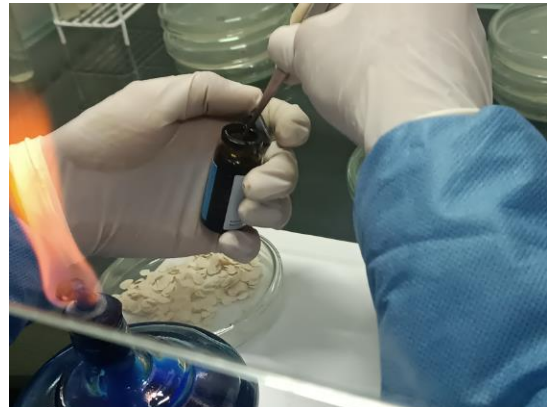
- b) Siembra en toda la superficie de la Placa Petri con los inóculos necesarios:
Escherichia coli ATCC 13216; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y
Staphylococcus aureus ATCC 29213

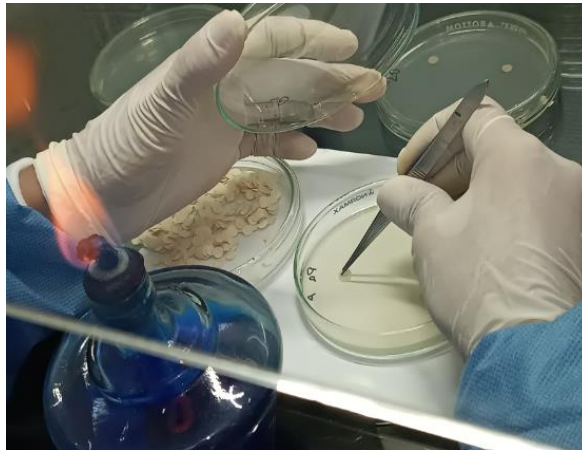


- c) Impregnación y colocación del disco con el control negativo en la Placa Petri previamente sembrada.**



- d) Impregnación y colocación del disco con el control positivo en la Placa Petri previamente sembrada.**



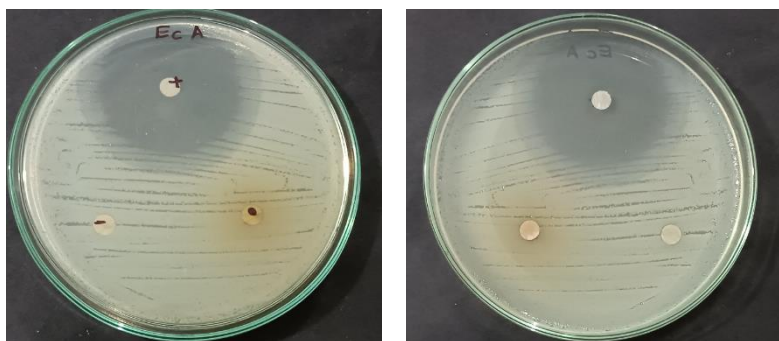


e) Impregnación y colocación del disco con las muestras (A; B; C-1; C-2; C-3) en la Placa Petri previamente sembrada.

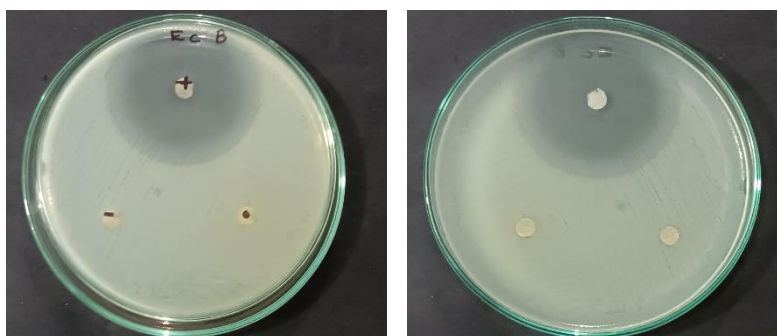


I. *Escherichia coli* ATCC 13216

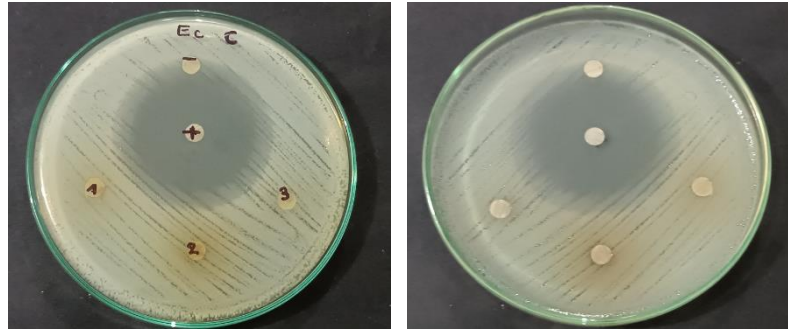
- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra A (Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



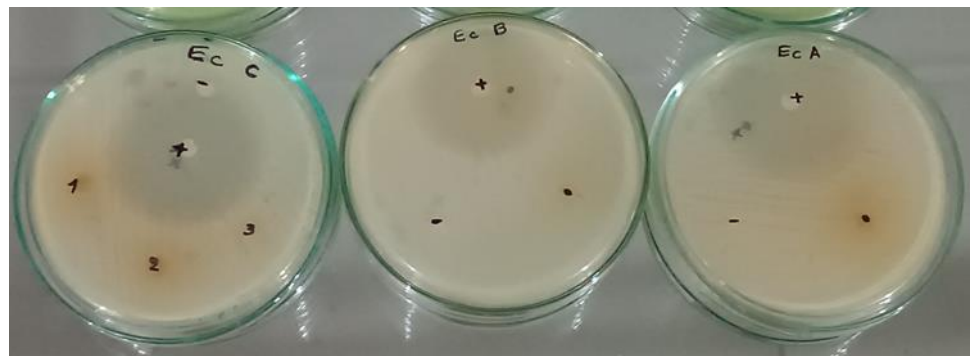
- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra B (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%)



- **Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra C-1 [1:1]; C-2 [3:1]; C-3 [1:3] (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)**

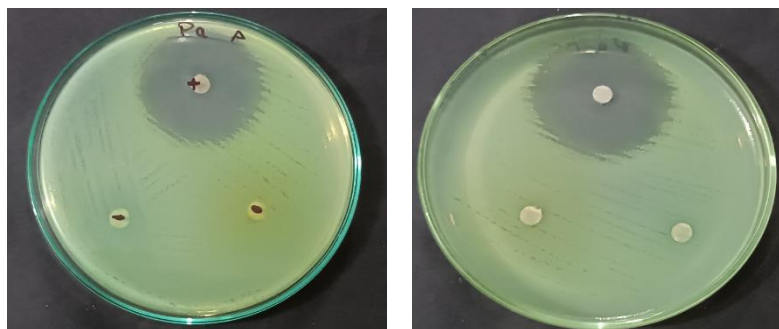


- **Conjunto de Placas Petri por Muestra "A"; "B" y "C-1"; "C-2"; "C-3" por triplicado**

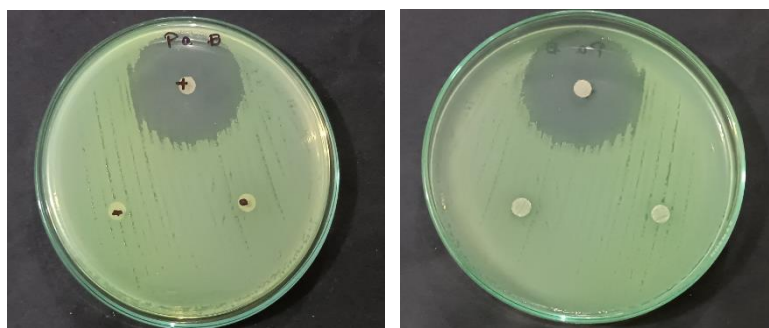


II. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

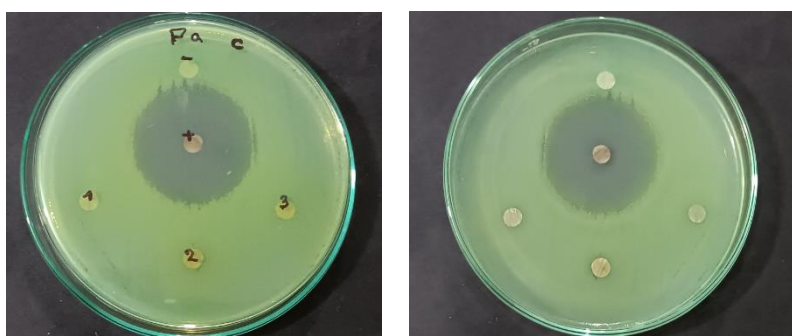
- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra A (Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra B (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%)



- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra C-1 [1:1]; C-2 [3:1]; C-3 [1:3] (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)

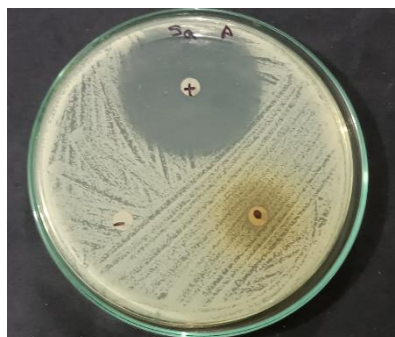


- Conjunto de Placas Petri por Muestra “A”; “B” y “C-1”; “C-2”; “C-3” por triplicado



III. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

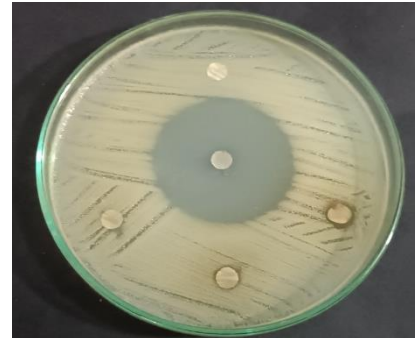
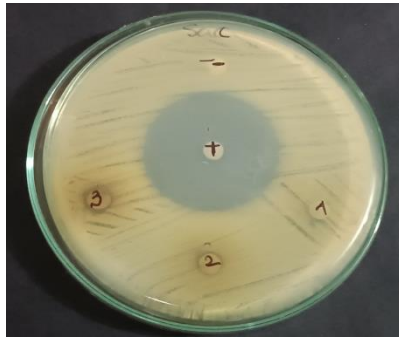
- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra A (Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra B (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%)



- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra C-1 [1:1]; C-2 [3:1]; C-3 [1;3] (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



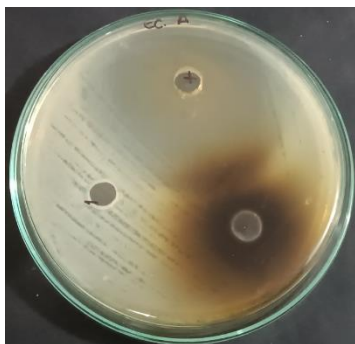
- Conjunto de Placas Petri por Muestra "A"; "B" y "C-1"; "C-2"; "C-3" por triplicado



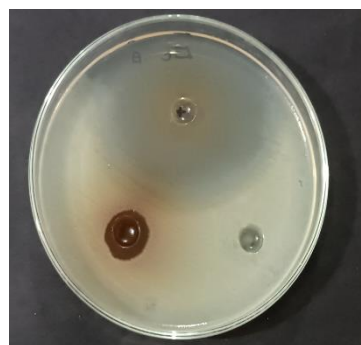
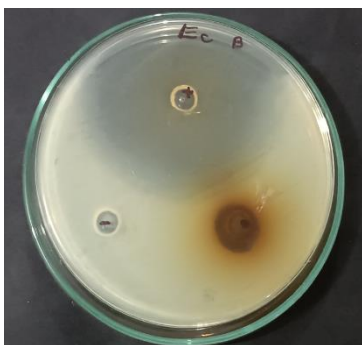
ANEXO 7: MÉTODO DE DIFUSIÓN EN POZO

I. *Escherichia coli* ATCC 13216

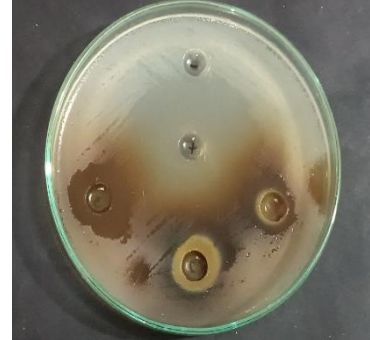
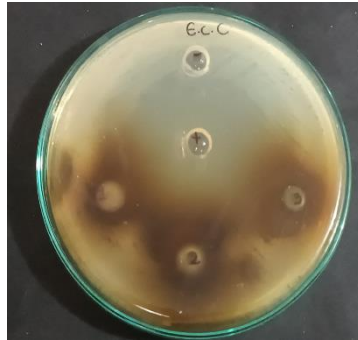
- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra A (Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra B (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%)



- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra C-1 [1:1]; C-2 [3:1]; C-3 [1:3] (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)

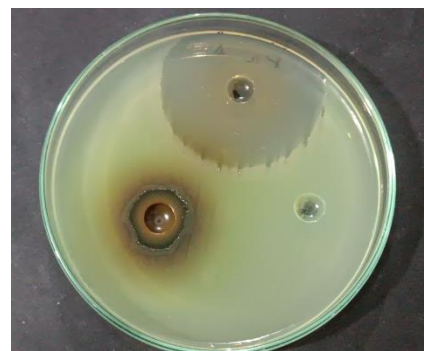
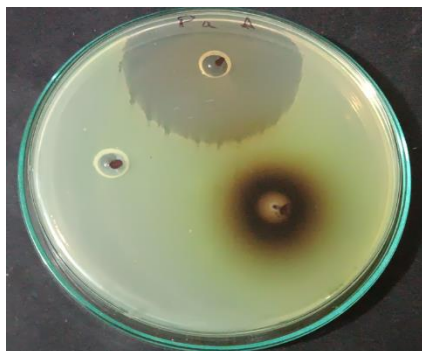


- Conjunto de Placas Petri por Muestra "A"; "B" y "C-1"; "C-2"; "C-3" por triplicado

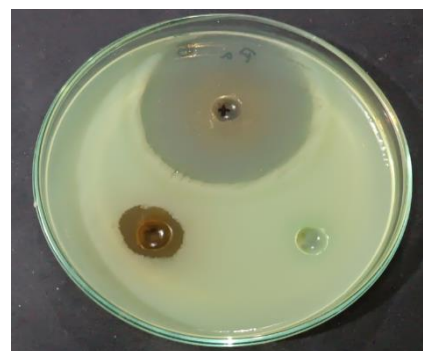
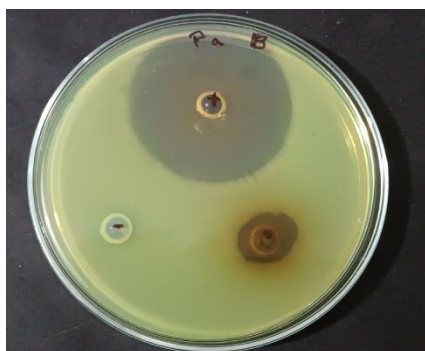


II. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

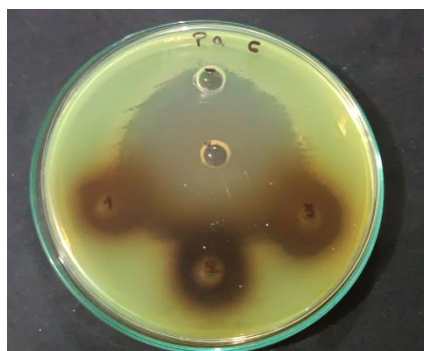
- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra A (Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra B (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%)



- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra C-1 [1:1]; C-2 [3:1]; C-3 [1:3] (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)

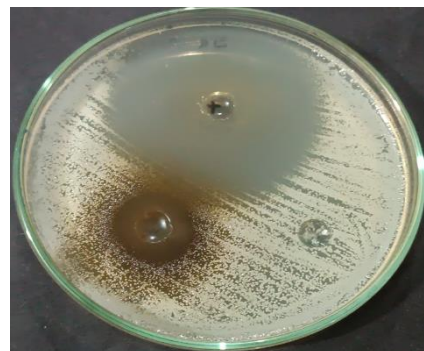
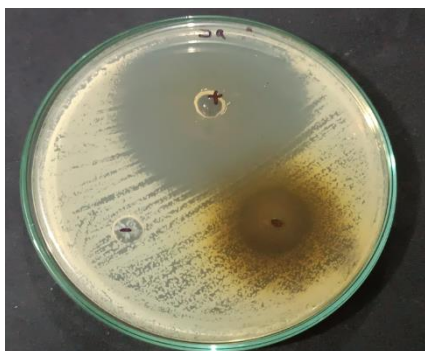


- Conjunto de Placas Petri por Muestra “A”; “B” y “C-1”; “C-2”; “C-3” por triplicado

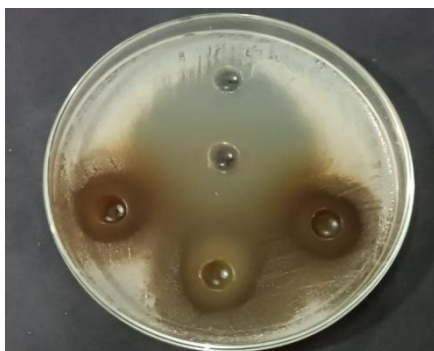


III. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

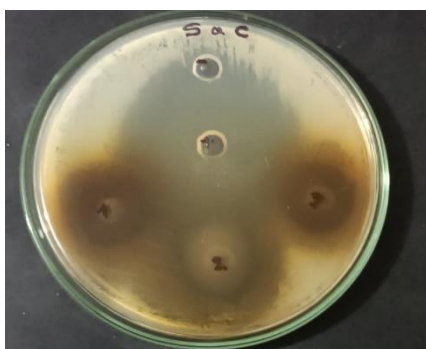
- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra A (Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra B (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%)



- Control Negativo (Etanol 70%), Control Positivo (Ceftriaxona 1g/10mL), Muestra C-1 [1:1]; C-2 [3:1]; C-3 [1:3] (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



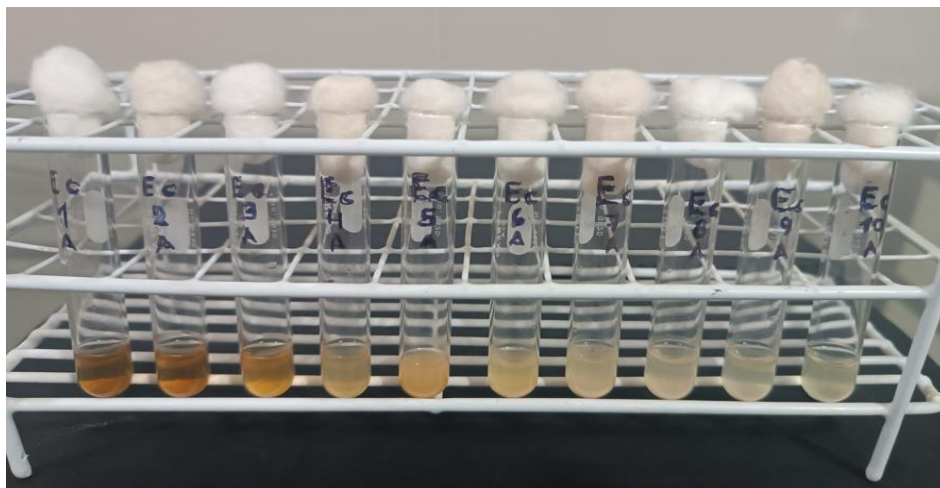
- Conjunto de Placas Petri por Muestra "A"; "B" y "C-1"; "C-2"; "C-3" por triplicado



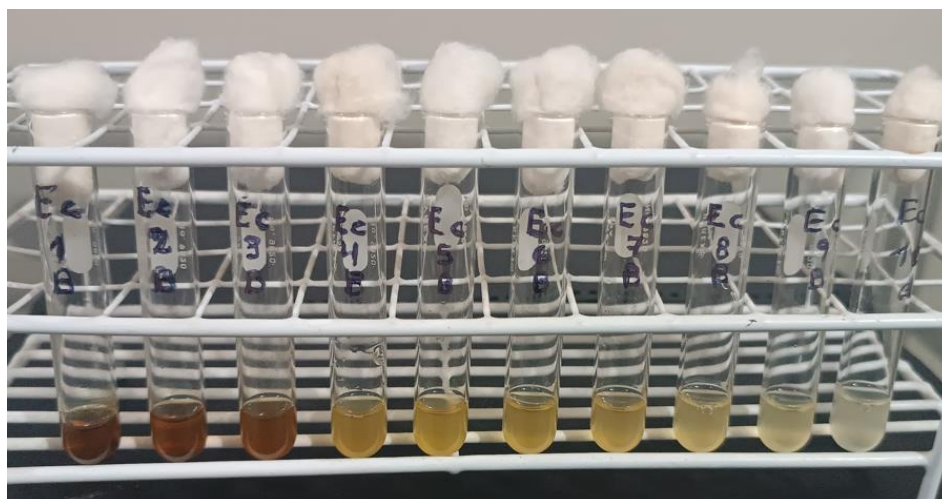
ANEXO 8: DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA

I. *Escherichia coli* ATCC 13216

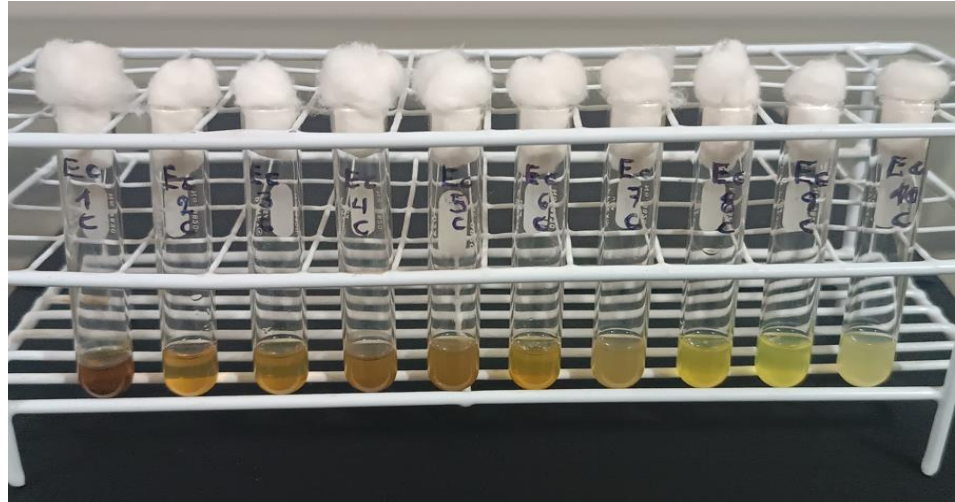
- Muestra A (Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



- Muestra B (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%)

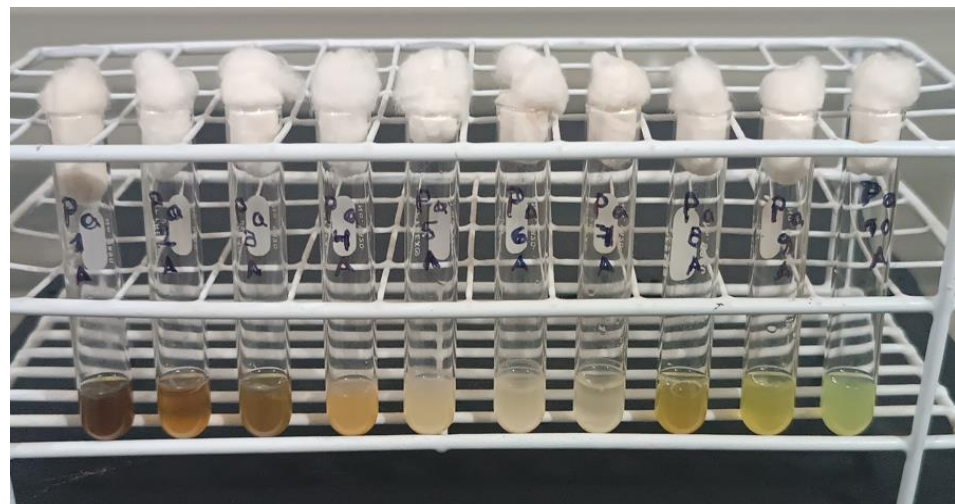


- Muestra C-3 [1;3] (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



II. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

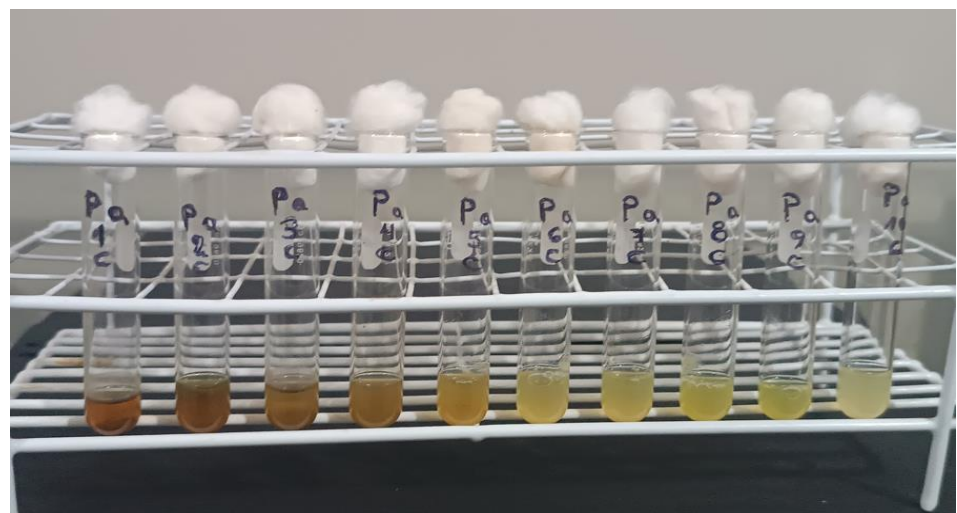
- Muestra A (Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



- Muestra B (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%)

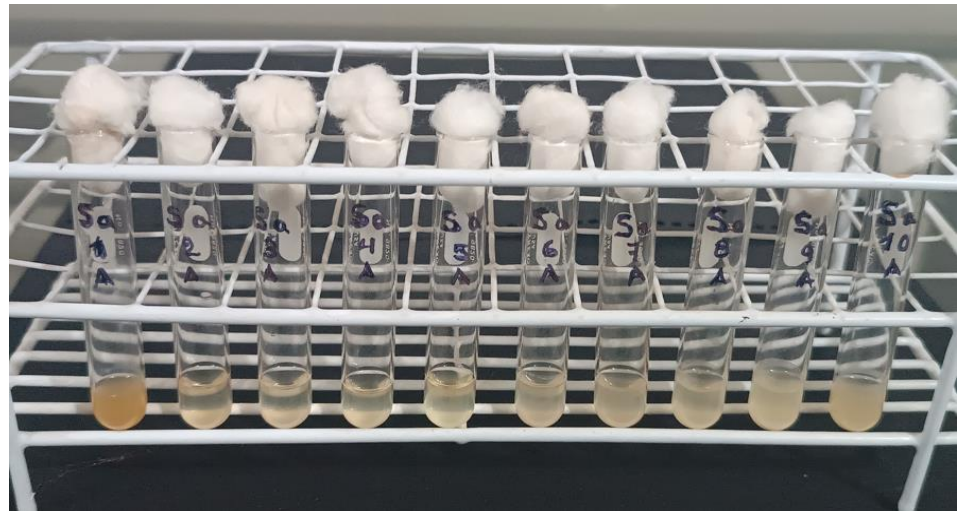


- Muestra C-3 [1;3] Muestra C-3 [1;3] (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)

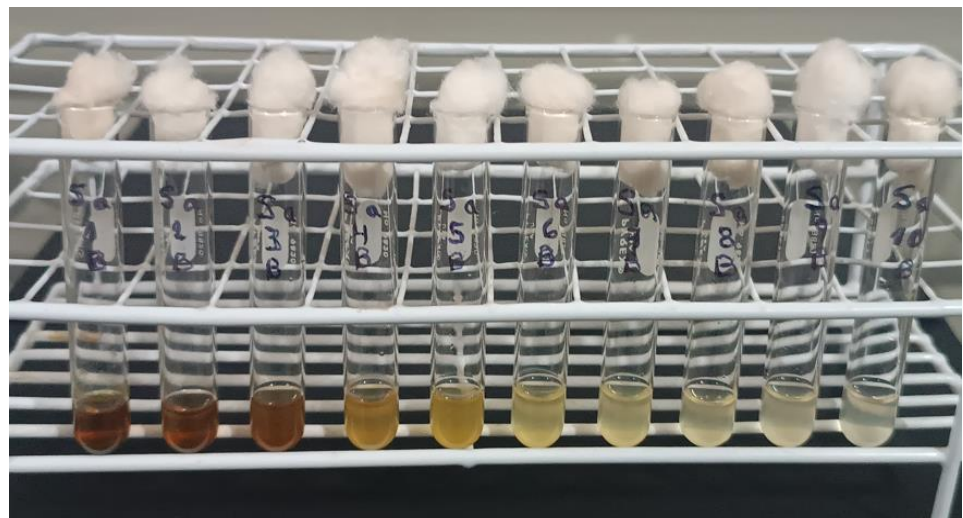


III. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

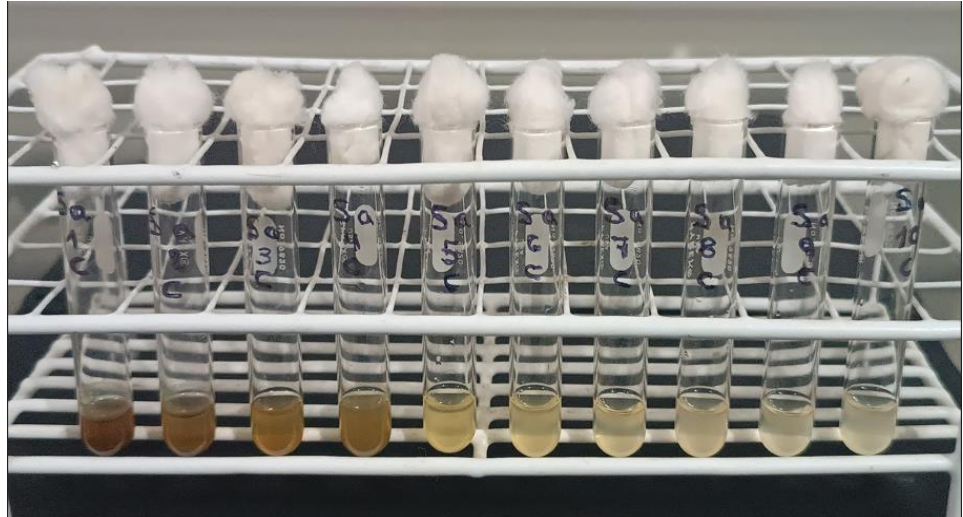
- Muestra A (Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



- Muestra B (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%)



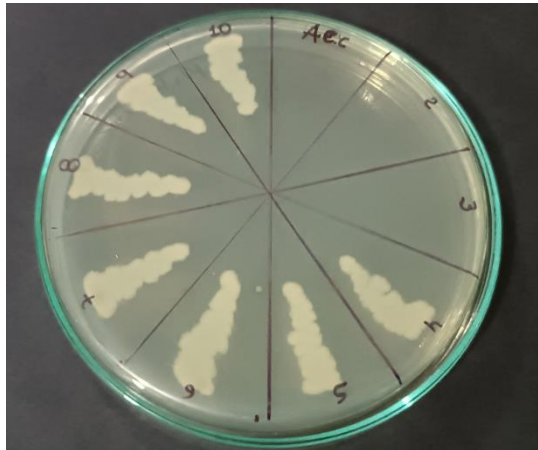
- Muestra C-3 [1;3] (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



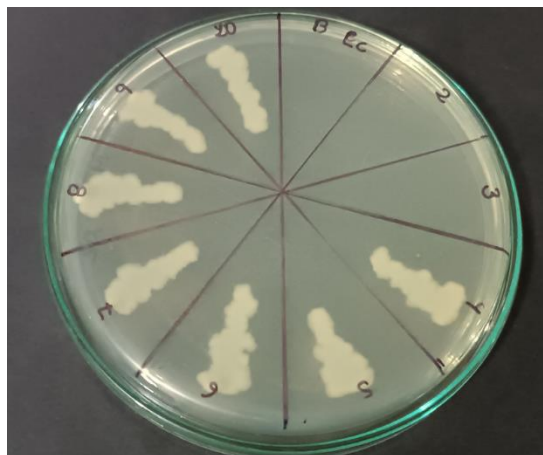
ANEXO 9: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA

I. *Escherichia coli* ATCC 13216

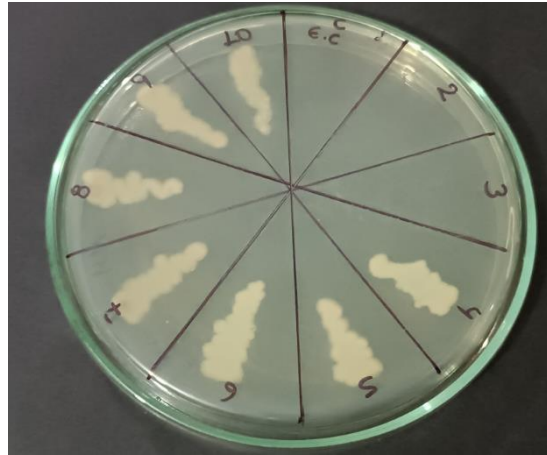
- Muestra A (Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



- Muestra B (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%)



- Muestra C-3 [1;3] (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)

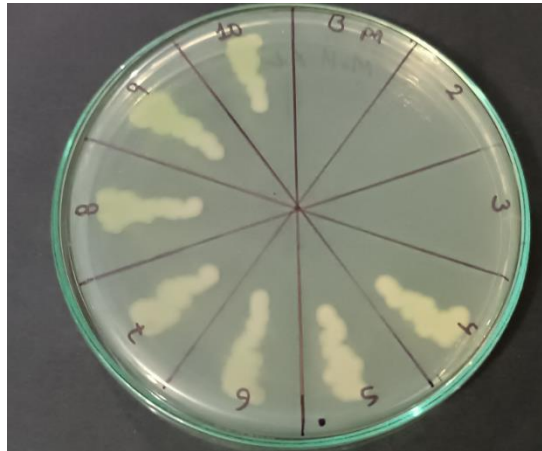


II. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

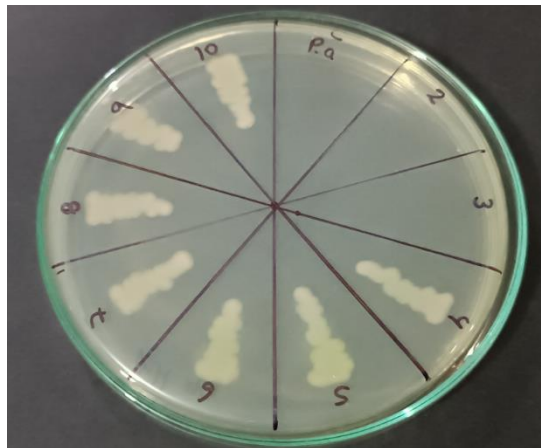
- Muestra A (Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



- Muestra B (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%)

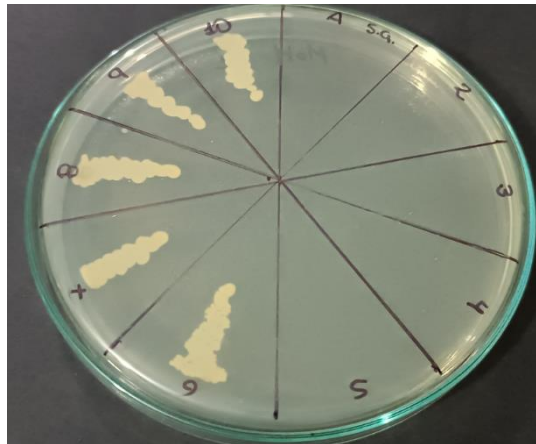


- Muestra C-3 [1;3] (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)

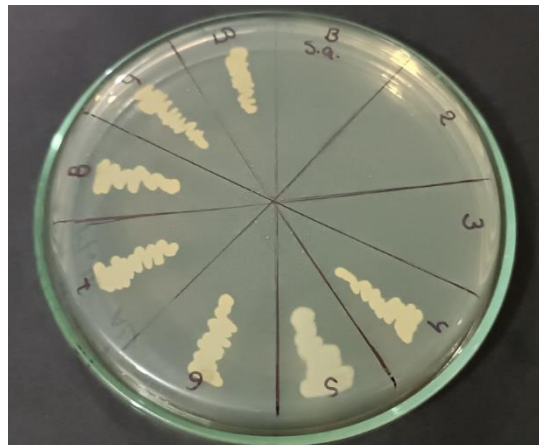


III. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

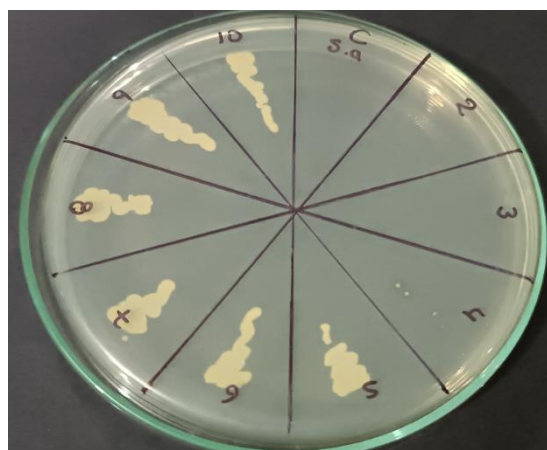
- Muestra A (Tintura de los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



- Muestra B (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" 20%)



- Muestra C-3 [1;3] (Tintura de las hojas de *Origanum vulgare* "Orégano" y los frutos de *Caesalpinia spinosa* "Tara" 20%)



ANEXO 10: DETERMINACIÓN DE CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS



ANEXO 11: DETERMINACIÓN DE CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS



