



**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE
Caesalpinia spinosa SOBRE *Proteus mirabilis***

Nelcy Tatiana Camargo Rojas

Stefani Alexandra Constain Escobar

Valeria Herrera Franco

Maria Isabel Rivas Ocampo

Trabajo de grado presentado para optar al título de Microbiólogas y Bioanalistas

Asesor

Vitelbina Núñez Rangel

Universidad de Antioquia

Escuela de Microbiología y Bioanálisis

Medellín, Antioquia, Colombia

2023

Cita	Herrera Franco et al (1)
Referencia	(1) Herrera Franco V, Rivas Ocampo MI, Camargo Rojas NT, Cosntain Escobar SA. Actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> sobre <i>Proteus mirabilis</i> [Pregrado]. Medellín. Universidad de Antioquia; 2023
Estilo Vancouver/ICMJ E (2018)	



Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* SOBRE *Proteus mirabilis*.

Nelcy Tatiana Camargo Rojas, Stefani Alexandra Constain Escobar, Valeria Herrera Franco, Maria Isabel Rivas Ocampo¹. Vitelbina Núñez Rangel²

1. Estudiantes Microbiología y bioanálisis. Escuela de microbiología. Universidad de Antioquia.
2. Asesora- Docente – Escuela de microbiología. Universidad de Antioquia.

RESUMEN

La resistencia a antibióticos es una problemática de salud pública que ha venido aumentando a nivel mundial, lo que ha provocado la disminución en las alternativas de tratamiento frente a muchos microorganismos. *Proteus mirabilis* hace parte de la familia de las enterobacterias, bacterias que generan preocupación por ser productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Una de las estrategias sostenibles para el desarrollo de nuevos tratamientos para las infecciones por bacterias es evaluar extractos de plantas, así varias investigaciones con especies vegetales han demostrado su actividad inhibitoria del crecimiento bacteriano. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* sobre un cepa de *Proteus mirabilis* procedente de la colección de bacterias de la Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia (CÓDIGO RNC 250), para ello se realizó una prueba de inhibición por el método de difusión en agar, donde se obtuvieron resultados que mostraron halos de inhibición mayores a 12 mm, dependientes de la concentración del extracto, evidenciando así actividad sobre *Proteus mirabilis*. Adicionalmente el

extracto produjo hemólisis sobre glóbulos rojos, indicando que la actividad podría estar relacionada a un efecto sobre la membrana plasmática. En conclusión, el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* demostró que inhibe el crecimiento de *Proteus mirabilis*. Estos resultados sirven como base para posteriores estudios donde se identifique el compuesto específico responsable de la actividad y evaluar su mecanismo de acción y su farmacocinética.

Palabras claves: actividad antimicrobiana, antibióticos, *Caesalpinia spinosa*, extractos naturales, *Proteus mirabilis*, resistencia.

ABSTRACT

Antibiotic resistance is a public health problem that has been increasing worldwide, which has led to a decrease in treatment alternatives for many microorganisms. *Proteus mirabilis* belongs to the family of enterobacteria, bacteria that cause concern for being producers of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL). One of the sustainable strategies for the development of new treatments for bacterial infections is to evaluate plant extracts, and several investigations with plant species have demonstrated their bacterial growth inhibitory activity. Therefore, the objective of this work was to evaluate the in vitro activity of the alcoholic extract of *Caesalpinia spinosa* on a strain of *Proteus mirabilis* from the bacterial collection of the School of Microbiology of the University of Antioquia (CODE RNC 250), for which an inhibition test was performed by the agar diffusion method, where results were obtained that showed inhibition halos greater than 12 mm, depending on the concentration of the extract, thus demonstrating activity on *Proteus mirabilis*. Additionally, the extract produced hemolysis on red blood cells, indicating that the activity could be related to an effect on the plasma membrane. In conclusion, the alcoholic extract of *Caesalpinia spinosa* was shown to inhibit the growth of *Proteus mirabilis*. These results serve as a basis for further studies to identify the specific compound

responsible for the activity and to evaluate its mechanism of action and pharmacokinetics.

Keywords: antibiotics, antimicrobial activity, *Caesalpinia spinosa*, natural extract, *Proteus mirabilis*, resistance.

INTRODUCCIÓN

Debido al excesivo e incorrecto uso de los antibióticos, se ha incrementado la resistencia antimicrobiana, generando una disminución terapéutica y pocas alternativas para el tratamiento en humanos y animales, lo cual representa uno de los principales problemas de salud pública [1] Este aumento de resistencia ha llevado al incremento de la tasa de la morbilidad y mortalidad. Así como incremento en costos económicos en los sistemas de salud [2]. Entre las bacterias que generan gran preocupación por el incremento en la resistencia antimicrobiana se encuentran las *Enterobacterias* de espectro extendido (BLEE) productoras de betalactamasas o carbapenemasas [3]. Dentro de estas *Proteus mirabilis*, que además de su resistencia intrínseca a las polimixinas, nitrofuranos, tetraciclinas y susceptibilidad reducida a imipenem, tiene una amplia resistencia adquirida y han surgido bacterias multirresistentes alrededor del mundo, donde se incluyen las productoras de BLEE, *cefalosporinas AmpC* y *carbapenemasas*, representando un grave riesgo, debido a su amplia incidencia en humanos. [4]

Proteus mirabilis, es una bacteria Gram negativa en forma de bastón, perteneciente al grupo *Enterobacteriaceae* [5], la cual fue descubierta por primera vez en el año de 1985 por Hauser. Este microorganismo se encuentra distribuido generalmente en aguas, suelos y en el tracto gastrointestinal de humanos y animales como parte de su microbiota [6]. Dicho patógeno oportunista es el responsable de infecciones del tracto urinario en humanos [7]. La presencia de la enzima ureasa, metaloenzima, es uno de los principales mecanismos de patogenicidad de este microorganismo, la

cual tiene como función hidrolizar la urea en amoníaco y dióxido de carbono y generando aumento del pH urinario, precipitación de sales de calcio (Ca) y magnesio (Mg) lo que resulta en la formación de cálculos renales que llevan a la obstrucción del flujo urinario e inflamación. Además, posee gran cantidad de fimbrias que le permiten la unión estrecha con las células, causando daño severo en el uroepitelio; otros factores de virulencia incluyen sideróforos y proteasas [5]. Este patógeno también desarrolla diversas enfermedades respiratorias e infecciones en piel y tejidos blandos [8, por otra parte, se asocia a la presencia de otitis canina, enfermedad frecuente en perros que suele tratarse empíricamente, favoreciendo el incremento de resistencia de este microorganismo lo que puede desencadenar en un problema de salud pública, ya que estos animales se consideran reservorios de microorganismos que se pueden transmitir a humanos [9].

Una de las estrategias sostenibles para el tratamiento de infecciones por bacterias es el uso de extractos naturales, la OMS estima que más del 80% de la población mundial utiliza la medicina tradicional como tratamiento en la atención primaria de la salud, donde una planta medicinal es definida como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden utilizarse con fines terapéuticos o que sus principios activos puedan servir como precursor en la síntesis de fármacos [10]. Actualmente se evidencian varias investigaciones con diferentes especies vegetales que demuestran su efectividad al momento de controlar o inhibir el crecimiento bacteriano. En una revisión sistemática de extractos y tejidos vegetales con actividades antibacterianas, se incluyeron 483 artículos y se halló que 958 especies de plantas tuvieron acción antibacteriana, siendo prominentes las familias Lamiaceae, Fabaceae y Asteraceae. Las especies más estudiadas fueron *Cinnamomum verum*, *Rosmarinus vulgaris* y *Thymus vulgaris*. En ese trabajo también se concluyó que, a pesar de que se ha descrito un número importante de especies evaluadas frente a esta actividad, corresponde solo a menos del 1% de

las especies de plantas descritas en el mundo (374.000), por ello faltan muchas especies para ser exploradas frente a su acción antibacteriana [11].

La especie *Caesalpinia spinosa* de la familia Fabaceae y conocida comúnmente como “Tara”, en Colombia se encuentra en las cordilleras Oriental y Central generalmente en climas medios y fríos entre los 1.500 y 2900 m.s.n.m [24], es una especie resistente a la sequía, plagas y enfermedades. Es un arbusto silvestre de 3-5 m de altura, tronco corto corteza rugosa de color gris con espinas dispersas, las hojas son alternas, es de ramas cortas y estriadas cuyas flores son de color amarillo rojizo dispuestas en racimos, sus frutos son vainas de color naranja los cuales contienen granos de semillas redondeadas [13], esta planta ha sido estudiada in vitro empleando su fruto (extracto de las vainas), mostrando actividad antimicrobiana tanto en bacterias Gram positivas como bacterias Gram negativas, siendo *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas fluorescens* las de mayor sensibilidad [14]. También en un estudio se identificaron cepas de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* sensibles a los compuestos presentes en el extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* [15]. Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad in vitro del extracto alcohólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* sobre una cepa de *Proteus mirabilis*. Además, se evaluó la actividad del extracto frente a glóbulos rojos para determinar su actividad sobre las células eucariotas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio: Estudio de tipo experimental- comparativo donde se busca comparar el efecto de inhibición de *Proteus mirabilis* utilizando el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa*.

Unidad experimental: Se utilizó una cepa ATCC de *Proteus mirabilis* procedente de la colección de bacterias de la Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia (CÓDIGO RNC 250)

RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Para la recolección de la información se utilizó una fuente de información primaria, empleando un diseño experimental donde su principal objetivo es demostrar la actividad de extractos naturales frente a una bacteria.

Planta: La planta *Caesalpinia spinosa* (Figura 1) fue recolectada en zona rural del municipio de Duitama del departamento de Boyacá, fue identificada en el herbario de la Universidad de Antioquia en Medellín (Anexo 1).

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO DE *Caesalpinia spinosa*

La planta fue secada en una estufa a una temperatura de 37° a 40° C por 6 días. Las vainas de *Caesalpinia spinosa* fueron molidas manualmente. Luego se realizó la maceración empleando etanol al 96% (grado reactivo) por un periodo de 48h. Luego se procedió a filtrar el macerado utilizando papel filtro Whatman N°1 en un matraz estéril, obteniéndose así, el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa*. El extracto se concentró a sequedad utilizando un rotavapor Buchi, luego el residuo fue liofilizado. Finalmente, el sólido fue conservado en congelación hasta su uso.

PRUEBA DE INHIBICIÓN POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR

A partir de un cultivo puro de *Proteus mirabilis*, se realizó un inóculo y se ajustó al patrón McFarland de 0,5 a 600 nm y se realizó una siembra por confluencia en cajas de Petri con agar Mueller Hinton. Las cajas se dejaron secar por 10 minutos. Posteriormente se dividieron las cajas en cuatro cuadrantes, se realizó un pozo con un sacabocados estéril. A partir del extracto liofilizado se realizaron diluciones seriadas en concentraciones de 4 mg/15 µL , 6 mg/15 µL , 8 mg/15 µL, 10 mg/15 µL, cada una de estas fue sembrada en los pozos con un volumen de 15 µL. Como

control negativo se empleó solución salina y como control positivo el antibiótico penicilina- estreptomycin (SIGMA). El ensayo se repitió 3 veces. Los medios se incubaron a una temperatura de 37 ° C por 24 horas. El efecto de las concentraciones del extracto de *Caesalpinia spinosa* sobre la bacteria se determinó por medio del diámetro de los halos de inhibición tomados con una regla milimétrica.

EFEECTO DEL EXTRACTO SOBRE ERITROCITOS

Platos de agarosa-eritrocitos- yema de huevo fueron preparados, para ello la agarosa al 0.8% en solución salina estéril (SS), fue calentada hasta su homogeneización, se adicionó 300 uL de eritrocitos (Banco de sangre de la escuela de microbiología-UdeA) previamente lavados con SS, se adicionaron 250 µL de CaCl₂, 300 µL de yema de huevo se homogenizó y fueron vertidos en una placa, posteriormente se dejó gelificar por 15 minutos. Se abrieron unos pozos empleando un sacabocado estéril y a cada pozo se agregó 16 µL de cada una de las diluciones empleadas en el proceso de difusión en agar. Finalmente fueron incubados en cámara húmeda a 37 °C por 20 horas. El efecto de las concentraciones del extracto de *Caesalpinia spinosa* sobre los glóbulos rojos se determinó por medio del diámetro de los halos de hemólisis medidos con una regla milimétrica.

CONTROL DE SESGOS

Para realizar este estudio experimental se tuvo en cuenta diferentes aspectos de control para evitar sesgos en el desarrollo:

- Control positivo el antibiótico penicilina- estreptomycin (SIGMA) para el ensayo de difusión en agar
- Control positivo Veneno de *Bothrops asper* para el ensayo sobre eritrocitos
- Control negativo la solución salina estéril
- Se aseguró el uso de los equipos bien calibrados.
- Cantidad, manipulación y requerimientos adecuados de *Proteus mirabilis*
- Cantidad y adecuada extracción de *Caesalpinia spinosa*.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS

Los resultados fueron sometidos a un análisis de mediana utilizando el estadístico no paramétrico Kruskal-Wallis, asumiendo el no cumplimiento de los supuestos de normalidad y homocedasticidad de los datos. Se tuvo en cuenta un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0,05$) mostrándose diferencias significativas estadísticamente. Los análisis se realizaron mediante el programa Jamovi versión 2.3 2022.

ASPECTOS ÉTICOS Y NORMATIVA

La actual investigación se acoge a lo establecido en los artículos: 63, 64, 65, 66, 67, 68, 71 de la resolución 8430 de 1993 donde se determina las condiciones en las que se deben realizar las investigaciones, grupo de riesgo al que pertenecen los microorganismos en estudio, requisitos que deben cumplir los laboratorios a utilizar y los deberes que debe cumplir el investigador con el fin de evitar riesgos para el medio ambiente, la comunidad y los trabajadores del laboratorio.

La disposición de residuos se realizó de acuerdo a la normativa de la Universidad de Antioquia.

RESULTADOS

- OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

A partir de 500 gr de las vainas se obtuvo un extracto alcohólico el cual después de rota evaporarse y liofilizarse produjo un residuo solido de 5 gr y de color ocre y fue usado en los ensayos.



Figura 1. Arbusto de *Caesalpinia spinosa* "Tara", ubicado en departamento de Boyacá.

- **DIFUSIÓN EN AGAR**

El extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* mostró halos de inhibición del crecimiento de *Proteus mirabilis* en concentraciones 4 mg/15 μ L, 6 mg/15 μ L, 8 mg/15 μ L y 10 mg/15 μ L (Figura 2 y tabla 1). Siendo significativa los halos de inhibición en las diferentes concentraciones con el control de crecimiento ($p < 0,05$) (Figura 3).

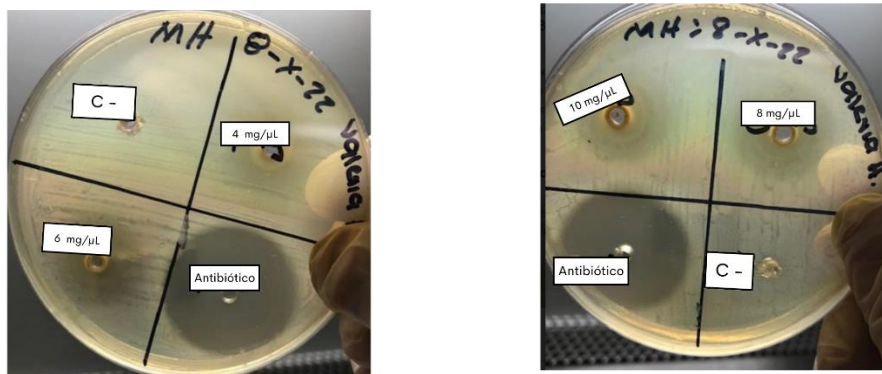


Figura 2. Halos de inhibición de *Caesalpinia spinosa* sobre *Proteus mirabilis* en

diferentes concentraciones (4, 6, 8, 10 mg/μL). En comparación a los controles sembrados con solución salina y el antibiótico.

Concentración del extracto (mg/μL)	Halo de inhibición (mm) #1	Halo de inhibición (mm) #2	Halo de inhibición (mm) #3
10 mg / 15μL	18	19	19
8 mg/ 15 μL	14	17	16
6 mg/ 15 μL	13	15	14
4 mg/ 15 μL	12	14	13
Antibiótico	26	26	26
Control (-)	0	0	0

Tabla 1. Actividad inhibitoria del extracto alcohólico *Caesalpinia spinosa* sobre *Proteus mirabilis*. Ensayo de difusión en agar usando diferentes concentraciones.

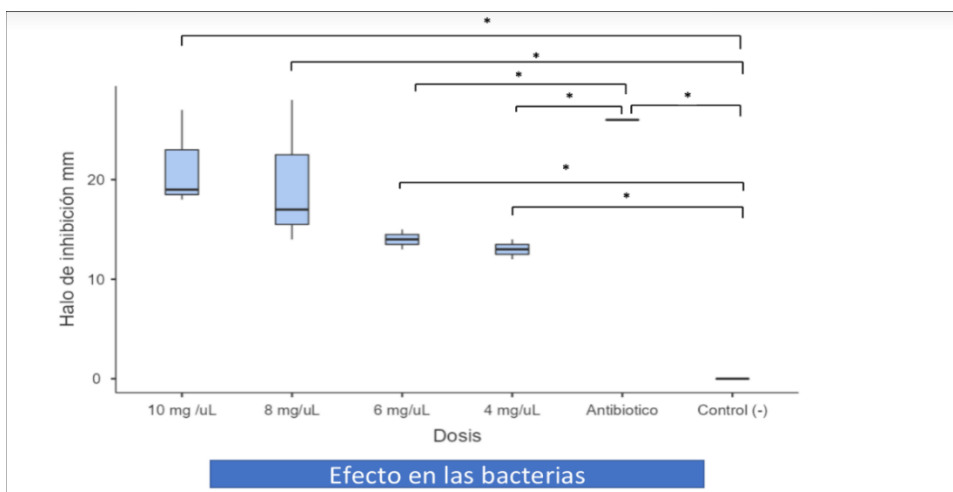


Figura 3. Diferencias de las concentraciones evaluadas frente al control de crecimiento de la bacteria.

- **HEMÓLISIS DE ERITROCITOS**

El extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* indujo hemólisis en todas las concentraciones evaluadas (Figura 4 y Tabla 2). Siendo mayor y significativo los halos de hemólisis en relación al control positivo (veneno) como el negativo (solución salina) ($p < 0,05$) (Figura 5) y este efecto fue dependiente de la concentración.

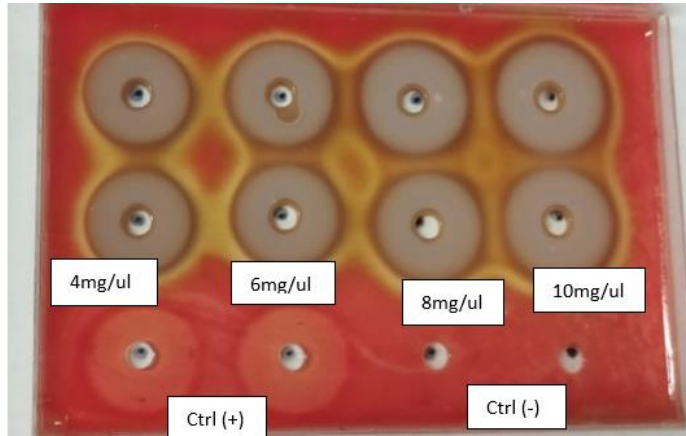


Figura 4. Actividad hemolítica del extracto alcohólico *Caesalpinia spinosa*. Actividad hemolítica halos de hemólisis de menor a mayor concentración del extracto. Ctrl (+): control positivo (veneno *B.asper*), Ctrl (-): control negativo (solución salina).

Concentración del extracto (mg/ μ L)	Halo de hemólisis (mm) #1	Halo de hemólisis (mm) #2	Halo de hemólisis (mm) #3	Halo de hemólisis (mm) #4
10 mg / μ L	24	24	24	24
8 mg/ μ L	20	20	21	21
6 mg/ μ L	18	18	20	20
4 mg/ μ L	16	16	18	18
Veneno <i>B. asper</i>	16	16	20	20

Control (-)	0	0	0	0
-------------	---	---	---	---

Tabla 2. Actividad hemolítica del extracto alcohólico *Caesalpinia spinosa* sobre *Proteus mirabilis*. Los ensayos fueron realizados empleando diferentes concentraciones.

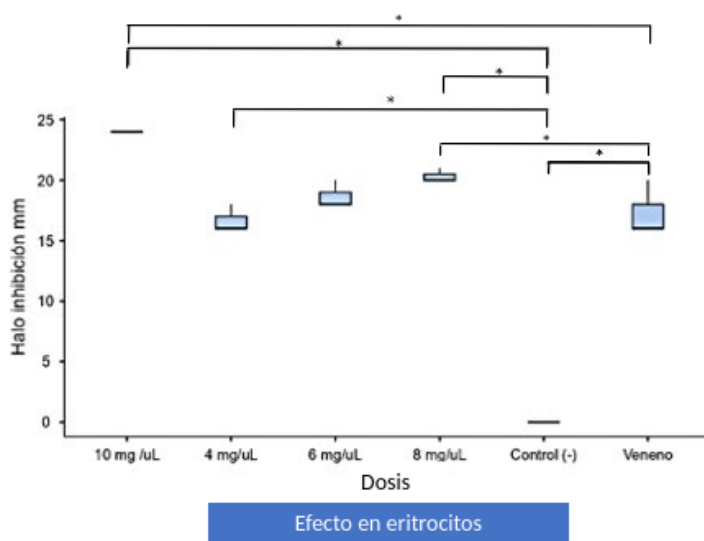


Figura 5: Diferencias significativas entre las concentraciones usadas en la hemólisis de eritrocitos.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación, se demostró la actividad antibacteriana de *Caesalpinia Spinosa* sobre *Proteus mirabilis*, observándose halos de inhibición del crecimiento cuyo diámetro fue dependiente de la concentración (tabla 1-figura 3), siendo la concentración de 10 mg/15 uL (19 mm) la que dio un mayor halo de inhibición y la de 4 mg/ 15 uL la de menor halo de inhibición (13 mm) a las 24 horas de incubación. Los diámetros de los halos fueron diferentes en relación con el

control de crecimiento ($P < 0,05$), por lo anterior se puede considerar que el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* tiene efecto inhibitorio sobre ese microorganismo.

Estos resultados concuerdan con investigaciones previas, Cholán et al. [15] evaluaron el efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* sobre *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*, encontraron que a medida que aumentaba la concentración del extracto (200 mg/ml, 400 mg/ml y 800 mg/ml), se observaba un mayor efecto inhibitorio sobre las bacterias, específicamente en la concentración de 800 mg/mL, se encontró similitud con nuestro trabajo en la concentración de 10mg/15ul la cual es equivalente a 667mg/mL, donde demostró mayor efecto inhibitorio sobre *Proteus mirabilis*, en este se observó un halo de inhibición mayor que en las demás mediciones. Sin embargo, en otros estudios y frente a otras bacterias se han obtenido concentraciones más bajas para la actividad inhibitoria; así Escobar B. [16] encontró que el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* con cepas de *Corynebacterium diphtheriae* a concentraciones de 6.25 mg/mL, 12.5 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL, 75 mg/mL, sus halos de inhibición dependían de la concentración evaluada.

Se ha propuesto que el efecto antimicrobiano que posee *Caesalpinia spinosa* se debe a los diferentes componentes que presenta, como los taninos hidrolizables los cuales son solubles en agua, etanol y acetona. Aguilar G et al. [12] demostró que los galotaninos de esta planta tenían actividad contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, y postulaban que su actividad se basa en que estos se combina con las proteínas de la membrana celular de las bacterias, inhibiendo la actividad enzimática por desnaturalización de las proteínas; o debido a que los galotatinos han demostrado actividad quelante de hierro, podría ser otro mecanismo para inhibir el crecimiento al reducir la disponibilidad de este ion metálico para las actividades enzimáticas requeridas por las bacterias, y el cual es esencial en diversos procesos de supervivencia de estos microorganismos [17].

Por otro lado, se ha mostrado el efecto antimicrobiano de otras especies vegetales sobre *Proteus mirabilis*, usando diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de hojas de *Piper angustifolium* (piperaceae), evidenciando en los resultados que, a medida que se aumentan las concentraciones del extracto, los halos de inhibición experimentaban un incremento proporcional en su diámetros, logrando halos de inhibición de hasta 18,7 mm con la concentración más alta (30 mg/ml), atribuyendo esta acción antimicrobiana, probablemente a la presencia de saponinas, taninos, alcaloides, flavonoides. [18]

Al determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* sobre los eritrocitos se observó actividad hemolítica en todas las concentraciones evaluadas. Se muestra una correlación directa, en la cual a medida que aumenta la concentración del extracto, se intensifica el efecto hemolítico. Se ha demostrado que los taninos pueden causar hemólisis [19], debido a la interacción con las membranas; por lo anterior es probable que el mecanismo de acción del extracto sobre las bacterias este asociado a causar ese rompimiento de la membrana plasmática, similar a como ocurre en las membranas de los eritrocitos. Sin embargo, también en un tamizaje fitoquímico de *Caesalpinia spinosa* donde se encontraron diferentes sustancias, se halló una alta concentración de saponinas. [20], a estos compuestos también se les ha asociado con un efecto hemolítico, debido a que forman complejos proteicos, esteroides y fosfolípidos, los cuales van a afectar la estabilidad de la membrana eritrocitaria y al mismo tiempo generando un desbalance de osmolaridad [21,22]. Debido a estos compuestos es probable que este extracto tenga efectos adversos si se fuese administrar de forma directa por vía parenteral; pero en investigaciones realizadas anteriormente donde se determinó que el extracto de *Caesalpinia spinosa*, no presentaba toxicidad dérmica y con ninguna de las composiciones se evidenció irritabilidad o corrosividad [23,24]. Por lo tanto, este extracto podría ser utilizado en ungüentos, cremas, lociones, entre otros productos que puedan ser aplicados tópicamente. Dado que *P. mirabilis* puede causar procesos infecciosos en piel, el extracto de *Caesalpinia spinosa* o sus

componentes podrían constituir una base para el desarrollo de tratamientos frente a este microorganismo.

En conclusión, en este trabajo se evidencio que el extracto de las vainas de *Caesalpinia spinosa* a inhibe el crecimiento de *Proteus mirabilis* y su mecanismo de acción podría estar relacionado a hidrolisis de la membrana, similar a al efecto que tiene este extracto sobre los eritrocitos.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

- Dentro de las limitaciones del estudio, está el uso del extracto completo por ello se deben realizar estudios posteriores donde se estudie cada componente y así identificar el responsable de la actividad, para obtener resultados más precisos
- Realización de pocas réplicas del ensayo.

CONCLUSIONES

El extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* presenta un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Proteus mirabilis*, este parece estar relacionado con una actividad en membrana plasmática similar al mostrado sobre las membranas de los eritrocitos.

Este estudio es una base para futuras investigaciones sobre el uso de este extracto y sus componentes para el desarrollo de alternativas terapéuticas sobre bacterias resistentes a los antibióticos y así disminuir el impacto de la resistencia bacteriana.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos A Vitelbina Núñez Rangel, Bacterióloga y laboratorista clínico, MSc, PhD. Por su labor como asesora en el proceso de la elaboración de esta investigación, en el trabajo escrito y experimental.

Al grupo de Toxicología y alternativas terapéuticas de la Universidad de Antioquia, por la disponibilidad de instalaciones, equipos y usos de material para el desarrollo del proyecto.

A Yeisson Aníbal Galvis Pérez, Microbiólogo y Bioanalista MSc. por su colaboración en el procesamiento estadístico de los datos.

Herbario de la Universidad de Antioquia por su aporte en la certificación de la planta

CONFLICTO DE INTERES

Los autores no manifiestan tener conflictos de interés.

REFERENCIAS:

1. Carreras X, Salcedo AS, Millones B, Paredes VS, Carpio-Vargas P, Maguiña JL, et al. Patrones de resistencia antimicrobiana de la familia enterobacteriaceae aisladas de infecciones del tracto urinario de una región alto-andina peruana. *Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo*. 2021;14(3):337-43.
2. Oteo-Iglesias J. Vigilancia activa de la resistencia a antibióticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2019; 37:26-31.
3. Lepe JA, Martínez-Martínez L. Mecanismos de resistencia en bacterias gramnegativas. *Med Intensiva*. 2022;46(7):392–402.
4. Girlich, Delphine, et al. Genetics of acquired antibiotic resistance genes in *Proteus spp*. *Frontiers in microbiology* . February 2020;11: 256.
5. Wasfi R, Hamed SM, Amer MA, Fahmy LI. *Proteus mirabilis* Biofilm: Development and Therapeutic Strategies. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10: 414

6. Drzewiecka D. Significance and roles of *Proteus* spp. bacteria in natural environments. *Microb Ecol.* 2016;72(4):741–58.
7. Wei T, Miyanaga K, Tanji Y. Persistence of antibiotic-resistant and -sensitive *Proteus mirabilis* strains in the digestive tract of the housefly (*Musca domestica*) and green bottle flies (*Calliphoridae*). *Appl Microbiol Biotechnol.* 2014;98(19):8357–8366.
8. Fernández-Delgado M, Duque Z, Rojas H, Suárez P, Contreras M, García-Amado MA. Environmental scanning electron microscopy analysis of *Proteus mirabilis* biofilms grown on chitin and stainless steel. *Ann Microbiol.* 2015; 65:1401–1409.
9. Duque M, Uribe N, Buitrago J. Patrones de resistencia en agentes bacterianos involucrados en otitis caninas en Medellín, Colombia, durante 2019: análisis retrospectivo. *Rev Fac Med Vet Zootec* 2021;68(3): 2012-2022
10. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. Ginebra, Suiza. 2002
11. Chassagne F, Samarakoon T, Porras G, Lyles JT, Dettweiler M, Marquez L, et al. A Systematic Review of Plants With Antibacterial Activities: A Taxonomic and Phylogenetic Perspective. *Front Pharmacol.* 2021; 11:586548.
12. Aguilar-Galvez, A., Noratto, G., Chambi, F., Debaste, F., & Campos, D. Potential of tara (*Caesalpinia spinosa*) gallotannins and hydrolysates as natural antibacterial compounds. *Food Chemistry.* 2014; 156: 301-304.
13. Lapa PD la C. Aprovechamiento integral y racional de la tara *Caesalpinia spinosa* - *Caesalpinia tinctoria*. *Revista del Instituto de investigación de la Facultad de minas, metalurgia y ciencias geográficas.* 2004;7(14):64-73
14. Chapoñan Vidaurre M, Limo JA. Efecto inhibitorio in vitro de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* L. “romero” y *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze “tara” frente a cepas de *Escherichia coli* BLEE, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* [Tesis de pregrado]. Perú: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2022. Recuperado a partir de:

- https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/10129/Chap_o%c3%b1an_Vidaurre_y_Limo_Arrasco.pdf?sequence=1&isAllowed=y
15. Cholán Pacheco K, Zavaleta Espejo G, Saldaña Jiménez J, Blas Cerdán W. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Fabaceae) sobre el crecimiento de *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*. *Arnaldoa*. 2019;26(2):699-712.
 16. Escobar BL. Efecto in vitro de diferentes concentraciones de extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae*. *Rev Med Vallejana*. 2008;5(1):28–37
 17. Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 1991;30(12):3875–3883.
 18. Zavaleta-Espejo G, Zavaleta-Castro C, Saldaña-Jiménez J, Aguilar-Sánchez A. Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Piper angustifolium* (Piperaceae) sobre *Proteus mirabilis*. *Revista de Investigaciones de la Universidad Le Cordon Bleu*. 2019;6(1):77-84
 19. Ortega YH, Diogo NM, Mosquera DMG. Estudio de la actividad hemolítica de los posibles taninos extraídos a partir de la *Boldoa purpurascens* Cav. *REDVET Revista Electrónica de Veterinaria*. 2006;VII(10):1-5.
 20. Acho MH, Perfecto DR. Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre flora salival mixta. *Odontología Sanmarquina*. 2012;15(1):27-30
 21. Freitas MV, Netto R de CM, da Costa Huss JC, de Souza TMT, Costa JO, Firmino CB, et al. Influence of aqueous crude extracts of medicinal plants on the osmotic stability of human erythrocytes. *Toxicol In Vitro*. 2008;22(1):219–24.
 22. Bruneton, J. Saponósidos. En: Bruneton, J.. *Farmacognosia, Fotoquímica, Plantas Medicinales*. 2a Edición. España: ACRIBIA; 2001. p. 664–709.
 23. Robledo Restrepo SM, Quintero J, Higueta J, Fernández M, Murillo J, Restrepo A et al. *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze: una nueva promesa para el tratamiento tópico de la leishmaniasis cutánea. *Rev Acad Colomb Cienc Exactas Fis Nat*. 2020; 44: 915–936.

24. Salirrosas D, Reategui-Pinedo N, Crespo JP, Sánchez-Tuesta L, Arqueros M, Cabrera A, et al. Safety Profile of *Caesalpinia spinosa* Aqueous Extract Tested in *Oreochromis niloticus* Toward Its Application in Dermocosmetics. *Front Sustain.* 2021; 2: 696289

ANEXOS

1. Certificado de determinación de *Caesalpinia spinosa*.



21420005-45

Registro Nacional de Colecciones Biológicas # 027

CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN DE MATERIAL BOTÁNICO

Fecha de expedición: 1 de junio de 2023

Nombre del proyecto: Actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze sobre *proteus mirabilis*.

Investigadoras: Tatiana Camargo, Stefani Constain, Valeria Herrera, Isabel Rivas.

Colector: Tatiana Camargo

Lugar de Colecta: Duitama, Boyacá

Asesora: Vitelvina Nuñez

Permiso de estudio: No aplica, planta cultivada.

El Herbario Universidad de Antioquia (HUA) certifica que en su colección de plantas se encuentra depositado 1 (un) exsicado correspondiente al taxón *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze = *Tara spinosa* (Molina) Britton & Rose (dividive) de la familia Fabaceae, el cual fue determinado por el Biólogo Heriberto David Higueta y radicado bajo el número HUA 231235.

Atentamente,

FELIPE ALFONSO CARDONA N.
Jefe de sección Herbario