

## Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Prosopis pallida* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

### *In vitro* antibacterial activity of an ethanolic extract of *Prosopis pallida* against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Stephany L. Alvarado Saavedra,<sup>I</sup> Paul Herrera-Plasencia,<sup>I</sup> Erika Enoki-Miñano,<sup>I</sup> Miguel Ruiz-Barrueto,<sup>I</sup> Pablo Alejandro Millones Gómez<sup>II</sup>

<sup>I</sup> Universidad César Vallejo. Piura, Perú.

<sup>II</sup> Universidad Alas Peruanas. Perú.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** *Prosopis pallida* es un árbol que crece principalmente en el norte de Perú y sur de Ecuador. A los componentes de sus hojas (flavonoides y taninos) se les atribuyen posibles efectos antimicrobianos. *Enterococcus faecalis* es una bacteria cocoide, grampositiva, anaerobia facultativa, que constituye motivo de investigación porque es causa frecuente de infección de los conductos radiculares en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico.

**Objetivo:** evaluar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de las hojas de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

**Métodos:** el extracto total de *Prosopis pallida* se obtuvo mediante el método de extracción por solución. El solvente fue etanol al 80 %. El efecto antibacteriano *in vitro* del extracto se evaluó mediante los métodos de difusión en disco y microdilución. Las concentraciones del extracto fueron de 10 hasta 90 mg/mL, un control positivo gluconato de clorhexidina al 2 % y un control negativo solución salina fisiológica estéril.

**Resultados:** la mayor inhibición se obtuvo a las concentraciones de 80 y 90 mg/mL, con halos de inhibición de 16 mm de diámetro. El control positivo obtuvo un halo de inhibición de 16,9 mm. El control negativo no generó inhibición. La concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida mediante el método de microdilución fueron < 10 mg/mL.

**Conclusiones:** el extracto etanólico de *Prosopis pallida* tiene efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, pero no es significativo con respecto al control positivo ( $p > 0,05$ ).

**Palabras clave:** antibacteriano; plant extract; Prosopis; *Enterococcus faecalis*.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** *Prosopis pallida* is a tree that grows mainly in northern Peru and southern Ecuador. The components of its leaves (flavonoids and tannins) are attributed potential antimicrobial effects. *Enterococcus faecalis* is a gram-positive facultative anaerobic coccus bacterium of interest to researchers because it is a frequent cause of root canal infection in teeth with failed endodontic treatment.

**Objective:** evaluate the antibacterial activity of an alcoholic extract of *Prosopis pallida* (algarrobo) leaves against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

**Methods:** total extract of *P. pallida* was obtained by the method of solvent extraction. The solvent used was 80 % ethanol. *In vitro* antibacterial activity of the extract was evaluated by the methods of disc diffusion and microdilution. Concentration of the extract ranged from 10 to 90 mg/mL. The positive control was 2 % chlorhexidine gluconate, whereas the negative control was sterile physiological saline.

**Results:** the highest inhibition was obtained at concentrations of 80 and 90 mg/mL, with inhibition haloes of 16 mm in diameter. The positive control achieved an inhibition halo of 16.9 mm. The negative control did not produce any inhibition. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration by the microdilution method were  $< 10$  mg/mL.

**Conclusions:** the ethanolic extract of *Prosopis pallida* has antibacterial activity *in vitro* against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, but its action is not significant with respect to the positive control ( $p > 0.05$ ).

**Keywords:** antibacterial; plant extract; Prosopis; *Enterococcus faecalis*.

---

## INTRODUCCIÓN

La cavidad bucal está conformada por distintas superficies. Cada una de estas superficies se constituye en hábitats específicos para distintos microorganismos.<sup>1</sup> Gracias a la genómica se han logrado aislar hasta 200 especies bacterianas diferentes en una misma cavidad bucal.<sup>2</sup> Algunas de estas bacterias están asociadas con el desarrollo de enfermedades bucales como la caries, la periodontitis y en el caso de *Enterococcus faecalis* al fracaso del tratamiento endodóntico.<sup>3</sup>

Una de las principales causas de fracaso endodóntico es la infección bacteriana persistente.<sup>3</sup> El papel de las bacterias en la infección perirradicular ha quedado bien establecido en la literatura, y el tratamiento endodóntico se verá afectado por una mayor probabilidad de fracaso si los microorganismos persisten en los canales en el momento de la obturación del conducto radicular.<sup>4,5</sup> Las condiciones ambientales

---

como un pH bajo en el conducto radicular podrían ser los responsables de la persistencia de las bacterias grampositivas.<sup>6,7</sup>

*Enterococcus faecalis* es un coco grampositivo, anaerobio facultativo que forma parte de la microbiota del ser humano; su habidad natural es el tracto gastrointestinal y a veces aislado de la cavidad bucal.<sup>8</sup> Este microorganismo es muy prevalente en pacientes con tratamiento o retratamiento endodóntico, el cual se relaciona con las infecciones persistentes y es capaz de sobrevivir a los protocolos de terapia pulpar.<sup>4,9,10</sup> La prevalencia de *Enterococcus faecalis* en infecciones endodónticas persistentes asintomáticas oscila entre el 24 % y el 77 %.<sup>11,12</sup>

La eliminación de las bacterias persistentes en el conducto radicular garantiza el éxito del tratamiento endodóntico.<sup>13,14</sup> La práctica clínica y estudios realizados *in vitro* han demostrado que la instrumentación mecánica no asegura la completa eliminación de los microorganismos alojados en los conductos radiculares, es por ello que durante años se han empleado irrigantes químicos aplicados antes, durante y después de la preparación, con la finalidad de desinfectar y mantener estéril el sistema de conductos radiculares.<sup>15-17</sup>

Las plantas medicinales son consideradas como una alternativa de solución para controlar las enfermedades que afectan a la población debido a sus propiedades antibacterianas, antihemorrágicas, analgésicas, antitumorales, antiinflamatorias, entre otras.<sup>18</sup> Hoy en día la medicina alternativa ha tomado mayor énfasis siendo usada por la población para controlar el dolor y combatir infecciones que afectan la salud del ser humano, por ello se ha incrementado el desarrollo de investigaciones con la finalidad de buscar alternativas terapéuticas.<sup>19,20</sup> La Organización Mundial de la Salud aprueba el uso de plantas medicinales o medicina alternativa pues estudios han demostrado su eficacia y porcentajes mínimos de riesgo.<sup>21</sup>

El género *Prosopis* es originario en mayor parte de América y en menor proporción de África y el sudeste de Asia. La especie *Prosopis pallida* es la más dominante en la costa del Perú y aparece descrita en 13 departamentos, desde Tumbes a Tacna.<sup>22</sup> Posee compuestos biológicamente activos como taninos, flavonoides, fenoles y terpenos.<sup>23</sup> Cárdenas determinó su efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.<sup>24</sup> Por su parte, Sandoval y Zúñiga demostraron el efecto de los alcaloides totales extraídos de las hojas de *Prosopis pallida* sobre *Escherichia coli* y también *Staphylococcus aureus*.<sup>25</sup> Estos resultados y otros en que se evaluó el efecto antibacteriano sobre cepas de *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp.,<sup>26,27</sup> motivaron el desarrollo de esta investigación cuyo objetivo fue evaluar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de las hojas de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

## MÉTODOS

### RECOLECCIÓN DE LAS HOJAS, OBTENCIÓN Y DILUCIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *PROSOPIS PALLIDA*<sup>28-30</sup>

La investigación fue de tipo básica, de corte transversal, con diseño experimental de estímulo creciente. Se evaluaron 12 tratamientos correspondientes a las 10 concentraciones del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* y dos controles. Las unidades de ensayo fueron 120 (placas de Petri) y 4 repeticiones. Se llevó a cabo durante los meses de enero a julio del año 2017. Se recolectaron y seleccionaron hojas de *Prosopis pallida* en la zona de Carrizalillo a 11 km. de Cruceta en la

provincia de Tambo Grande, departamento de Piura y luego trasladadas al Laboratorio de Biología de la Universidad César Vallejo filial Piura, Perú. Una parte de las hojas y flores fue llevada a la Universidad Nacional de Piura para su identificación, caracterización y certificación en el Herbarium Piurense.

Para la obtención del extracto se seleccionaron de forma unitaria las hojas para descartar aquellas con signos de infección o deterioro. Posteriormente fueron lavadas con agua destilada y desinfectadas con una torunda de algodón embebida con alcohol de 96°. Se colocaron sobre papel Kraft y se dejaron a temperatura ambiente (25 °C) durante 24 h, después de las cuales se llevaron a estufa a 50 °C durante 4 h para su secado final.

La molienda del material vegetal seco se realizó utilizando un mortero y posteriormente un molino casero con el que se obtuvo la pulverización total. A partir del polvo obtenido se pesaron 100 g y se colocó en un frasco de vidrio color ámbar de capacidad de 1 000 mL, luego se le agregó el solvente que consistió en etanol al 80 %. El extracto total se obtuvo por maceración con agitación constante durante 14 días, después de los cuales el producto fue filtrado 5 veces con papel de filtro Whatman No. 1 y No. 2. El filtrado final se llevó a sequedad forzada en rotavapor, obteniéndose el extracto seco de las hojas de *Prosopis pallida*.

A partir del extracto seco se realizaron diluciones en etanol al 80 % obteniéndose concentraciones de 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/mL, 60 mg/mL, 70 mg/mL, 80 mg/mL y 90 mg/mL. Cada concentración fue colocada en un vial estéril de color ámbar, tapado herméticamente y refrigerado hasta su utilización.

#### OBTENCIÓN Y REACTIVACIÓN DE LA CEPA DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 29212<sup>31-35</sup>

La cepa bacteriana utilizada fue *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, proporcionada por el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Señor de Sipán, situada en el Km 5 carretera a Pimentel. Distrito de Pimentel, provincia de Chiclayo. Departamento de Lambayeque, Perú. La cepa se proporcionó refrigerada por lo que fue necesario reactivarla en agar Mueller Hinton (MERCK). Su cultivo se realizó en condiciones de microaerobiosis en recipientes de incubación GasPak a 36 °C. Se usa el término "microaerobiosis" pues el sistema GasPak no produce una anaerobiosis estricta.

#### PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y DISCOS DE DIFUSIÓN PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *PROSOPIS PALLIDA*<sup>36-38</sup>

El medio de cultivo utilizado para la evaluación del efecto antibacteriano de las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* fue el agar Mueller Hinton (Merck), el cual fue preparado siguiendo las especificaciones del fabricante y servido en placas de vidrio de 100 mm. Se secaron en estufa a 36,5 °C durante 30 min. El medio de cultivo fue preparado el mismo día de su utilización. En paralelo se prepararon discos de difusión de papel filtro Whatman de 6 mm de diámetro. Estos fueron esterilizados en un sobre de papel kraft y mantenido bajo esas condiciones hasta que fueron impregnados con las concentraciones de 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/mL, 60 mg/mL, 70 mg/mL, 80 mg/mL y 90 mg/mL del extracto alcohólico de *Prosopis pallida*. También se impregnaron los discos con gluconato de clorhexidina al 2 % (sustancia utilizada

como control positivo) y con SSFE (control negativo). Los discos embebidos se secaron en una cabina de bioseguridad Nivel II a temperatura ambiente e inmediatamente se utilizaron en los ensayos.

#### PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIBACTERIANA MEDIANTE EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO<sup>36-38</sup>

A partir del cultivo puro de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 reactivado, se realizó una suspensión bacteriana equivalente al patrón 0,5 de la escala de McFarland, el que constituyó el inóculo para la siembra. Con ayuda de un hisopo estéril embebido en la suspensión del tubo preparado, se sembró sobre la superficie del agar Mueller Hinton hasta obtener una distribución uniforme del inóculo en toda la superficie de las placas. Después de que todas las placas fueron sembradas se procedió a colocar los discos impregnados con las 10 concentraciones del extracto de *Prosopis pallida*, gluconato de clorhexidina al 2 % y con solución salina fisiológica (dichos discos habían sido embebidos y secados antes de la inoculación bacteriana) comenzando por las placas que habían sido sembradas primero. Una vez listas las placas de Petri se dejaron reposar durante 30 min a temperatura ambiente, y después fueron llevadas a incubación a 36 °C por 24 h en condiciones de microaerobiosis.

#### DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA Y CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA MEDIANTE MICRODILUCIÓN EN CALDO<sup>39-42</sup>

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se define como la mínima cantidad del antimicrobiano que impide el crecimiento de un microorganismo en condiciones normalizadas; mientras que la concentración mínima bactericida (CMB) es la mínima cantidad del antimicrobiano que destruye (mata) el 99,9 % de los microorganismos en condiciones estandarizadas. En una microplaca de 96 pocillos con fondo en forma de U se colocaron por septuplicado, en los 12 pocillos numerados, 100 µL/pocillo de la suspensión de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 equivalente al estándar 0,5 de McFarland preparada en caldo Mueller Hinton. Inmediatamente después se le agregó al pocillo 1 (y a sus réplicas) 100 µL de la concentración de 10 mg/mL del extracto alcohólico de *Prosopis pallida*. Se hizo de forma seriada hasta la concentración de 100 mg/mL (pocillo 10). Al pocillo 11 se le agregó 100 µL de gluconato de clorhexidina al 2 % (control positivo) y al pocillo 12 se le incorporó 100 µL de caldo Mueller Hinton para control del crecimiento bacteriano. Una vez preparada la microplaca fue sellada con cinta Parafilm e incubada durante 24 h a 36 °C en condiciones de microaerobiosis alcanzada con el sistema Anaerocult® A mini (Merck), con la finalidad de recrear las condiciones de crecimiento de *Enterococcus faecalis* en el conducto radicular.

#### LECTURA DE RESULTADOS<sup>36-42</sup>

Se evaluaron 12 tratamientos correspondientes a las 10 concentraciones del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* y los controles gluconato de clorhexidina y SSFE. Las unidades de ensayo fueron 120 placas de Petri, 10 placas por cada tratamiento (decuplicado). Se realizaron cuatro repeticiones de la investigación (en febrero, marzo abril y mayo respectivamente). Para el método de difusión en disco se examinaron todas las placas de Petri evaluadas. Los halos de inhibición formados fueron medidos con un vernier digital Futec DC-1 e informados en milímetros en la ficha de recolección de datos. Para el método de microdilución, se examinó la microplaca inoculada después de su incubación. Se observó cada pocillo con ayuda de un lente de aumento para la búsqueda de sedimento (botón de crecimiento

bacteriano). El pocillo donde no se observó formación de sedimento fue reportado como la CMI. A partir de ese pocillo y con ayuda de un asa bacteriológica en punta se procedió a realizar la siembra de cada pocillo subsiguiente en placas de Petri con agar Mueller Hinton e incubadas a 36 °C en condiciones de microaerobiosis a partir de las cuales se determinó la CMB.

#### PROCESAMIENTO ESTADÍSTICO

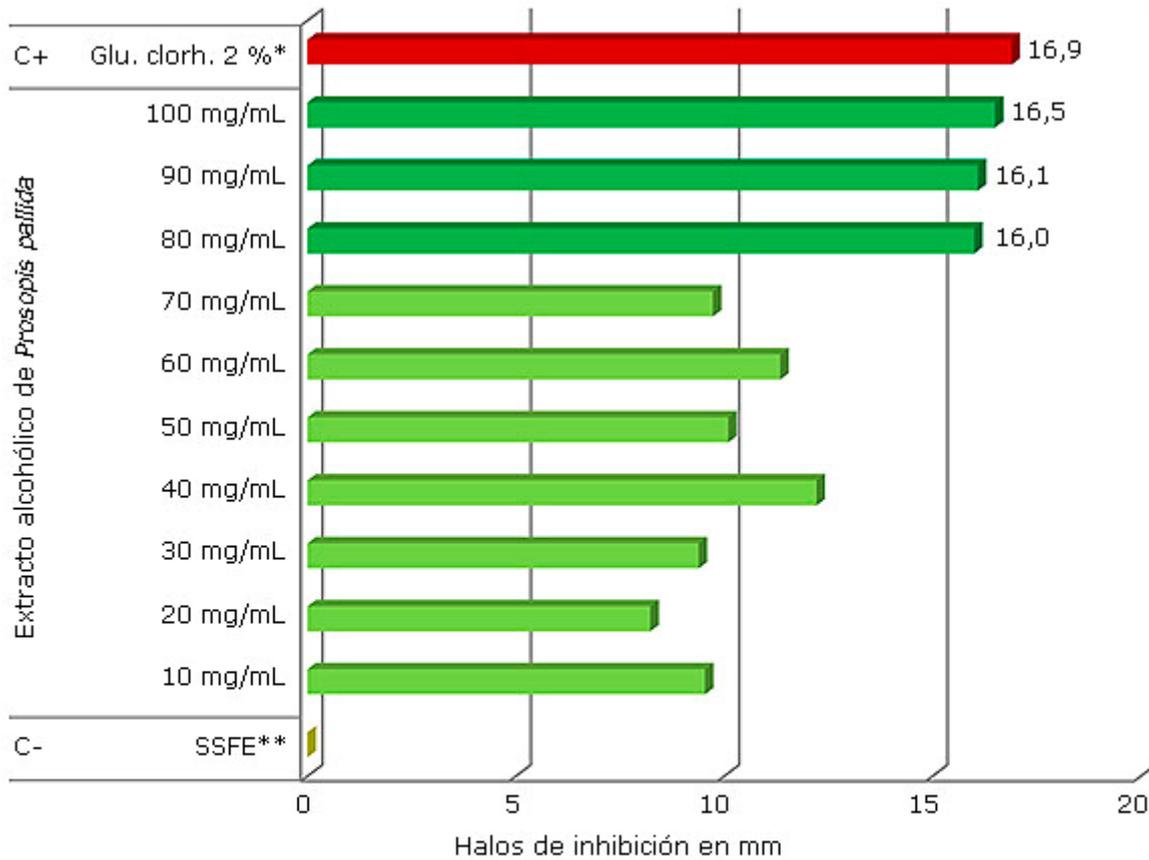
Los datos se recopilaron en una ficha de recolección y luego almacenados en Microsoft Office Excel. Se procesaron en el paquete estadístico spss v. 22. Se aplicó la prueba no paramétrica de Joncheere Tepstra, para establecer valores significativos y las pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnova Shapiro-Wilk.

#### RESULTADOS

En la figura de barras se observa el diámetro promedio de halos de inhibición en milímetros alcanzado por las 10 concentraciones del extracto alcohólico de las hojas de *Prosopis pallida*, de solución salina fisiológica estéril (SSFE) y de gluconato de clorhexidina al 2 % sobre una cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 investigado en condiciones de laboratorio.

Se observa que de las 10 concentraciones del extracto evaluadas las de 80 mg/mL, 90 mg/mL y 100 mg/mL, con halos promedios de 16 mm, 16,1 mm y 16,5 mm respectivamente tuvieron la mayor inhibición. El gluconato de clorhexidina alcanzó un halo de inhibición promedio de 16,9 mm. La SSFE no formó halo de inhibición.

La CMI y CMB se determinaron mediante el método de microdilución en caldo. La CMI del extracto alcohólico de las hojas de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fue < 10 mg/mL. La CMB fue igual a la CMI.



\*Control positivo: gluconato de clorhexidina.

\*\* Control negativo: solución salina fisiológica estéril.

**Fig.** Diámetro de halos de inhibición promedio de 10 concentraciones del extracto alcohólico de las hojas de *Prosopis pallida*, de solución salina fisiológica estéril y de gluconato de clorhexidina al 2 % sobre una cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en condiciones de laboratorio.

## DISCUSIÓN

La resistencia bacteriana a los antibióticos en el mundo continúa aumentando. Una de las alternativas de solución es la búsqueda de compuestos bioactivos en las plantas que tengan actividad antibacteriana sobre los patógenos de importancia para la salud de la humanidad. Las plantas pueden constituirse en fuente primaria de agentes antibacterianos principalmente por los compuestos fenólicos que se producen como metabolitos secundarios.<sup>19-21</sup>

Las hojas de las diferentes especies de *Prosopis* presentan compuestos bioactivos como alcaloides, taninos, fenoles, flavonoides, terpenos y esteroides. Un estudio con extracto etanólico de hojas de *Prosopis juliflora* mostró capacidad antibacteriana contra bacterias gramnegativas resistentes a antibióticos como la minociclina, cloranfenicol y eritromicina. Este efecto se pudo deber a los alcaloides y principalmente a las saponinas y taninos presentes en el extracto.<sup>23-25</sup>

Otras investigaciones utilizaron extractos acuosos de hojas de *Prosopis* para superar infecciones bucales y periodontales. También se ha demostrado su efecto bactericida sobre bacterias persistentes en el espacio periodontal y la cavidad

bucal, con resultados semejantes a los obtenidos con colutorios comerciales que contenían gluconato de clorhexidina, sorbitol, alcohol, n-propanol, eucaliptol, salicilato de metilo, timol y benzoato de sodio.<sup>24</sup>

Se ha logrado caracterizar fitoquímicamente un compuesto denominado juliflorine a partir del género *Prosopis* y se ha establecido que tiene actividad antibacteriana frente a bacterias patógenas humanas como *Corynebacterium difteria*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y *Enterococcus faecalis*. Su efecto es más potente incluso que el de los antibióticos estreptomycin y penicilina. En otra investigación se demostró que los extractos etanólicos y metanólicos de hojas de *Prosopis juliflora* tienen actividad antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.<sup>23</sup>

Flores<sup>43</sup> encontró que el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Taya) presenta efecto inhibitorio sobre la bacteria *Enterococcus faecalis*. Si bien es cierto él trabajó concentraciones porcentuales de 10 a 60 %; en todas se observó inhibición del crecimiento de *Enterococcus faecalis* al igual que en la presente investigación en la cual se estableció que la CMI y CMB eran menor a 10 mg/mL. Los halos obtenidos fueron aproximados (entre 10 y 14 mm), lo que le da mayor similitud. Por su parte, *Thakur* y otros,<sup>44</sup> encontraron actividad antibacteriana variable de los extractos etanólicos y metanólico de *Prosopis juliflora*, a una concentración de 100 mg/mL. Estableciendo que el efecto puede variar según el tipo de solvente utilizado en la extracción y el método de extracción (en frío o caliente). Estas consideraciones les permitieron obtener halos de inhibición de 6 mm (extracción etanólica en caliente) y 16 mm (extracción etanólica en frío). Los resultados obtenidos en el presente estudio se encuentran dentro del rango obtenido por *Thakur* y más cercanos a los alcanzados con extracción etanólica en frío considerando que fue el método utilizado para la obtención del extracto en esta investigación.<sup>23,26</sup>

El efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* podría tener respuesta en la abundante cantidad de compuesto fenólicos, taninos y flavonoides, presente en las hojas de esta planta. Se ha establecido que las propiedades antibacterianas y antifúngicas de estos compuestos radican en la capacidad de provocar lesiones en la membrana citoplasmática de los microorganismos. La función de los flavonoides es actuar como metabolitos en el crecimiento y reproducción de las plantas, y actuar como agente protector en un mecanismo de defensa; asimismo los taninos ejercen una acción defensiva limitando el desarrollo de los microorganismos del medio en las superficies de la planta. Los mecanismos que pueden ser responsables de la toxicidad fenólica a los microorganismos incluyen la inhibición de la enzima beta-glucano sintasa por los compuestos oxidados, probablemente por la reacción de los grupos sulfhidrilo o por las interacciones no específicas con proteínas.<sup>23-27</sup>

Durante los últimos años, ha aumentado el número de investigaciones de plantas en la búsqueda de efectos terapéuticos alternativos a la medicina tradicional. Existen aún gran número de plantas que no han sido estudiadas completamente, pero vienen mostrando múltiples propiedades conforme van siendo investigadas. El presente estudio reporta el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* sobre *Enterococcus faecalis*, lo que ofrece opciones de investigaciones futuras en caracterización fitoquímica, determinación de principios activos, pruebas de citotoxicidad así como su evaluación clínica; es de esperarse en un futuro cercano que estos resultados la validen como una nueva opción terapéutica importante.

## CONCLUSIONES

El extracto alcohólico de *Prosopis pallida* tiene efecto antibacteriano *in vitro* de tipo bactericida sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. De manera que se establece para el presente estudio la CMI es igual a la CMB y es < 10 mg/mL.

## CONFLICTO DE INTERESES

No se declara conflicto de intereses

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Serrano-Coll HA, Sánchez-Jiménez M, Cardona-Castro N. Conocimiento de la microbiota de la cavidad oral a través de la metagenómica. Rev CES Odont. 2015;28(2):112-8.
2. Cruz S, Díaz P, Arias D, Mazón G. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. Rev Cubana Estomatol. 2017;54(1):84-99.
3. Pupo-Marrugo S, Díaz-Caballero A, Castellanos-Berrio P, Simancas-Escorcia V. Eliminación de *Enterococcus faecalis* por medio del uso de hipoclorito de sodio, clorhexidina y MTAD en conductos radiculares. Av Odontoestomatol. 2014;30(5):263-70.
4. Tabassum S, Khan FR. Failure of endodontic treatment: The usual suspects. European Journal of Dentistry. 2016;10(1):144-7. doi: 10.4103/1305-7456.175682.
5. Oliveira-Ruiz G, Machicao-Chacon N, Hernández-Añaños J. Frecuencia y tiempo promedio para la rehabilitación postendodóntica en una Clínica Dental Docente Peruana. Rev Estomatol Herediana. 2016;26(1):20-7.
6. Ferreira N, Martinho F, Cardoso F, Nascimento G, Carvalho C, Valera M. Microbiological Profile Resistant to Different Intracanal Medications in Primary Endodontic Infections. Journal of Endodontics. 2015;41(6):824-30.
7. Nóbrega L, Montagner F, Ribeiro A, Mayer M, Gomes B. Molecular Identification of Cultivable Bacteria From Infected Root Canals Associated With Acute Apical Abscess. Brazilian Dental Journal. 2016;27(3):318-24.
8. Dahlén G, Blomqvist S, Almstahl A, Carlén A. Virulence factors and antibiotic susceptibility in enterococci isolated from oral mucosal and deep infections. Journal of Oral Microbiology. 2012;4:10. DOI:10.3402/jom.v4i0.10855.
9. Jara-Chalco LB, Zubiarte-Meza JA. Retratamiento endodóntico no quirúrgico. Rev Estomatol Herediana. 2011;21(4):231-6.
10. Narayanan LL, Vaishnavi C. Endodontic microbiology. Journal of Conservative Dentistry : JCD. 2010;13(4):233-9. doi:10.4103/0972-0707.73386.

11. Stuart C, Schwartz S, Beeson T, Owatz C. *Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. J Endod. 2006;32(2):93-8. DOI: 10.1016/j.joen.2005.10.049.
12. Bhonchal-Bhardwaj S. Role of *Enterococci faecalis* in failure of Endodontic treatment. Int J Curr Microbiol App Sci. 2013;2(8):272-7.
13. Vallejo-Labrada M, Maya-Cerón C. Influencia de la calidad de restauración coronal en el pronóstico de dientes tratados endodónticamente. Rev Cubana Estomatol. 2015;52(1):47-62.
14. Jhajharia K, Parolia A, Shetty KV, Mehta LK. Biofilm in endodontics: A review. Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry. 2015;5(1):1-12. DOI: 10.4103/2231-0762.151956.
15. Koch M. On implementation of an endodontic program. Swed Dent J Suppl. 2013;(230):9-97.
16. Subramaniam P, Tabrez TA, Babu KL. Microbiological assessment of root canals following use of rotary and manual instruments in primary molars. Clin Pediatr Dent. 2013;38(2):123-7.
17. Plotino G, Cortese T, Grande N, Leonardi D, Di Giorgio G, Testarelli L, et al. New Technologies to Improve Root Canal Disinfection. Braz Dent J. 2016; 27(1):3-8.
18. Sofowora A, Ogunbodede E, Onayade A. The role and place of medicinal plants in the strategies for disease Prevention. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2013;10(5):210-29.
19. Pandey AK, Kumar S. Perspective on plant products as antimicrobial agents: A review. Pharmacologia. 2013;4(7):469-80.
20. Gallegos-Zurita M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An Fac Med. 2016;77(4):327-32.
21. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. [citado 4 Feb 2018]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>
22. Dostert N, Roque J, Cano A, La Torre M, Weigend M. Hoja Botánica: Algarrobo. Proyecto Perúbiodiverso. botconsult GmbH. Museo de Historia Natural. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2012 [citado 4 Feb 2018]. Disponible en: <http://bibliotecavirtual.minam.gob.pe/biam/bitstream/handle/minam/1425/BIV01201.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
23. Santhaseelan H, Prabha S, Arthur R, Yi-Hong T, Rahul N, Yang-Chang W, et al. Biopharmaceutical potentials of *Prosopis* spp. (Mimosaceae, Leguminosa). Journal of Food and Drug Analysis. 2017;25(1):187-96.
24. Cárdenas C. Actividad antimicrobiana y antioxidante del extracto etanólico de *Prosopis pallida* "algarrobo". [Tesis para Título] Lima: Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017 [citado 4 Feb 2018]. Disponible en:

[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/5857/Cardenas\\_cc.pdf?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/5857/Cardenas_cc.pdf?sequence=1)

25. Sandoval E, Zuñiga E. Efecto antibacteriano *in vitro* de los alcaloides totales extraídos de hojas de *Prosopis pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth "algarrobo" frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. [Tesis para Bachiller]. Trujillo: Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo; 2016 [citado 4 Feb 2018]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1497>

26. Corzo A, Bravo E, Serrano F, Vattuone M. Actividad antibacteriana de extractos de hojas de *Prosopis alba*, Griseb, frente a cepas patógenas humanas y fitopatógenas. Quebracho. 2009;17(1,2):106-114.

27. Castro-Navarro E. Efecto antibacteriano de miel de *Apis mellifera* y algarrobina de *Prosopis pallida* sobre coliformes en quesillos preparados artesanalmente expendidos en el mercado "La Unión" - Trujillo. [Tesis para título]. Trujillo: Escuela Académico Profesional de Nutrición. Universidad César Vallejo; 2017. Disponible en: <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/614>

28. Abedini A, Roumy V, Mahieux S, Gohari A, Farimani MM, Rivière C, et al. Antimicrobial activity of selected Iranian medicinal plants against a broad spectrum of pathogenic and drug multiresistant micro-organisms. Lett Appl Microbiol. 2014;59(4):412-21. DOI: 10.1111/lam.12294. Epub 2014 Jun 25.

29. Bussmann R, Glenn A, Sharon D. Antibacterial activity of medicinal plants of Northern Peru - can traditional applications provide leads for modern science? Indian Journal of Traditional Knowledge. 2010;9(4):742-53.

30. Teklehaymanot T. An ethnobotanical survey of medicinal and edible plants of Yalo Woreda in Afar regional state, Ethiopia. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. 2017;13:40. DOI:10.1186/s13002-017-0166-7.

31. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100. 2017. [citado 4 Feb 2018]. Disponible en: [https://clsi.org/media/1469/m100s27\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1469/m100s27_sample.pdf)

32. Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-García M, Baca P. Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants. J Endod. 2009;35(5):711-4. DOI: 10.1016/j.joen.2009.01.018.

33. Díaz-Pérez M, Rodríguez-Martínez C, Zhurbenko R. Enterococcus, medios de cultivo convencionales y cromogénicos. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. 2013;51(1):97-110.

34. Reuter G. Culture media for enterococci and group D-streptococci. Int J Food Microbiol. 1992;17(2):101-11.

35. Van Merode A, Van der Mei H, Busscher H, Waar K, Krom B. *Enterococcus faecalis* strains show culture heterogeneity in cell surface charge. Microbiology. 2006;152:807-14.

36. Le Page S, Raoult D, Rolain JM. Real-time video imaging as a new and rapid tool for antibiotic susceptibility testing by the disc diffusion method: a paradigm for evaluating resistance to imipenem and identifying extended-spectrum  $\beta$ -

lactamases. Int J Antimicrob Agents. 2015;45(1):61-5. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2014.08.014.

37. Ferreira G, Bezerra L, Ribeiro I, Morais-Júnior R, Castro R. Susceptibility of cariogenic microorganisms to phytoconstituents. Braz J Biol. 2018. DOI: 10.1590/1519-6984.174147.

38. Rastegar A, Nazari Sh, Allahabadi A, Falanji F, Akbari Dourbash F, et al. Antibacterial activity of amino -and amido- terminated poly (amidoamine)-G6 dendrimer on isolated bacteria from clinical specimens and standard strains. Med J Islam Repub Iran. 2017;31:64. DOI: 10.14196/mjiri.31.64

39. Riesenber A, Frömke C, Stingl K, Feßler AT, Gözl G, Glocker EO, et al. Antimicrobial susceptibility testing of *Arcobacter butzleri*: development and application of a new protocol for broth microdilution. J Antimicrob Chemother. 2017;72(10):2769-74. DOI: 10.1093/jac/dkx211.

40. Cantón R, Livermore DM, Morosini MI, Díaz-Regañón J, Rossolini GM. Etest® versus broth microdilution for ceftaroline MIC determination with *Staphylococcus aureus*: results from PREMIUM, a European multicentre study. J Antimicrob Chemother. 2017;72(2):431-6. DOI: 10.1093/jac/dkw442.

41. Falcón R, Mateo EM, Talaya A, Giménez E, Vinuesa V, Clari MÁ, et al. Reproducible measurement of vancomycin MICs within the susceptible range in *Staphylococcus aureus* by a broth microdilution method with a "quasi-continuum" gradient of antibiotic concentrations. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017;36(12):2355-60. DOI: 10.1007/s10096-017-3067-8.

42. Pfaller MA, Flamm RK, Jones RN, Farrell DJ, Mendes RE. Activities of Tedizolid and Linezolid Determined by the Reference Broth Microdilution Method against 3,032 Gram-Positive Bacterial Isolates Collected in Asia-Pacific, Eastern Europe, and Latin American Countries in 2014. Antimicrob Agents Chemother. 2016;22;60(9):5393-9. DOI: 10.1128/AAC.00881-16.

43. Flores C. Efecto inhibitor del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Taya) en comparación a hidróxido de calcio, paramonoclorofenol alcanforado y clorhexidina en gel al 2 %, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. [Tesis de maestría] Trujillo: Escuela de Posgrado, Universidad Nacional de Trujillo; 2016 [citado 4 Feb 2018]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2851>

44. Thakur R, Singh R, Saxena P, Mani A. Evaluation of Antibacterial Activity of *Prosopis juliflora* (SW.) DC. Leaves. African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines. 2014;11(3):182-8.

Recibido: 7 de noviembre de 2017.  
Aprobado: 8 de mayo de 2018.

Stephany L. Alvarado Saavedra. Universidad César Vallejo. Piura, Perú.  
Correo electrónico: pablodent@hotmail.com