



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

**“EFECTO ANTIBACTERIANO *In Vitro* DEL EXTRACTO
ALCOHÓLICO DE *Prosopis pallida* (ALGARROBO) SOBRE
Enterococcus faecalis ATCC 29212”**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL
DE CIRUJANO DENTISTA

AUTOR:

ALVARADO SAAVEDRA STEPHANY LIZBETH

ASESOR:

Mg. CD. HERRERA PLASENCIA PAÚL MARTÍN

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

GESTIÓN Y CALIDAD DE LAS INTERVENCIONES EN SALUD

PIURA – PERÚ

2017

PÁGINA DEL JURADO

MSc. Miguel Angel Ruiz Barrueto
Presidente del jurado de tesis

Mg. CD. Dora Denisse Cruz Flores
Secretario del jurado de tesis

Mg. CD. Paúl Martín Herrera Plasencia
Vocal del jurado de tesis

DEDICATORIA

A Dios, por darme sabiduría día a día para poder cumplir esta meta, por su amor incondicional que ha sido un pilar fundamental en mi vida.

A mis padres, Medardo y Ernestina porque su amor incondicional siempre me ayudo a seguir adelante. Gracias por confiar en mí y apoyarme en todo momento. A mi madre porque siempre estuvo a mi lado aconsejándome y guiándome por el camino correcto.

A mis hermanos y a toda mi familia, porque siempre han estado a mi lado apoyándome y dándome aliento para seguir adelante. Gracias por confiar siempre en mí.

A Raúl Echevarría, porque me apoyo en todo momento y aún más en los momentos difíciles. Gracias por cada palabra de aliento que me ayudó a seguir adelante y no rendirme.

AGRADECIMIENTO

Primeramente, a Dios por permitirme lograr esta meta y por guiarme durante toda mi carrera profesional.

A la escuela de Estomatología de la Universidad Cesar Vallejo por brindarnos una buena educación.

Al Mg. Paúl Martín Herrera Plasencia por su importante apoyo y por su asesoría permanente para poder llevar a cabo la realización de esta investigación. Gracias por orientarme y compartir sus conocimientos durante mi carrera profesional.

Al MSc. Mblgo. Miguel Angel Ruíz Barrueto por su importante apoyo, orientación, por brindarme los conocimientos necesarios para la ejecución de esta investigación.

A mis padres, por apoyarme siempre moral y económicamente. Gracias por estar a mi lado y aconsejarme en todo momento para poder lograr esta meta tan importante en mi vida. Gracias por haber confiado en mí.

A mis amigas Flor, Elia y Karen quienes me acompañaron y siempre estuvieron a mi lado en el transcurso de esta vida universitaria y con quienes compartí momentos de felicidad y de tristeza durante este largo camino, especialmente a Flor con quien he compartido muchos momentos de mi vida, gracias por tu sincera amistad mejor amiga. Gracias por preocuparse por mí y estar a mi lado siempre. Las amo mucho y siempre estaremos juntas.

A todas las personas que estuvieron a mi lado durante mi formación profesional y contribuyeron durante el desarrollo de esta investigación.

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, Alvarado Saavedra Stephany Lizbeth identificada con DNI N° 71486676 estudiante de la Escuela Profesional de Estomatología, Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo, presento la tesis titulada “EFECTO ANTIBACTERIANO *In Vitro* DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Prosopis pallida* (ALGARROBO) SOBRE *Enterococcus faecalis* ATCC 29212” y Declaro bajo juramento que:

1. La tesis es de mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis tampoco ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.
5. De identificarse algún tipo de fraude (datos falsos), plagio (información sin citar a autores), autoplagio (presentar como nuevo algún trabajo de investigación propio que ya ha sido publicado), piratería (uso ilegal de información ajena) o falsificación (representar falsamente las ideas de otros), asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad César Vallejo.

Piura, 13 de julio del 2017

Alvarado Saavedra Stephany Lizbeth

DNI N° 7148667

PRESENTACIÓN

La presente tesis lleva como título “Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* (ALGARROBO) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212” ha sido estructurado en 7 capítulos.

En el primer capítulo de esta investigación presenta la introducción, donde se da a conocer la realidad problemática que da origen al desarrollo de este estudio, se exponen los trabajos previos relacionados con el tema, también se da a conocer el marco teórico en relación a las variables de estudio, se presenta la justificación del trabajo y se plantean los objetivos con el planteamiento del problema general.

Posteriormente se detalló el diseño de la investigación y se dieron a conocer los resultados y su respectiva interpretación.

Finalmente se dieron a conocer las conclusiones y recomendaciones del estudio.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	03
AGRADECIMIENTO.....	04
RESUMEN.....	09
I. INTRODUCCIÓN	
1.1 Realidad Problemática.....	11
1.2 Trabajos previos.....	14
1.3 Teorías relacionadas al tema	
1.2.1 <i>Prosopis pallida</i>	19
1.2.2 Microbiología oral.....	23
1.2.3 <i>Enterococcus faecalis</i>	26
1.2.4 Sustancias irrigadoras más utilizadas en endodoncia.....	29
1.2.5 Extractos vegetales.....	31
1.2.1 Técnicas microbiológicas para medir la susceptibilidad bacteriana.....	33
1.4 Planteamiento del problema de la investigación.....	35
1.5 Justificación de la investigación.....	35
1.6 Hipótesis de la investigación.....	36
1.7 Objetivos de la investigación.....	37
II. MÉTODO	
2.1 Diseño de investigación.....	38
2.2 Operacionalización de variables.....	38
2.3 Población y muestra.....	40
2.4 Método de recolección de datos.....	41
2.5 Métodos de análisis de datos.....	46
2.6 Aspectos éticos de la investigación.....	45
III. ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS.....	47
IV. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	51
V. CONCLUSIONES DE LA INVESTIGACIÓN.....	55
VI. RECOMENDACIONES DE LA INVESTIGACIÓN.....	56
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
ANEXOS.....	63

RESUMEN

La presente investigación fue de tipo experimental y de corte transversal, evaluó el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, para ello se utilizaron diversas concentraciones del extracto desde 10 mg/mL hasta 100 mg/mL; como control positivo glutanato de clorhexidina al 2% y como control negativo alcohol al 80%.

Para evaluar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* se usó el método de difusión en discos donde previamente se inoculo la bacteria de *Enterococcus faecaalis* sobre la superficie de una placa Petri que contenía agar Muller Hinton, después se colocaron los discos embebidos con las concentraciones del extracto, incubándolas por 24 horas a 37°. Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) se obtuvo mediante el método de microdilución en caldo.

Las concentraciones del extracto que presentaron mayor inhibición fueron 80 mg/ml y 90 mg/ml obteniendo halos de 16.00 y 16.09 mm respectivamente, y el control positivo que fue Glutanato de Clorhexidina al 2% dio un halo de inhibición de 16.9 mm. La concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) fue menor a 10 mg/mL para ambos.

En esta investigación se concluye que el extracto alcohólico de *Prosopis pallida* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 tiene efecto antibacteriano en 80 mg/ml y 90 mg/ml similar a la clorhexidina al 2% formando un halo de inhibición de 16.9 mm

Palabras clave: Antibacteriano, *Prosopis*, *Extracto*, *Enterococcus*

ABSTRAC

The present study was of an experimental and cross-sectional study, evaluated the antibacterial effect of the alcohol extract of *Prosopis pallida* (Carob) on *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, using various concentrations of the extract from 10 mg / mL to 100 mg / mL; As a positive control 2% chlorhexidine glutanate and as a negative control 80% alcohol.

To evaluate the antibacterial effect of the alcoholic extract of *Prosopis pallida*, the disc diffusion method was used where the bacteria of *Enterococcus faecaalis* were previously inoculated on the surface of a Petri dish containing Muller Hinton agar, then the discs were embedded with the concentrations Of the extract, incubating for 24 hours at 37 °. To determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (BMC) was obtained by the broth microdilution method.

The concentrations of the extract that showed the highest inhibition were 80 mg / ml and 90 mg / ml, obtaining halos of 16.00 and 16.09 mm respectively, and the positive control that was 2% Chlorhexidine Glutanate gave a inhibition halo of 16.9 mm. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (BMC) were less than 10 mg / mL for both.

In this investigation it is concluded that the alcoholic extract of *Prosopis pallida* on *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 has an antibacterial effect at 80 mg / ml and 90 mg / ml similar to 2% chlorhexidine forming an inhibition halo of 16.9 mm

Key words: antibacterial, *Prosopis*, extract, enterococcus

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Realidad Problemática

En la cavidad oral la flora bacteriana se establece de forma progresiva desde el nacimiento del ser humano. Se han identificado alrededor de 700 especies bacterianas alojadas en diversas superficies de la cavidad oral como es el dorso de la lengua, mucosa bucal, margen gingival de los dientes y la saliva.¹

La cavidad pulpar es un tejido estéril aislado de microorganismos que pueden invadir su interior, el esmalte y el cemento forman una barrera de protección para evitar el ingreso de agentes microbianos, cuando esta barrera se rompe el complejo pulpo dentinario va a estar expuesto a la cavidad bucal abriendo un canal para la colonización de microorganismos, dando lugar a un proceso inflamatorio.²

Los conductos radiculares que son tratados endodónticamente están en riesgo de reinfectarse debido a la persistencia de agentes bacterianos alojados en los conductos del diente. Entre las especies bacterianas resistentes a agentes antimicrobianos tenemos a las bacterias Gram positivas que han demostrado tener la capacidad de adaptación a conductos que ya han sido instrumentados y medicados.¹

La persistencia de las infecciones puede estar causado por varios factores, entre ellos la supervivencia de ciertas especies bacterianas, como el *Enterococcus faecalis*, este coco Gram positivo anaerobio facultativo forma parte de la microbiota del ser humano, siendo su hábitat natural el tracto gastrointestinal y a veces se ha podido aislar como hábitat normal la cavidad oral. Este microorganismo es muy prevalente en pacientes que están recibiendo un tratamiento o retratamiento endodóntico relacionándose con las infecciones persistentes y siendo capaz de sobrevivir a los protocolos de terapia pulpar.³

El *Enterococcus faecalis* es el microorganismo más frecuente en tratamientos endodónticos en un 30 a 90% y en un 70% lo encontramos formando parte de tratamientos endodónticos fracasados.³

La reducción de agentes microbianos alojados en el sistema de conductos nos garantiza el éxito del tratamiento endodóntico. 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.⁴

Las plantas medicinales son consideradas como una alternativa de solución para controlar las enfermedades que afectan a la población por la gran variedad de propiedades que poseen. 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 ser humano, por ello se ha incrementado el desarrollo de investigaciones con la finalidad de buscar alternativas terapéuticas. La organización mundial de la salud aprueba el uso de plantas medicinales o medicina alternativa ya que estudios han demostrado su eficacia y porcentajes mínimos de riesgo.⁵

En la región de Piura encontramos una gran variedad de plantas las cuales son usadas por el ser humano empíricamente, ya que han demostrado tener resultados favorables para aliviar los síntomas de las enfermedades que se presentan en nuestra región, esta investigación estudio el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* (algarrobo), una especie natal de América y África, logrando adaptarse de manera favorable a la naturaleza de nuestra región, no existen investigaciones aplicadas en el área odontológica que hayan sido publicadas.

Este estudio busca tener resultados con efectos bactericidas sobre *Enterococcus faecalis* para mantener el sistema de conductos libre de microorganismos y disminuir el porcentaje de tratamientos endodóntico fracasados que están relacionados con esta bacteria.

Esta investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, mediante un estudio *in vitro*, buscando su probable aplicación en la odontología y conduciendo a futuras investigaciones con el empleo de productos a base del extracto de *Prosopis pallida*.

1.2 Trabajos previos

Thakur R., et al. (2009) En su investigación titulada “Evaluación de la actividad antibacteriana de *Prosopis juliflora* (SW) Dc. hojas”. Tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana de la *Prosopis juliflora* sobre diez cepas patógenas humanas. Este estudio *in vitro* determino que el extracto de *Prosopis juliflora* presento actividad antibacteriana en 100mg/ml de su concentración inhibiendo significativamente el crecimiento de las bacterias empleadas en esta investigación, como son, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhimurium* y *Salmonella typhi*. En esta investigación se concluye que la *Prosopis juliflora* presenta actividad antibacteriana sobre las sepas utilizadas en esta investigación. ⁶

Bussman R., (2009) realizo un estudio denominado “Actividad antibacteriana de las plantas medicinales del norte del Perú”. Esta investigación tuvo como objetivo probar si el extracto etanolito de las plantas utilizadas en la medicina tradicional muestran actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Se empleó el método de agar- difusión. Se obtuvo como resultado que el extracto etanólico de la *Prosopis pallida* presento actividad antibacteriana obteniendo un halo de inhibición de 15 mm. ⁷

Delle Vedove T., et al. (2010) en su investigación titulada “Actividad antimicrobiana de la clorhexidina al 2%, Hipoclorito de sodio al 1% y Paramonoclorofenol combinado con furacin contra cepas de *S. Aureus*, *C. albicans*, *E. faecalis* y *P. aureginosa*”. Tuvo como objetivo analizar la actividad antimicrobiana de la clorhexidina al 2%, Hipoclorito de sodio al 1% y Paramonoclorofenol combinado con furacin sobre *S. Aureus*, *C. albicans*, *E. faecalis* y *P. aureginosa*.

En este estudio de tipo experimental, se emplearon 40 placas Petri en las cuales se colocaron discos de papel embebidos con las sustancias utilizadas y los controles un positivo y un negativo. Se empleó el método de difusión de discos para determinar la susceptibilidad bacteriana. La clorhexidina al 2% fue significativamente ($P < 0,05$) más efectiva que las otras sustancias utilizadas inhibiendo el crecimiento de todas las cepas microbianas. El hipoclorito de sodio a 1% presento resultados intermedios y el paramonoclorofenol asociado a furacin (PMC+F) dio resultados poco favorables. La investigación concluye que la clorhexidina al 2% presenta efecto antibacteriano frente a las especies bacteriana estudiadas. ⁸

Cardozo A. y col. (2014) En su investigación titulada “Actividad antibacteriana de extractos de hojas de *Prosopis alba*, *Griseb*, frente a cepas patógenas humanas y fitopatógenas”, evaluó la actividad inhibitoria del crecimiento bacteriano de las hojas de *Prosopis alba* (algarrobo blanco) y *Griseb*, frente a cepas bacterianas gran positivas como son los *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* y cepas Gram negativas como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* y *Klebsiella pneumoniae*. Se empleó el método de microdilución en medio sólido para determinar la actividad antimicrobiana. Los resultados obtenidos muestran el extracto etanólico va a inhibir el crecimiento de *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas corrugata* en la concentración de 1049 µg de ME/ml y es capaz de disminuir el crecimiento de todas las bacterias estudiadas en una concentración de 131 µg de ME/ ml. Este estudio concluye que la decocción y el extracto etanólico de *Prosopis alba*, *Griseb*, si presenta actividad antibacteriana sobre las cepas patógenas estudiadas. ⁹

Álvarez M. (2014), su investigación titulada “Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Propolis de apis mellífera* (propóleo) frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212”, determinó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de *Propolis de apis mellífera* “Propóleo” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

El estudio consistió en determinar susceptibilidad bacteriana y concentración mínima bacteriana teniendo una muestra de 80 placas Petri. Fue una investigación experimental de corte longitudinal, los resultados se obtuvieron mediante la microdilución de tubos y difusión de discos. El estudio concluyó que el extracto etanólico de *Propolis de apis mellifera* “Propóleo” presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. ¹⁰

Palomino J, et al.(2015) su investigación titulada “Efectividad de tres irrigantes sobre el número de colonias de *Enterococcus faecalis* en la preparación de conductos radiculares *in vitro*” tuvo como objetivo determinar la efectividad de tres irrigantes sobre el número de colonias de *Enterococcus faecalis*. Este estudio realizado *in vitro*, se evaluó a partir de 60 raíces distales del primer molar inferior en las cuales se inoculó la bacteria de *Enterococcus faecalis* en un conducto, añadiendo las concentraciones de los diferentes irrigantes empleados. Los resultados determinaron que los irrigantes utilizados como el hipoclorito de sodio casero 4%; hipoclorito de sodio 2,5% y gluconato de clorhexidina 2%, todas las sustancias presentaron efecto en un 100% en la desinfección de los conductos radiculares. El estudio concluye que el hipoclorito de sodio es efectivo frente al *Enterococcus faecalis* en sus diferentes concentraciones. ¹¹

Sosa J.(2015), su investigación titulada “Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y del agua ozonizada sobre *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*” Tuvo como objetivo determinar el efecto de antibacteriano del extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* y del agua ozonizada sobre *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Del extracto de *R. officinalis* se emplearon dos concentraciones a 25 mg/ml y 50 mg/ml y 0,41 mg/ml y 0,82 mg/ml de agua ozonizada.

Para evaluar el efecto antibacteriano se sembró con un hisopo estéril el inóculo estandarizado de *Streptococcus mutans* y de *Enterococcus faecalis* independientemente en placas con agar Mueller-Hinton en las cuales se colocaron discos de papel de filtro en el centro y se añadió 25 µL de cada concentración del extracto alcohólico como del agua ozonizada. Las placas fueron incubadas a 36°C en condiciones de anaerobiosis durante 24 horas. Los resultados obtenidos fueron que el extracto alcohólico de *R. officinalis* en una concentración de 25 mg/ml formó un halo promedio de 25 mm para *E. faecalis* y de 19 mm para *S. mutans*. Sin embargo, a 50 mg/ml se formó un halo de inhibición promedio de 36 mm para *E. faecalis* y para *S. mutans* se formó un halo promedio de 24 mm. En el control positivo que fue clorhexidina al 0,12 % el halo de inhibición que se formó fue de 16 mm. El estudio concluye que el extracto alcohólico de *R. officinalis* en una concentración de 25mg/ml y 50mg/ml sobre *S. mutans* y *E. faecalis* presenta efecto bactericida y cuando se agrega agua ozonizada este efecto se incrementa. ¹²

Flores C.,(2016) “Efecto inhibidor del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Taya) en comparación a hidróxido de calcio, paramonoclorofenol alcanforado y clorhexidina en gel al 2 %, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. El objetivo fue comparar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (taya), hidróxido de calcio, paramonoclorofenol alcanforado, y clorhexidina al 2%, sobre *Enterococcus faecalis*. Se realizó mediante la prueba de susceptibilidad, aplicando el método de difusión de disco. Las cepas de *E. faecalis* se cultivaron en placas con medio de cultivo Mueller Hinton, y se colocaron discos con las diferentes concentraciones del extracto y de los controles. La investigación concluye que extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa*, presenta igual efecto inhibitorio que la clorhexidina en gel al 2%, y presenta un efecto significativamente mayor al del hidróxido de calcio y paramonoclorofenol alcanforado, sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. ¹³

Cardenas C. (2017) en su investigación titulada “Actividad antimicrobiana y antioxidante del extracto etanólico de *Prosopis pallida* “algarrobo”” tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana y antioxidante del extracto etanólico de *Prosopis pallida*. Se realizó el método de difusión en discos para determinar el efecto antibacteriano y para determinar la concentración mínima inhibidora (CMI) se empleó el método de microdilución en microplaca. En este estudio se evaluó el efecto antibacteriano de *P. pallida* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. El extracto etanólico de las hojas de *Prosopis pallida* presentó actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, determinándose que la concentración mínima inhibidora fue 1000 µg/mL y frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 con una concentración mínima inhibidora de 62,5 µg/mL. ¹⁴

1.3 Teorías relacionadas al tema

1.3.1 *Prosopis pallida*

En 1976 Burkart, propuso la siguiente clasificación: el reino al que pertenece la especie de *Prosopis pallida* es *Plantae*, a la familia de *Fabaceae*, su género es *Prosopis*, su nombre binominal es *Prosopis pallida* (Humb. & Bompl. Ex Willd.) Kunth, y los nombres vernaculares son “Algarrobo”, “Guarango”, “Mesquite”, “kiawe”.¹⁵

1.3.1.1 Género y distribución

Prosopis pallida es una especie de algarrobo de hasta 20 metros de altura, es originaria de los territorios áridos y semiáridos. En todo el mundo se ha distribuido en América (Perú, Colombia y Ecuador), África y Sudeste de Asia. En los últimos años se ha cultivado y asilvestrado en Bolivia, Brasil, Puerto Rico, Hawái, Pakistán, Sudáfrica, India, Australia y el territorio del Sahara. Esta especie es dominante en las costas del Perú, encontrándola en 13 departamentos desde Tumbes hasta Tacna, especialmente en zonas costeras a 0 - 1500 msnm. En el Perú el género *Prosopis* L. está representada por tres especies *Prosopis juliflora*, *Prosopis affinis* y *Prosopis pallida*, siendo esta dominante en la costa peruana que crece de modo silvestre formando bosques de 30 a 70 árboles por hectárea, de hasta 10 metros de alto.

16 17

1.3.1.2 Morfología y hábitat

Para el crecimiento del *P. pallida* es importante la profundidad del suelo, dado que la baja profundidad o presencia superficial de roca madre pueden impedir su crecimiento, presentándose con mayor concentración en zonas con acceso a aguas subterráneas. La especie de *P. pallida*

tiene un periodo de floración muy variable, pudiendo florecer todo el año.

15

En el norte del Perú, el periodo de floración es de diciembre a febrero y su periodo de fructificación es de junio a agosto, dependiendo de las condiciones de crecimiento. Sus hojas de color verde y cuando están secas son de verdes grisáceas. Son bipinadas, pequeñas y alternas, de 5 a 8 cm de largo. Sus folíolos son lineales con una longitud de 7 a 1 por 1 a 3 mm de ancho. ¹⁷

Su fruto es conocido como “algarroba”, es una legumbre indehiscente, en su interior presenta una pequeña pepa cubierta por una pulpa dulce, estas vainas pueden ser rectas o ligeramente falcadas, de color amarillo paja en su periodo de madurez, con base redondeada o cuadrangular de 10 a 28 cm de largo; las semillas son ovoidales de color pardo y se encuentran en el interior de las vainas en un total de 16 a 28 por cada una de ellas. ^{15 17}

1.3.1.3 Usos de la *Prosopis pallida*

El algarrobo tiene una gran variedad de usos, dado que es uno de los alimentos vegetales con altas concentraciones de almidón y proteína siendo el alimento esencial en la dieta de los pueblos indígenas. Con la pulpa se elabora harina la cual es incorporada en galletas, sopas y leche de los niños. La harina de algarrobo está indicada para tratar problemas de diarreas y vómitos tanto en niños como en lactantes, se utilizada para ayudar a mejorar la digestión. El fruto de la algarroba es un alimento de primera calidad para el ganado. ^{18 19}

El tronco produce una resina llamada copal, la cual tiene propiedades curativas de usos medicinales y también es empleada para la elaboración de barnices e inciensos. La corteza y las hojas de esta planta contienen propiedades medicinales. ¹⁸

1.3.1.4 Composición química

Prosopis pallida es una especie vegetal con un alto contenido de vitaminas A o caroteno, vitaminas B como B1 o tiamina, B2 o riboflavina, B3 o niacina. Además, posee minerales esenciales para el ser humano como potasio, fósforo, magnesio, calcio, silicio y hierro ayudando a fortalecer el organismo. El consumo del algarrobo posee un contenido graso menor al 2% y una cantidad de proteínas entre 8 y 9.8%.¹⁹

1.3.1.4.1 Composición química de las hojas de *Prosopis pallida*

Las hojas de *Prosopis pallida* muestran altos niveles de fibra cruda (23,3 %) y proteína cruda (17,8%). Entre sus minerales presenta calcio (1,49 %), fósforo (0,10 %), magnesio (0,75%) y potasio (1,35%). Presenta taninos generalmente alto de 0,8% o 1,9-2,0, flavonoides y polifenoles.¹⁴

1.3.1.5 Principios activos

Un gran porcentaje de los principios activos está comprendido dentro de los metabolitos secundarios; entre estos metabolitos encontramos aquellos con funciones defensivas contra insectos, bacterias y hongos; como son los alcaloides, esteroides, aminoácidos no proteicos, fenoles, flavonoides, quinonas, cumarinas, taninos y terpenoides. Mayores concentraciones de estos tipos de compuestos los podemos encontrar en las hojas, flores y semillas de la planta. En el *P. pallida* los compuestos químicos se alojan en las hojas donde se ha podido identificar a los alcaloides, este grupo de metabolitos

secundarios más diversos que se encuentra en los organismos vivos; va a estar constituido por 15000 metabolitos secundarios, estos se encuentran aproximadamente en un 20% en las especies de plantas vasculares. En las plantas los alcaloides no suelen repartirse homogéneamente en todo el organismo, sino que se acumulan preferentemente en determinados puntos como hojas u cortezas. Los alcaloides provenientes de especies vegetales han sido empleados en la medicina, y muchos de ellos aún son prominentes fármacos hoy en día.

20

1.3.1.6 Actividad antimicrobiana

Las plantas poseen una gran variedad de principios activos como los metabolitos secundarios los cuales presentan propiedades antimicrobianas las cuales han sido demostradas a través de estudios realizados *In vivo*; entre los compuestos que se encuentran en mayor porcentaje en las plantas tenemos a los taninos, alcaloides, terpenoides. En la actualidad la mayor parte de productos farmacéuticos tienen orígenes vegetales, pero una mínima cantidad de estos son utilizados como antimicrobianos. Pese a la gran cantidad de especies vegetales en nuestro planeta solo un pequeño porcentaje 1- 10% son utilizados con fines medicinales. Las plantas tienen una capacidad de sintetizar sustancias aromáticas como los fenoles que sirven de como mecanismos de defensa contra la depredación por microorganismos, insectos y herbívoros.¹⁴

El ácido cinámico y cafeico contienen un determinado grupo de compuestos de derivados de fenilpropano que presentan el estado de oxidación que es eficaz contra los virus, bacterias y hongos. Catecol y pirogalol son fenoles hidroxilados, que han demostrado ser tóxicos para los microorganismos. Los aceites esenciales son considerados como antimicrobianos, un ejemplo es el eugenol, considerado como un bacteriostático contra los hongos y las bacterias. Los flavonoides

también son sustancias fenólicas hidroxiladas son sintetizadas por las plantas en respuesta a la infección microbiana.¹⁴

1.3.2 Microbiología oral

La microbiología médica es la ciencia que estudia los seres vivos microscópicos que actúan directamente sobre la salud del ser humano y de las patologías que los agentes microbianos pueden producir.²¹

La cavidad oral considerada el medio más séptico del organismo, es un sistema de órganos y tejidos utilizados para la ingesta de alimentos, estos forman hábitas favorables para la colonización de agentes microbianos. La microbiota oral es compleja y se han encontrado alrededor de 700 especies bacterianas las cuales albergan en hábitas como dientes, saliva, surco gingival, lengua, entre otras, ayudando al crecimiento y multiplicación de agentes microbianos.²²

Dentro de la cavidad oral podemos encontrar una serie de microorganismo como cocos y bacilos Gram positivos y Gram negativos, aerobios, anaerobios estrictos y anaerobios facultativos, dependiendo del nicho ecológico que los aloja. La composición microbiana del nicho ecológico al que pertenecen depende de la capacidad del agente microbiano para poder adherirse, permanecer, desarrollarse y sobrevivir en los tejidos y órganos de la cavidad oral.²²

1.3.2.1 Microbiología endodoncia

La endodoncia es la ciencia encargada de estudiar la morfología, función, patología, prevención, salud y tratamiento de la pulpa dental y

tejidos perirradiculares, está mantiene una estrecha relación con la microbiota oral ya que tiene como finalidad eliminar los microorganismos alojados en el sistema de conductos mediante una terapia en canal radicular manteniendo y restableciendo la salud de los tejidos perirradiculares.²³

La endodoncia se encuentra estrechamente relacionada con los microorganismos que dan lugar a los procesos de la enfermedad pulpar y a las lesiones inflamatorias de los tejidos periapicales. La integridad del esmalte y la dentina van a formar una barrera física para proteger la pulpa que se encuentra en el interior del diente impidiendo el ingreso de microorganismos. Por otro lado, el organismo y el tejido pulpar presentan una limitada comunicación vascular y nerviosa a través del agujero apical. Sin embargo, cuando los tejidos duros del diente se ven afectados las bacterias van a invadir la pulpa produciendo una inflamación como respuesta inmunitaria del huésped.²⁴

La infección del sistema de conductos está relacionada con la interacción de la microbiota presente en los conductos radiculares, la infección bacteriana de la cámara pulpar y la respuesta de defensa del hospedador.¹

En la microbiota endodóntica pueden encontrarse bacterias Gram positivas y Gram negativas, sin embargo, luego de realizado el tratamiento endodóntico hay bacterias que prevalecen en el sistema de conductos como las bacterias Gram positivas anaerobias o facultativas entre las que tenemos *Parvimonas micra*, *Actinomyces*, *Lactobacilos*, *Propionibacterium*, *Olsenella uli*, *Pseudoramibacter alactolyticus* y *Enterococcus faecalis*.²⁵

1.3.2.1.1 Tipos de infección endodóntica

Las infecciones endodónticas se pueden clasificar en intraradiculares y extraradiculares. Dependiendo del momento en el que los microorganismos se establezcan en el conducto radicular, las infecciones intraradiculares se pueden clasificar en primarias, secundarias o persistentes.²⁶

1. Infecciones intraradiculares primarias

Son causadas por los microorganismos que invaden y colonizan el tejido pulpar necrótico. Las infecciones primarias son mixtas, predominando bacterias Gram negativas y bacterias anaerobias estrictas. Entre las especies bacterianas predominantes tenemos *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Treponema*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* Y *Campylobacter*.²⁶

2. Infecciones intraradiculares secundarias o persistentes

Son causadas por microorganismos que han sobrevivido después de la desinfección intraradicular y que persisten después de la obturación de conductos. Este tipo de infección está estrechamente relacionada con el fracaso del tratamiento endodóntico, dado que los microorganismos colonizan y sobreviven en el interior del conducto. Es en esta infección donde predomina la especie bacteriana *Enterococcus faecalis*.²⁵

3. Infección extraradicular

Esta infección puede ser causada por microorganismos presentes en las infecciones intraradiculares dado que estos superan la barrera defensiva accediendo a los tejidos periradiculares. Las especies bacterianas como *Actinomyces* y *Propionibacterium* son las que se encuentran estrechamente relacionadas con la infección extraradicular. El absceso apical agudo es la forma más frecuente de esta infección.²⁷

1.3.3 *Enterococcus faecalis*

1.3.3.1 Aspectos microbiológicos

El género *Enterococcus* son especies con morfológica semejante a los *Streptococos*. La especie bacteriana aislada con más frecuencia es *Enterococcus faecalis* una bacteria Gran positiva, anaerobia facultativa que puede crecer en presencia o ausencia de oxígeno, se desarrolla a una temperatura de 10°C a 45°C, siendo capaz de sobrevivir hasta en un rango de 60°C durante 30 minutos. Su tamaño celular es entre 0.5 y 0.8 micrómetros. El habitat natural de *E. faecalis* es el tracto gastrointestinal del ser humano, sin embargo, a veces se ha podido aislar como habitat normal el dorso de la lengua y la mucosa oral, además se encuentra formando parte de infecciones pulpo-periapicales y de bolsas periodontales.²⁸

Existen alrededor de veintitrés especies de *Enterococcus*, siendo las más importantes clínicamente *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium*, *E. gallinarum*, *E. durans*, *E. solitarius*, *E. raffinosus*, *E. casseliflavus*, *E. malodoratus*, *E. hirae*, *E. mundtii*, *E. pseudoavium*. *E. faecalis* es el patógeno humano con más aislamientos clínicos con un 60% a 90% de los aislamientos, seguida de *E. faecium* representando el 5% al 16% de los aislamientos clínicos.²⁹

La bacteria *E. faecalis* está formada por una pared celular con antígenos del grupo D (ácido lipoteicoico), está se encuentra unida a la membrana

citoplasmática de la bacteria conteniendo residuos de glicerol. Esta bacteria posee ácido teicoico y mureina en grandes cantidades. *Enterococcus faecalis* se asocia a Lactobacillus, Candida, Actinomyces, Streptococcus y a otras bacterias anaerobias y facultativas creando una flora mixta y virulenta.²⁸

1.3.3.2 *Enterococcus Faecalis* y su relación con el tratamiento endodóntico

La resistencia del *E. faecalis* se debe a su capacidad de crecimiento como biopelícula en las paredes del conducto radicular, los microorganismos se van adherir a la pared del conducto radicular a través de una sustancia polimérica extracelular (EPS) producida por ellas mismas. Esta matriz de biopelícula presta estabilidad mecánica, y al mismo tiempo puede impedir cualquier contacto directo de los agentes antimicrobianos con los microorganismos que la conforman, disminuyendo la eficacia de dichos agentes. La instrumentación mecánica de las sustancias antibacterianas en el conducto radicular va a reducir el crecimiento bacteriano, pero no lo elimina completamente.³⁰

E. faecalis tiene un alto nivel de resistencia a los agentes antimicrobianos, esta bacteria facultativa está relacionada con la periodontitis periapical que se desarrolla después del tratamiento endodóntico, como consecuencia de una infección persistente o secundaria intraradicular. Puede sobrevivir en conductos con tratamiento endodóntico por que tiene la capacidad de suprimir la acción de los linfocitos.²⁷

La frecuencia de infecciones persistentes en los conductos se relaciona con el fracaso de los tratamientos endodónticos, debido a que los

microorganismos presentes en el conducto radicular que pueden haber sobrevivido al efecto de irrigantes y preparación biomecánica durante el tratamiento, su ingreso a los conductos radiculares debido a filtraciones coronarias después de la obturación. ²⁸

Cuando en el conducto radicular las condiciones ecológicas cambian durante el tratamiento, los microorganismos que sobreviven a ellos puedan soportar alcalinidad, escasez de nutrientes y aumento del nivel de oxígeno. *E. faecalis* es una bacteria que puede sobrevivir en un ambiente alcalino, relacionado a infecciones endodónticas persistentes.

³¹

La presencia de *E. faecalis* en dientes que requieren retratamiento endodóntico se debe a que esta bacteria tiene la capacidad de colonizar los túbulos dentinarios, haciendo imposible que la preparación biomecánica e irrigación de sustancia antibacterianas garanticen su completa eliminación, debido al reducido diámetro que presentan estas estructuras anatómicas y por la capacidad que tiene para adherirse al colágeno. Otra causa es la resistencia que tiene ante el hidróxido de calcio, el cual es la sustancia más utilizada para la medicación antibacteriana de los conductos radiculares durante la terapia endodóntica, permitiendo a los microorganismos permanecer en estado quiescente. ³²

1.3.3.3 Determinantes de patogenicidad en *E. faecalis*

La bacteria de *E. faecalis* posee una gran cantidad de factores de virulencia asociados a las diferentes fases de la infección endodóntica e inflamación periapical, entre los más importantes se encuentran sustancia de agregación, proteínas de superficie Enterococcica, Feromonas, proteínas de adhesión al Colágeno, Ácido Lipoteicoico, Superóxido Extracelular, Gelatinasa, Hialuronidasa, Hemolisina y Citolisina. Gracias a estos factores de virulencia, la bacteria de *E. faecalis* es capaz de sobrevivir en medios con pocos o escasos

nutrientes en un estado metabólico mínimo, pudiendo soportar condiciones adversas por más de 4 meses. Esta bacteria en estado de latencia, cuando se encuentra disponible utiliza el fluido proveniente del hueso alveolar y el ligamento periodontal como fuente de nutrientes. Este microorganismo se caracteriza por la capacidad de compartir estos factores de virulencia entre las especies, contribuyendo a su supervivencia y capacidad de patogenia. ³³

1.3.4 Sustancias irrigadoras más utilizadas en endodoncia

Lo que garantiza el éxito endodóntico es la eliminación de las bacterias durante la terapia de conductos, ya que estas son responsables de las alteraciones periapicales. La buena preparación biomecánica es esencial para lograr un buen tratamiento endodóntico, sin embargo, se ha demostrado que la instrumentación mecánica por sí sola no elimina las bacterias y restos pulpares alojados en los conductos radiculares. Es por ello que se emplean diversas sustancias químicas para irrigar el sistema de conductos con el fin de lograr eliminar las bacterias que en él se alojan y conseguir una limpieza adecuada del conducto. Entre las sustancias más utilizadas en endodoncia las que tenemos son: ³⁴

1.3.4.1 Clorhexidina

Es un efectivo agente antimicrobiano oral utilizado en la prevención de caries, terapia periodontal e infecciones orales en general como agente terapéutico. También se utiliza como solución irrigadora y/o medicamento en las sesiones de terapia endodóntica, por su efecto antimicrobiano. La clorhexidina ha sido reconocida por ser una efectiva solución de irrigación del sistema de conductos, se ha demostrado que

los conductos que han recibido tratamiento con esta solución son menos susceptibles a reinfectarse, siendo ventajoso para el control de las infecciones ocasionadas por filtración coronaria. *Enterococcus faecalis* es una bacteria que puede persistir dentro de los conductos radiculares y provocar una periodontitis apical, esta infección también se puede desarrollar paralelamente al tratamiento debido a la contaminación de los conductos producido a causa de la filtración coronaria. Las raíces que han sido tratadas con clorhexidina adquieren siete días de efecto antimicrobiano.³⁵

La clorhexidina en bajas concentraciones tiene efecto bacteriostático ya tiene la capacidad de unirse a la membrana celular, aumentando la permeabilidad y la filtración de componentes intracelulares como el potasio; tiene efecto bactericida ya que su uso en altas concentraciones produce la precipitación del citoplasma y posteriormente la muerte celular. Su PH óptimo es se encuentra entre 5.5 y 7.0 lo que le permite actuar frente a diferentes bacterias. La clorhexidina se activa ampliamente contra bacterias Gram positivas, Gram negativas, anaerobias facultativas y aerobias; contra hongos y levaduras en menor medida. En odontología se usan las concentraciones de 0.2 y 0.12% lo que le permite ejercer una actividad bactericida, y en concentraciones más bajas ejerce actividad fungicida.^{36 37}

1.3.4.2 Hipoclorito de sodio

El hipoclorito de sodio es la sustancia irrigadora más utilizada en endodoncia; es un agente químico obtenido por la mezcla de cloro, hidróxido de sodio y agua. Es utilizada para la irrigación de conductos radiculares, su potencial bactericida y su acción de disolución de tejidos

pulpaes ha hecho que hoy en día se utiliza como una medida terapéutica en endodoncia.^{34 38}

La Asociación Americana de Endodoncia ha definido al Hipoclorito de sodio como “un líquido claro, pálido, verde-amarillento, extremadamente alcalino y con fuerte olor a cloro, que tiene una acción disolvente sobre restos orgánicos y tejido necrótico, siendo un potente agente antimicrobiano”.³⁹

La concentración de hipoclorito utilizada en la clínica estomatológica es de 0,5% a 5,25%, por su capacidad para eliminar bacterias gram positivas y gram negativas, hongos, virus y esporas.³⁸

La eficacia del hipoclorito de sodio para la disolución de la pulpa va estar influenciada por la integridad estructural del tejido. Cuando el tejido pulpar está desintegrado va a disolver rápidamente los restos pulpaes, pero si la pulpa esta vital y hay poca degradación del tejido, el hipoclorito de sodio va a necesitar más tiempo para la disolución del tejido. Esta sustancia a pesar de tener una excelente actividad bactericida, también presenta propiedades negativas como es la inefectividad para algunos microorganismos cuando se utiliza en bajas concentraciones y también es potencialmente alérgico y citotóxico cuando sobrepasa los tejidos periapicales.⁴⁰

1.3.5 Extractos vegetales

Son concentrados de consistencia sólida, líquida o intermedia, derivados de material vegetal desecado, el cual se puede obtener evaporando parcial o totalmente el disolvente en líquidos extractivos de origen vegetal. Según su consistencia y concentración estos se pueden clasificar en: extractos fluidos, extractos secos, extractos blandos y los crioextractos.⁴¹

1.3.5.1 Extractos Secos

Son aquellos extractos que tienen consistencia seca y son fáciles de pulverizar, se obtienen por evaporación del disolvente y desecación del residuo. Estos extractos no deben contener humedad mayor de 5%. Son preparados de fácil manipulación y como solvente se emplea el alcohol de diversas concentraciones y agua. ⁴¹

1.3.6 Extracto alcohólico

Es la sustancia obtenida a partir de una materia prima de origen vegetal, mediante el proceso de maceración o percolación en contacto con un solvente (etanol, agua) seguida de su eliminación mediante un procedimiento físico. ⁴²

1.3.6.1 Métodos de obtención de extracto alcohólico

1.3.6.1.1 Maceración

Este extracto se puede obtener mediante el proceso de maceración el cual se va a realizar a temperatura ambiente y consiste en remojar la materia prima vegetal en un solvente hasta que este penetre y disuelva las porciones solubles, después se va a colocar en un recipiente dejándolo reposar un periodo de dos a catorce días, posteriormente se va a filtrar el líquido, exprimir los residuos y recuperar el solvente en un evaporador rotatorio. ⁴²

1.3.6.1.2 Percolación

También se puede obtener mediante el proceso de percolación mediante este procedimiento se pueden utilizar solventes orgánicos en frío con la finalidad de mantener los compuestos termolábiles que contiene el material. Va a consistir en depositar el material fragmentado en un embudo o recipiente cónico y hacer pasar un disolvente, el cual se va a agregar constantemente. ⁴²

1.3.7 Técnicas microbiológicas para medir la susceptibilidad bacteriana

1.3.7.1 Método de difusión de discos

Es una prueba cualitativa, que muestra la resistencia o inhibición de los microorganismos frente a los medicamentos que se encuentra impregnado en los discos. Esta prueba se basa en colocar sobre la superficie de la placa de agar previamente inoculada con el microorganismo de prueba, las sustancias que se utilizaran van a estar impregnados en los discos de papel de filtro. ⁴³

Cuando el disco se pone en contacto con la superficie del agar se va a formar una gradiente de concentración. Pasadas las 18 -24 horas de incubación los discos van aparecer o no rodeados por una zona clara que representa la inhibición de crecimiento bacteriano. Este es un método sencillo, fácil de realizar y barato. ⁴⁴

1.3.7.2 Método de microdilución

Este método es utilizado para determinar la actividad *in vitro* de una sustancia antimicrobiana frente al microorganismo estudiado. Este método nos ayudara a determinar el efecto antibacteriano y la actividad inhibidora. Esta prueba se lleva a cabo en tubos o microplacas con

medios de cultivo líquidos (caldos) conteniendo sustancias antibacterianas depositadas de forma crecientes que van a inocular las especies bacterianas.⁴⁵

1.3.7.2.1 Concentración mínima bactericida (CMB)

Determina la concentración mínima de la sustancia antimicrobiana que elimina el 99,9% a más de los agentes microbianos estudiados después 24 horas de incubación a 37°C. En algunos casos es importante determinar la actividad bactericida del agente antibacteriano.⁴⁶

1.3.7.2.2 Concentración mínima inhibidora (CMI)

Determina la concentración más baja de la sustancia antibacteriana ($\mu\text{g/mL}$) que tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de los agentes microbianos en condiciones normales después de 24 horas de incubación a 37°C. Para obtener resultados más exactos se realiza mediante el método de dilución.⁴⁶

1.4 Formulación del problema

1.4.1 Pregunta General

¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

1.5 Justificación del estudio

La medicina natural en los últimos años ha sido utilizada como una alternativa de solución para mejorar las condiciones de salud de la población, en el ámbito odontológico la medicina tradicional es poco conocida debido a la escases de estudios relacionados con el tema, a pesar que vivimos en un país que posee una gran biodiversidad de flora como es el *Prosopis pallida* (algarrobo).

En la actualidad los sistemas de conductos se encuentran infectados por una serie de microorganismos que albergan en la cavidad oral, los cuales van a colonizar los conductos radiculares a través de diferentes vías, por ello se presenta este estudio con el fin de encontrar un efecto bactericida sobre la bacteria *Enterococcus faecalis* considerada como un factor principal asociado al fracaso del tratamiento endodóntico.

La presente investigación tiene importancia clínica ya que de encontrarse probables efectos antibacterianos del extracto alcohólico del *Prosopis pallida* sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*, podrían realizarse estudios que se enfoquen en el uso de esta planta para contribuir al mejoramiento de una terapia y práctica eficaz para la desinfección de los conductos radiculares garantizando la eliminación de microorganismos que son resistentes a sustancias irrigadoras químicas con el uso de este recurso que se encuentra en nuestra región.

Este estudio tiene justificación social dado a que este recurso natural forma parte del medio que nos rodea facilitando su acceso y disminuyendo el costo de su obtención, además presenta efectos adversos mínimos a diferencia de agentes químicos, la población podría reducir los altos porcentajes de deficiente salud oral ya que se ha demostrado que esta planta tiene efectos de inhibición sobre microorganismos que desarrollan la caries dental.

Se pretende promover el uso de plantas medicinales para la realización de terapias con el fin de mejorar el estado de salud bucal, del mismo modo si se obtienen resultados favorables, brindar aportes a la sociedad odontológica para la realización de estudios que conlleve al uso de *Prosopis pallida* en la desinfección de los conductos radiculares para inhibir el desarrollo de microorganismos y garantizar el éxito del tratamiento endodóntico.

1.6 Hipótesis

El extracto alcohólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) tiene efecto bactericida sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.7 Objetivos

1.7.1 Objetivo General

Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.7.2 Objetivos Específicos

1. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Enterococcus faecalis* mediante el método de microdilución en caldo.
2. Determinar la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Enterococcus faecalis* mediante el método de microdilución en caldo.
3. Determinar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Enterococcus faecalis* mediante el método de difusión en agar con disco.

II. MARCO METODOLÓGICO

2.1 Diseño de investigación

2.1.1 Tipo de Investigación

Esta investigación presenta varios enfoques de acuerdo a sus características y estructura, donde se definirán los siguientes:

Es una investigación de tipo experimental porque se va a manipular la variable independiente para ver su efecto sobre la variable dependiente dentro de una situación de control, para poder analizar los datos obtenidos.

⁴⁷

Es una investigación de enfoque cuantitativo porque los datos obtenidos se recolectan mediante análisis estadístico y medición numérica para obtener información confiable. ⁴⁷

Es una investigación de corte transversal porque los datos van hacer recolectados es un solo momento, para describir y analizar los datos obtenidos. ⁴⁷

2.1.2 Diseño de Investigación

Según su diseño, experimental de estímulo creciente

2.2 Variables y operacionalización

Variables independientes

Extracto alcohólico de *Prosopis pallida*.

Variables dependientes

Efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis*.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

<i>VARIABLES</i>	<i>DEFINICIÓN CONCEPTUAL</i>	<i>DEFINICIÓN OPERACIONAL</i>	<i>DIMENSIONES</i>	<i>INDICADORES</i>	<i>ESCALA DE MEDICIÓN</i>
<i>Variable dependiente</i> EFECTO ANTIBACTERIANO	Es el efecto que tiene una sustancia para inhibir el crecimiento o eliminar completamente un agente bacteriano sin ocasionar daños sobre los organismos que lo habita.	3 Para la prueba de difusión se utilizará a través de mediciones con un vernier digital 4 Para la prueba de microdilución se utilizara la Espectrofotometría a través el software LAZE.	Difusión en discos: Diámetro del halo de medición Microdilución: Diámetro de botón	Efecto antibacteriano: Halo ≤ 16 mm CMI CMB	Razón
<i>Variable Independiente</i> EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>PROSOPIS PALLIDA</i>	Sustancia obtenida a partir de una materia prima por percolación o maceración de un solvente seguida de la eliminación del mismo por un proceso físico.	Extracto etanólico obtenido de la <i>Prosopis pallida</i> por maceración. Extracto obtenido en el laboratorio.	Concentración volumétrica del extracto	10 mg/mL; 20 mg/mL; 30 mg/mL; 40 mg/mL; 50 mg/mL; 60 mg/mL; 70 mg/mL; 80 mg/mL; 90 mg/mL ; 100 mg/mL	Razón

2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

2.3.1 Población

Cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

2.3.2 Muestra

5 ml de suspensión de *Enterococcus faecalis* a una concentración 1.5×10^8 UFC/ ml.

Se utilizaron 5 placas Petri por concentración que contenía dos discos embebidos con la concentración del extracto alcohólico de *Prosopis pallida*, un disco de control positivo embebido con gluconato de clorhexidina 2 % y un control negativo alcohol al 80%. Empleando un total de 50 placas Petri que corresponde a 100 replicaciones en total de todos los extractos y por control se realizó 50 repeticiones.

2.3.3 Calculo del Número mínimo de duplicación

$$n = \frac{W - W^2 \cdot Z_{\beta} + 1,4 \cdot Z_{\alpha}^2}{W^2}$$

Donde:

- n = Número mínimo de muestras, observaciones o réplicas que deben efectuarse en el estudio.
- Z_{α} = Valor correspondiente al nivel de confianza asignado (Riesgo de cometer un error tipo I). $Z_{\alpha} = 1.96$
- Z_{β} = Valor correspondiente al poder estadístico o potencia asignada a la prueba (Riesgo de cometer un error tipo II). $Z_{\beta} = 0.842$
- W = Rendimiento mínimo esperado, eficiencia mínima esperada o diferencia mínima observable. $W = 0.80$ (80%)

Reemplazando la ecuación propuesta se obtuvo que el número mínimo de duplicados fue 9, y en la presente investigación se decidió realizar 10 duplicados.

2.4 Método, técnicas e instrumentos de recolección de datos

2.4.1 Recolección de las hojas de *Prosopis pallida* (algarrobo)

Se recogieron hojas de *Prosopis pallida* (algarrobo) “algarrobo” en la zona de Carrizalillo “Algarrobo Rey” a 11 Km. de Cruceta en la Provincia de Tambogrande, departamento de Piura. Se escogieron las hojas de mejor calidad para luego ser trasladadas al laboratorio de Biología de la Universidad César Vallejo filial Piura. Perú.

2.4.2 Identificación y determinación de la especie de *Prosopis pallida*

Se tomó una parte del material vegetal recolectado, para luego trasladarlo al Herbario Piurense de la Universidad Nacional de Piura para su respectiva identificación, caracterización y certificación.

2.4.3 Obtención del extracto alcohólico a partir de las hojas de *Prosopis pallida* (algarrobo)

Para la obtención del extracto de *Prosopis pallida*, se seleccionaron las hojas de forma independiente desojándolas una por una para eliminar alguna especie extraña. Después fueron lavadas con agua de filtro y alcohol de 96° para su desinsectación, para luego ser secadas a temperatura ambiente durante 24 horas. Posteriormente se colocaron en papel Kraff y se llevaron a una estufa a 50 °C durante 4 horas.

Una vez secadas las hojas se procedió a la molienda del material vegetal con la ayuda de un molino casero y un mortero hasta que esté totalmente pulverizado. A partir del polvo obtenido se pesaron 100 g y se colocó en un frasco de vidrio color ámbar de capacidad de 1000 mL, luego se le agregó el solvente que consistió en etanol al 80% y se procedió a la obtención del extracto alcohólico mediante el método de maceración, con agitación constante durante 14 días.

Después de los 14 días de maceración el producto fue filtrado 5 veces, con papel filtro Whatman N° 2 y N° 1 con lo que se obtuvo el extracto filtrado. Dicho extracto se llevó a sequedad forzada, obteniéndose el extracto seco de *P. pallida* “algarrobo” el cual fue pesado y colocado en papel de aluminio quedando listo para su uso.

2.4.4 Preparación de las concentraciones del extracto alcohólico de hojas de *Prosopis pallida*

A partir del extracto seco de *P. pallida* (algarrobo) 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; 90 mg/mL y 100 mg/mL. Cada concentración fue colocada en un vial estéril y tapado herméticamente, siendo refrigerado hasta el momento de su utilización.

$$\text{mg de soluto} \times \text{ml de solución solvente} = \text{mg / ml}$$

2.4.5 Obtención del cultivo puro de *Enterococcus faecalis*.

En el presente estudio se utilizó la cepa bacteriana de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, la cual fue proporcionada por el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Señor de Sipán.

2.4.6 Reactivación de la cepa de *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*.

En la presente investigación se utilizó la bacteria de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. La cepa fue reactivada en agar Muller- Hinton y fueron cultivadas en anaerobiosis a una temperatura de 36 °C.

2.4.7 Preparación de discos de difusión

Se elaboraron con papel filtro Whatman los discos de difusión con un diámetro de 6 mm. Estos fueron esterilizados en un papel kraft y luego fueron embebidos por extracto alcohólico de *Prosopis pallida* y por los controles positivos utilizados.

2.4.8 Preparación de medios de cultivo para la determinación del efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Prosopis pallida*

Para evaluar las sustancias antibacteriana se prepararon medios de cultivo para la bacteria de *E. faecalis*, empleando agar Muller Hinton. Se pesó el agar en una balanza analítica y se colocó en dos matraces de 1000 ml agregándole 750 ml de agua destilada por cada matraz, se homogenizo el contenido y se procedió a autoclavar por 20 minutos. Una vez retirados los matraces de la autoclave, se esperó que la temperatura descendiera y luego se vertió el contenido en las placas Petri y se esperó que el medio solidifique, para proceder a rotular las placas.

2.4.9 Prueba de susceptibilidad antibacteriana mediante el Método de Difusión en discos

Una vez ya listo el inóculo de *E. faecalis* con un hisopo previamente esterilizado se sembró en placas Petri que contenían agar Mueller Hinton. Para realizar este procedimiento se introdujo el hisopo en el tubo que contenía la suspensión bacteriana, se humedeció y luego se presionó contra las paredes para eliminar el exceso de líquido, inmediatamente después se inoculó la superficie seca del agar Mueller Hinton por hisopado en tres direcciones opuestas entre sí para asegurar una completa distribución de la bacteria sobre la superficie del agar.

Después de 10 minutos se procedió a preparar los discos con las soluciones antibacterianas que se iban a emplear. Los discos fueron sumergidos en cada uno de los viales que contenían las concentraciones correspondientes y en los que tenían las sustancias de los controles positivos, una vez embebidos se colocaron sobre la superficie de los agares que contenían el inóculo bacteriano, con ayuda de una pinza estéril. Se dejó reposar las placas Petri ya lista durante 30 minutos, para después ser llevadas a incubación a 36 °C por 24 horas.

2.4.10 Determinación de la CMI y la CMB mediante Microdilución en caldo.

Esta técnica se utilizó para determinar la actividad inhibitoria y bactericida del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. La metodología consistió en preparar una microplaca con fondo en U de 96 pocillos a los cuales se le incorporo 100 µl de caldo Mullere Hinton en cada pocillo conteniendo 50 µl de suspensión bacteriana de *Enterococcus faecalis*. Posteriormente se procedió a agregar el agente microbiano a las concentraciones utilizadas 10 mg/ml, 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml, 70 mg/ml, 80 mg/ml, 90 mg/ml, 100 mg/ml y posteriormente se añadió 100 µl de clorhexidina 2% como control positivo y caldo Muller Hinton como control negativo. La mezcla se la sustancia se realizó con ayuda de una micropipeta previamente calibrada. Una vez preparada la microplaca se procedió a sellarla con cinta parafilm para luego ser incubada durante 24 horas a 36 °C en condiciones de anaerobiosis.

2.4.11 Lectura de resultados

2.4.11.1 Para el Método de Difusión en Disco

Pasado el tiempo de incubación, se examinó cada placa Petri y con ayuda de un vernier digital se procedió a medir los diámetros de las zonas de inhibición que se habían formado.

La lectura se realizó mediante la medición en milímetros de los halos de inhibición bacteriana formados por los discos que fueron embebidos con la concentración de extracto de *Prosopis pallida*. Los datos fueron colocados en la ficha de recolección de datos donde fueron comparados con los halos de inhibición formados por el control positivo y negativo.

2.4.11.2 Para el Método de Microdilución

Una vez incubada la microplaca, se determinó la mínima concentración del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* donde se observó el desarrollo de *Enterococcus faecalis*. La concentración menor en la cual se observó que no hubo desarrollo bacteriano, se determinó como la Concentración mínima inhibitoria (CIM). Luego se procedió a replicar cada concentración contenida en la microplaca en una placa Petri con agar Mueller Hinton para determinar la Concentración mínima bactericida que fue la menor concentración donde no se observó desarrollo bacteriano. Lo que indico crecimiento bacteriano fue la presencia de botón en el fondo de cada pocillo de la microplaca.

2.5 Métodos de análisis de datos

Los datos se van a registrar en una ficha de recolección de datos teniendo en cuenta las concentraciones volumétricas del extracto y el número de repeticiones realizadas en cada unidad de ensayo (placa Petri).

Se tuvo en cuenta los valores promedios de los halos de inhibición de cada concentración del extracto alcohólico de *Prosopis pallida*, donde se realizaron diez duplicaciones y cuatro repeticiones de la investigación; se utilizó el Software SPSS para realizar el análisis de datos.

Se realizó el Test no paramétrico de Joncheere Tepstra a los datos obtenidos determinándolo con la evolución de las concentraciones empleadas mediante distribución de acuerdo a la campana de gauss (Curva de Gauss o Distribucion normal). También se aplicó las pruebas estadísticas de normalidad de los datos obtenidos se utilizó la prueba de kolmogórov-smirnov y la prueba de Shapiro- Wilk necesaria para establecer la comparación entre las duplicaciones y los controles.

2.6 Aspectos éticos

Este trabajo de investigación se realizó teniendo en cuenta las normas dadas en la declaración de Helsinkicorea 2008 - principios éticos.

- “La investigación médica debe realizarse de manera que reduzca al mínimo el posible daño al medio ambiente”.

Antes de ser eliminados como como residuos biocontaminados, se procedió a esterilizar en autoclave los cultivos bacterianos utilizados durante el desarrollo de esta investigación con el fin de eliminar los microorganismos, para poder salvaguardar la integridad de todo el personal que entren en contacto con dichos residuos.

III. ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

1.1 Resultados en tablas y gráficos.

El presente estudio de tipo experimental “in vitro”, tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* “algarrobo” sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, en este estudio constituido por 50 placas petri para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), la concentración mínima bactericida (CMB) mediante la microdilución en caldo y la susceptibilidad bacteriana a través de la difusión de disco.

Los resultados obtenidos demuestran efecto antibacteriano del extracto de *Prosopis pallida* a las concentraciones de 80 mg/ml, 90 mg/ml y 100mg/ml sobre la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 formándose halos de medición promedio de 16 mm, 16.09 mm y 14.68 mm alrededor de cada concentración.

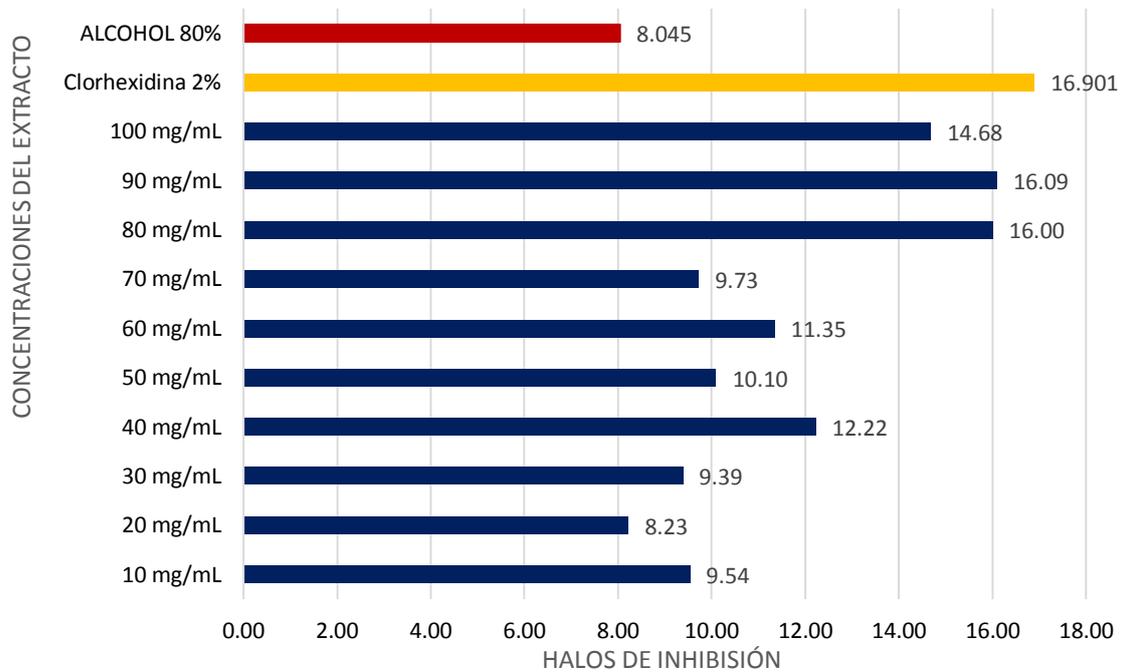
Los halos de inhibición del Etanol absoluto que fue utilizado como solvente del extracto tuvo un promedio de 8.05 mm, mientras que la Clorexidina al 2% presentó halos de inhibición promedio de 16.90 mm sobre la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

En la concentración del 10 mg/ml el extracto alcohólico de *Prosopis pallida* inhibió el crecimiento de la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, no habiendo crecimiento bacteriano en las concentraciones estudiadas, esto indica que la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto estudiado frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 es 10 mg/ml. Se observó crecimiento de botón en los posillos que contenían solo la suspensión bacteriana y el caldo de agar Muller-Hinton formando un botón promedio de 1.95 mm.

FIGURA 01: Muestra los promedios de los diámetros en milímetros de halos de inhibición del crecimiento de *E. faecalis* frente a las 10 concentraciones volumétricas (mg/ml) del extracto alcohólico de *Prosopis pallida*, controles positivo (clorhexidina al 2%) y el control negativo (alcohol 80%).

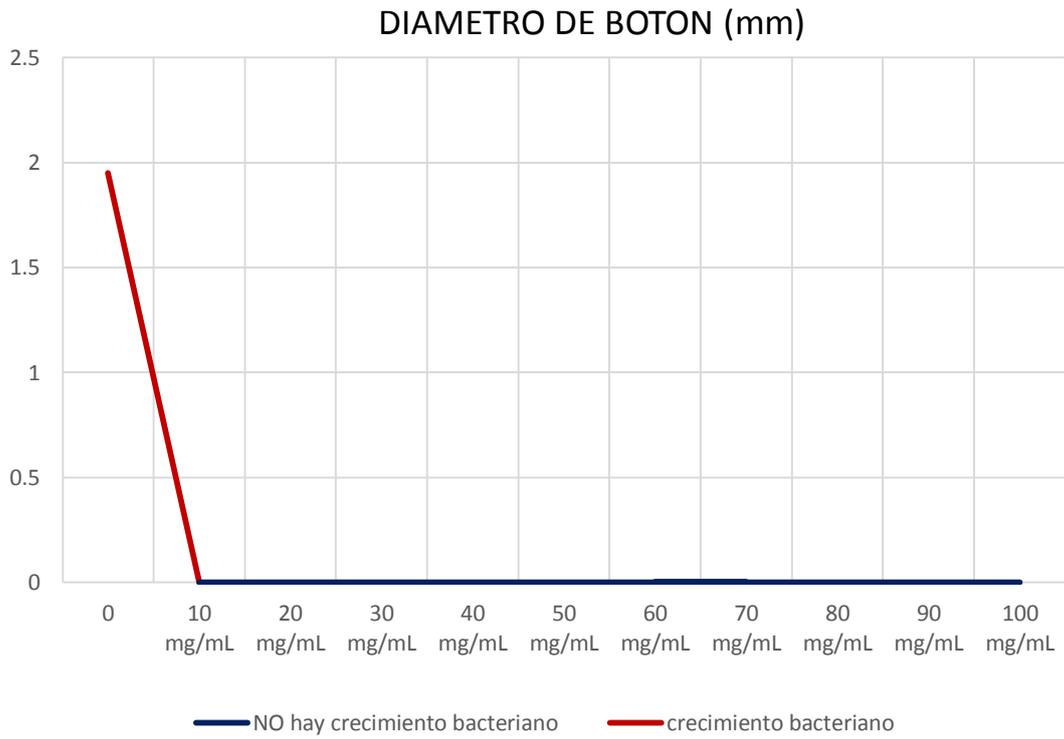
FIFURA 02: Muestra el crecimiento de *Enterococcus faecalis* frente a las 10 concentraciones utilizadas de extracto alcohólico de *Prosopis pallida* mediante el método de microdilución. Podiendo determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMI).

EXTRACTO ALCOHOLICO DE *Prosopis pallida*



Fuente: Fichas de recoleccion de datos.

Figura N°01 Efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Enterococcus faecalis*.



Fuente: Fichas de recolección de datos.

Figura N° 02 Concentración mínima bactericida (CMB) y la concentración mínima inhibidora (CMB) mediante.

IV. DISCUSIÓN

La presente investigación fue de tipo experimental y de corte trasversal, que tuvo como objetivo evaluar, el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, para ello se utilizaron diversas concentraciones del extracto desde 10 mg/mL hasta 100 mg/mL; como controles positivos a la clorhexidina al 2% y como control negativo al alcohol al 80%.

Los estudios con extractos de productos naturales van teniendo más importancia a través de los años debido a los beneficios y propiedades que presentan para mejorar el estado de salud de la población. Como se demostró en el trabajo de Castillo E. (2016) ⁴⁸, encontrando que el extracto etanólico de *Prosopis pallida* posee efectos bactericidas sobre *Streptococcus mutans* siendo esta la principal bacteria que produce la caries bucal.

Del mismo modo Flores C. (2016)¹³ encontró que el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Taya) presenta efecto inhibitorio sobre la bacteria de *Enterococcus faecalis*, encontrando resultados similares en nuestro estudio donde el extracto alcohólico de *Prosopis pallida* presenta efectos inhibitorios y bactericidas sobre la bacteria de *Enterococcus faecalis*, siendo considerada como la principal bacteria relacionada con el tratamiento endodóntico, por ser un organismo persistente en las lesiones periapicales, y es comúnmente hallada en un alto porcentaje de fracasos de tratamientos endodónticos.

El efecto antibacteriano del extracto *Prosopis pallida* podría deberse a que se ha utilizado un solvente orgánico (alcohol) el cual presenta efectos antibacterianos y permite la preservación de los compuestos biológicamente activos.

En la presente investigación se utilizó el *Prosopis pallida* (algarrobo) debido que es una planta de abundante en la región Piura, y sus propiedades aplicables para la salud bucal son pocas o no han sido estudiadas, por tal motivo la necesidad de investigar a este importante producto natural y sus probables propiedades podría ampliar una serie de estudios y aplicaciones en estomatología.

En la presente investigación se utilizó el método de difusión en discos, para evaluar la susceptibilidad antibacteriana. En este estudio en las concentraciones de 80 mg/mL y 90 mg/MI se encontró mayor halo de inhibición con un promedio de 16 mm y 16.09 mm respectivamente, y el menor promedio de halo de inhibición en las concentraciones de 20 mg/mL y 30 mg/mL respectivamente, por lo que a mayor concentración del extracto existe un mayor efecto antibacteriano.

Sin embargo en unas concentraciones mayores se observó menor efecto antibacteriano y pudo deberse a las limitaciones que se presentaron durante la investigación, como fue el tiempo de preparación del medio de cultivo que por la resequedad que presento dificulto la evaporación de la sustancia antibacteriana que fue el extracto alcohólico de *Prosopis pallida* dando lugar a la formación de halos de inhibición pequeños, además otra causa que pudo haber ocasionado estos resultados pudo deberse la exposición a la luz de los extractos de *Prosopis pallida* que pudo haber producido la pérdida de algunos principios activos, la falta de disponibilidad del laboratorio fue una complicación que pudo interferir en estos resultados.

A pesar de todas estas limitaciones el extracto alcohólico de *Prosopis pallida* presento efecto inhibitorio y bactericida sobre la cepa de *Enterococcus faecalis* a una concentración de 80 y 90 mg/ml dando un halo de inhibición promedio de 16 y 16.09 mm respectivamente.

Estadísticamente no se encontró diferencia significativa entre las concentraciones del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* y el control positivo que fue glutanato de Clorhexidina al 2%, ya que esta también inhibió el crecimiento de *Enterococcus faecalis*, formando un halo promedio de 16.9 mm, mientras que para el control negativo que fue alcohol al 80% se formó un halo de inhibición promedio de 8.05 mm. El análisis estadístico demostró que no existe diferencia significativa entre las concentraciones del extracto de *Prosopis pallida* y glutanato de Clorhexidina pero si una diferencia con el control disolvente que fue alcohol al 80%.

Thakur R. et al (2009)⁶, encontró resultados similares a los de esta investigación, utilizando *Prosopis juliflora*, donde encontró actividad antibacteriana en 100 mg/mL inhibiendo significativamente el crecimiento de las bacterias *Enterococcus faecalis*, *Echerichia coli*, *Bacillus subtilis*, etc. asimismo Bussman R. (2010)⁷ investigó la actividad antibacteriana de plantas medicinales en el norte del Perú, concluyó que extracto etanólico de *Prosopis pallida* presenta actividad antibacteriana sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* formando un halo de inhibición de 15 mm de diámetro.

El estudio fotoquímico de las hojas de *Prosopis pallida* determino que esta especie presenta abundante cantidad de compuesto fenólicos, taninos y flavonoides. Probablemente estos compuestos tienen propiedades antibacterianas y antifúngicas que su acción provocaría lesiones en la membrana citoplasmática de la bacteria. ¹³

Además las propiedades antibacterianas de estos compuestos sobre *Enterococcus faecalis* pueden estar asociada a la gran concentración de compuestos como los flavonoides quienes actúan como metabolitos en el crecimiento y reproducción de las plantas, presentándose como

agentes protectores mediante un mecanismo de defensa; los taninos cuya acción defensiva privan a los microorganismos del medio apropiado para que puedan desarrollarse y los flavonoides que son pigmentos naturales en los vegetales con propiedades antibacterianas quienes van a proteger a la planta del daño producido por agentes oxidantes como son los rayos ultravioleta, contaminación ambiental, etc. ¹⁴

Los mecanismos que pueden ser responsables de la toxicidad fenólica a los microorganismos incluyen la inhibición de la enzima beta - glucanosa por los compuestos oxidados, probablemente por la reacción de los grupos sulfhidrilo o por las interacciones no específicas con proteínas.⁴⁹

Cárdenas C. (2017)¹⁴ investigó los extractos etanólicos de hojas, vainas y semillas de *Prosopis pallida* utilizando el método de difusión en discos, encontrando que sólo las hojas mostraron actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* formaron un halo de inhibición de 18 mm, más no presentó actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis*. La susceptibilidad del *Enterococcus faecalis* es debido a que esta bacteria es Gram positiva así como los *Staphylococcus aureus* usado en el estudio de Cardenas C. (2017)¹⁴ donde además las comparó con *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, sin actividad bactericida.

Probablemente esto se debe a que *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* son bacterias Gram negativas, esto se puede deber a que estas bacterias presentan doble membrana celular; una pared externa y otra citoplasmática, las cuales son muy delgadas formando una barrera para la fácil penetración de moléculas antimicrobianas, en cambio las bacterias gram positivas presentan una pared de peptidoglicano y una membrana lipídica mucho más gruesa confiriéndole una gran resistencia frente a agentes antimicrobianos.⁵⁰

Para obtener la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la mínima bactericida (CMB), se utilizó una microplaca de 96 pocillos con fondo en U a los cuales se le incorporo 100 µl de caldo Mullere Hinton en cada pocillo conteniendo 50 µl de suspensión bacteriana de *Enterococcus faecalis* donde se observó que sólo hubo crecimiento bacteriano en la microdilución de la cepa y el caldo de agar con formación de un botón promedio de 1.95 mm y a partir de 10 mg/mL no se observó crecimiento bacteriano, determinándose que para este estudio la concentración mínimo inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) va estar por debajo de los 10 mg/ml.

Sin embargo, el tamaño y el método de preparación del inóculo, así como, el medio de crecimiento y tiempo de incubación pueden interferir en los valores de la concentración mínimo inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB).

Dentro de las limitaciones del presente trabajo in vitro, el extracto alcohólico de *Prosopis pallida* mostró actividad antibacteriana sobre el *Enterococcus faecalis*, abriendo nuevas posibilidades de realizar trabajos posteriores en el campo endodóntico, utilizando las hojas de esta planta, ya que la presencia de compuestos fotoquímicos pueden presentar efectos antibacterianos que podrían garantizar su uso terapéutico para el tratamientos de conductos dentarios en el que sea indicado como un irrigante a base de extractos naturales..

V. CONCLUSIONES

1. El extracto alcohólico de *Prosopis pallida* tiene efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, el cual se determinó mediante los métodos de difusión en disco y el método de microdilución.
2. La concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fue menor a 10 mg/ml a través del método de microdilución en caldo.
3. La concentración mínima bactericida (CMB) del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fue menor a 10 mg/ml a través del método de microdilución en caldo.
4. El extracto alcohólico de *Prosopis pallida* presentó efecto antibacteriano *in vitro* sobre la cepa de *Enterococcus faecalis* a las concentraciones de 80 mg/ml y 90 mg/ml con halos de inhibición promedio de 16 mm y 16.09 mm respectivamente

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones con otros extractos de hojas de *Prosopis pallida*, para estudiar, el mejor efecto antibacteriano.
2. Realizar estudios sobre la composición química de las hojas de *Prosopis pallida* para determinar cuál de sus componentes tiene su capacidad antimicrobiana.
3. Realizar estudios de toxicidad del extracto alcohólico de *Prosopis pallida*.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarez C. Seminario: Microbiología en Endodoncia. Valparaíso: Facultad de Odontología, Universidad de Valparaíso; 2013.
2. Aguilera Muñoz F. Seminario: Microbiología de los conductos radiculares. Valparaíso: Facultad de Odontología, Universidad de Valparaíso; 2013.
3. Arias Moliz T. Susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* a soluciones irrigadoras de uso endodóntico. [Tesis doctoral en Odontología] Granada: Facultad de Odontología, Universidad de Granada; 2009.
4. Panchi Medina L. Efecto antimicrobiano de los extractos de las hojas de tomillo (*Thymus vulgaris*) y de las pepas de ajo (*Allium sativum*) sobre las cepas de *Enterococcus faecalis* estudio in vitro. [Tesis para título profesional de cirujano dentista]. Quito: Facultad de Odontología, Universidad Central Del Ecuador; 2016.
5. Zárate A. Efecto in vitro antibacteriano del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* "Tara" sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo en el año 2014. Pueblo Cont. 2015;26(1):15-23.
6. Thakur R., Singh R., Saxena P., Mani A. Evaluation of Antibacterial Activity of *Prosopis Juliflora* (SW.) DC. Leaves. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2009;11 (3): 182-188.
7. Bussmann R, Glenn A, Sharon D. Antibacterial activity of medicinal plants of Northern Perú - can traditional applications provides leads for modern science. Indian Journal of Traditional Knowledge. 2010
8. Delle Vedove T., et al. Antimicrobial activity of 2% chlorhexidine gluconate, 1% sodium hypochlorite and paramonochlorophenol combined with furacin against *S. aureus*, *C. albicans*, *E. faecalis* and *P. aureginosa*. Odonto ciênc. 2010; 25 (2): 174-177.
9. Corzo A.G; Bravo E.; Serrano F. y Vattuone M.A. Actividad antibacteriana de extractos de hojas de *Prosopis alba*, Griseb, frente a cepas patógenas humanas y fitopatógenas. Quebracho. 2009; 17 (1,2): 106-114.

10. Álvarez M. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Propolis de apis mellífera* (propóleo) frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. [Tesis para obtener el grado de maestro en Estomatología] Trujillo: Escuela de Postgrado Medicina, Universidad Privada Antenor Orrego; 2014.
11. Palomino J, et al. Efectividad de tres irrigantes sobre el número de colonias de *Enterococcus faecalis* en la preparación de conductos radiculares in vitro. KIRU. 2015 ene-jun; 12 (1): 8-12.
12. Sosa Flores J. Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) y del agua ozonizada sobre *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista] Pimentel: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Señor de Sipan; 2015.
13. 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 para optar el grado de maestra en estomatología] Trujillo: Escuela de posgrado, Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
14. Cárdenas C. Actividad antimicrobiana y antioxidante del extracto etanólico de *Prosopis pallida* "algarrobo". [Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico] Lima: Escuela de Postgrado de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
15. Flor Caravia E. Evaluacion de medios de cultivo para la micropropagación del algarrobo (*Prosopis pallida*) HBK-Quito-Pichincha. [Tesis para la obtención de título profesional] Ecuador: Universidad central del Ecuador, Facultad de Ciencias agrícolas; 2013.
16. Desert N. Hoja Botánica: Algarrobo. Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit (GIZ) GmbH, Lima; 2012.
17. Prokopiuk D., Cruz G., Grados N., Garro O., Chiralt A. Estudio comparativo entre frutos de *Prosopis alba* y *Prosopis pallida*. Multequina. 2000; 9 : 35 – 45.

18. Alzate L., Arteaga D, Jaramillo Y. Propiedades farmacológicas del Algarrobo (*Hymenaea courbaril Linneaus*) de interés para la industria de alimentos. Lasallista. 2008; 5 (2) : 100 -111.
19. Bermello S., García D. Métodos de extracción para los compuestos esenciales del algarrobo (*Prosopis Pallida*) y su posible aplicación a nivel industrial. [Tesis para obtención de título de Ingeniería Química] Portoviejo – Ecuador: Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Matemáticas Físicas y Químicas.
20. 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 optar el grado académico de bachiller en farmacia y bioquímica] Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de farmacia y Bioquímica.
21. Garcia J.,Picazo J. Compendio de microbiología médica. Barcelona: Harcourt; 2000.
22. Negroni M. Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. 2a ed. Buenos Aires: Panamericana; 2009.
23. Soares I., Goldberg F.; Frydman J. Endodoncia: técnicas y fundamentos Buenos Aires: Panamericana; 2002.
24. Valle Ramírez K. Microbiología Endodoncia. [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista] Lima: Facultad de Estomatología, Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2008.
25. Cohen K., Hargreaves S. Vías de la pulpa. 8a ed. Barcelona: Elsevier ; 2011.
26. Torabinejad M.; Walton R. Endodoncia: principios y práctica. 4a ed. Barcelona: Elsevier; 2010.
27. Pérez R., Díaz V., Algar J., Valencia O., Estévez R., Cisneros R. Actualización en microbiología endodóntica. Cient. Dent. 2013; 10(1): 27-39.

28. Pardi G., Guilarte C., Cardozo I., Briceño E., Detención de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. Acta Odontologica Venezolana.[Revista en línea] 2009 [Fecha de acceso 20 de febrero del 2017]; 47(1): 110-121. URL disponible en: http://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/1/enterococcus_faecalis_dientes_fracaso_tratamiento_endodontico.asp
29. Acosta S. Enterococcus. CODEINP.2005.
30. Covo E., Gutiérrez G., Palacios L. Prevalencia de *Enterococcus faecalis* en conductos radiculares de pacientes con patología pulpar y periapical. Colombia. Facultad de Estomatología, Universidad de Cartagena; 2014.
31. Garcia Villegas R. Capacidad antibacteriana del yoduro de potasio yodado al 2% como solución antiséptica del conducto radicular en pacientes con piezas necróticas. [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista] Lima: Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
32. Rodríguez-Niklitschek C y col. Implicancias clínicas de la contaminación microbiana por *Enterococcus faecalis* en canales radiculares de dientes desvitalizados: Revisión de la literatura. Odontológica Mexicana. 2015. 19 (3): 181-186
33. Silva N. Presencia de *Enterococcus faecalis* en dientes con diagnóstico de periodontitis apical asintomática. Chile: Facultad de Odontología, Universidad de Chile; 2011.
34. Balandrano F. Soluciones para Irrigación en Endodoncia: Hipoclorito de Sodio y Gluconato de Clorhexidina. [Revista en línea] 2004 [Citado el 22 de abril del 2017]. Disponible en: <http://colegiodentistas.org/revista/index.php/revistaodontologica/articulo/view/34/70>
35. Heredia J, Rodríguez S. Uso de la Clorhexidina en Endodoncia. RAOA. 2008; 93 (3): 245-248
36. García P. Evaluación de la presencia de bacterias en la sutura de seda con y sin el uso de un enjuague bucal a base de clorhexidina.

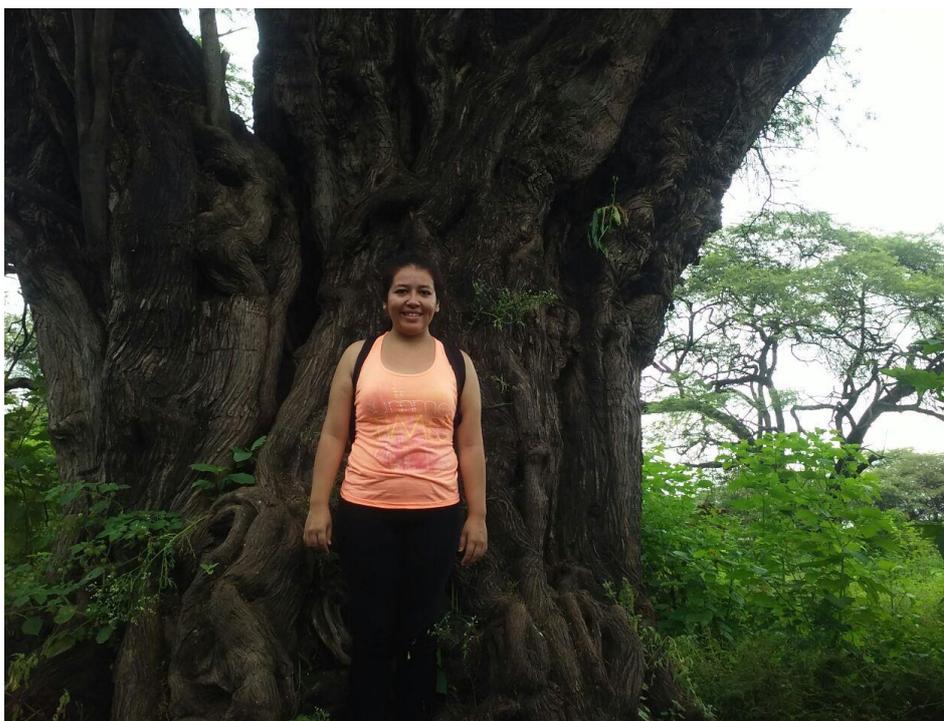
- [Tesis para la obtención de título profesional de cirujano dentista].
Veracruz: Universidad Veracruzana, Facultad de Odontología; 2011.
37. Maya J, Ruiz S , Pacheco R , Valderrama S , Villegas M. Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. *Infectio*. 2011; 15(2): 98-107.
 38. Del Castillo G., Perea B., Labajo E., Santiago A., García F. Lesiones por hipoclorito sódico en la clínica odontológica: causas y recomendaciones de actuación. *Cient Dent* 2011;8 (1): 71-79.
 39. Cárdenas A., Sánchez S., Tinajero C., González V., Baires L. Hipoclorito de sodio en irrigación de conductos radiculares: Sondeo de opinión y concentración en productos comerciales. *Revista Odontológica Mexicana* 2012;16 (4): 252-258.

 40. Bobbio S. Soluciones irrigantes en endodoncia. [Tesis para la obtención de título profesional de cirujano dentista]Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia, Facultad de Estomatología; 2009.

 41. Carrión A., García C. Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica. [Tesis para la obtención de título profesional de Bioquímica y Farmacéutica]. Ecuador: Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas; 2010.
 42. Gonzales Villa A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. [Tesis para la obtención de título profesional] Bogotá: Universidad de Colombia sede Manizales, Facultad de Ingeniería Química; 2004.
 43. Taroco R.,Seija V., Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Chapter*. 2006; 36: 663-671
 44. Malbrán C. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. *MIC testing*. 2012; 32 (2): 1-43
 45. Horna G., Silva M., Vicente W., Tamariz J. Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Med Hered*. 2005; 16 (1): 39-45.

46. Reyes F., Palou, E. López A. Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana y de determinación de los componentes químicos de los aceites esenciales. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*. 2014; 8 (1): 68-78.
47. Hernández R., Fernández C. Metodología de la investigación. 4th ed. México: MC Graw Hill; 2006.
48. Castillo E. efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas y vainas de *Prosopis pallida* sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Lactobacillus casei* (ATCC 393). [Tesis para la obtención de título profesional de pregrado] Piura: Universidad César vallejo, Facultad de Estomatología; 2016.
49. Mason T, Wasserman B. Inactivation of red beet beta-glucan synthase by native and oxidized phenolic compounds. *Phytochemistry*. 1987; 26(8): 2197–2202.
50. Tajbakhsh S, Barmak A, Vakhshiteh F, Gharibi M. *In vitro* Antibacterial Activity of the *Prosopis Juliflora* Seed Pods on Some Common Pathogens. *J Clin Diagn Res*. 2015; 9(8): DC13-5

ANEXOS



ANEXO 01: Árbol de *Prosopis pallida* en el caserío de Carrizalillo a 11 Km de Cruceta, Distrito de Tambogrande – Departamento de Piura.



ANEXO 02: Preparación del material vegetal *Prosopis pallida*.

- 1: Recolección del material vegetal *Prosopis pallida*.
- 2: Selección de las hojas de *Prosopis pallida* retirando especies extrañas.
- 3: Secado de las hojas de *Prosopis pallida* a temperatura ambiente.
- 4: Secado se las hojas de *Prosopis pallida* en horno a 50°.



ANEXO 03: Molienda del material vegetal.



ANEXO 04: Maceración del material vegetal de *Prosopis pallida*.



ANEXO 05: Proceso de obtención del extracto seco de *Prosopis pallida*.

- 1: Decantado del material macerado de *Prosopis pallida*.
- 2: Filtración del material macerado de *Prosopis pallida*.
- 3: Filtración del material macerado de *Prosopis pallida* con papel filtro.
- 4: Secado a ventilación forzada del extracto de *Prosopis pallida*.

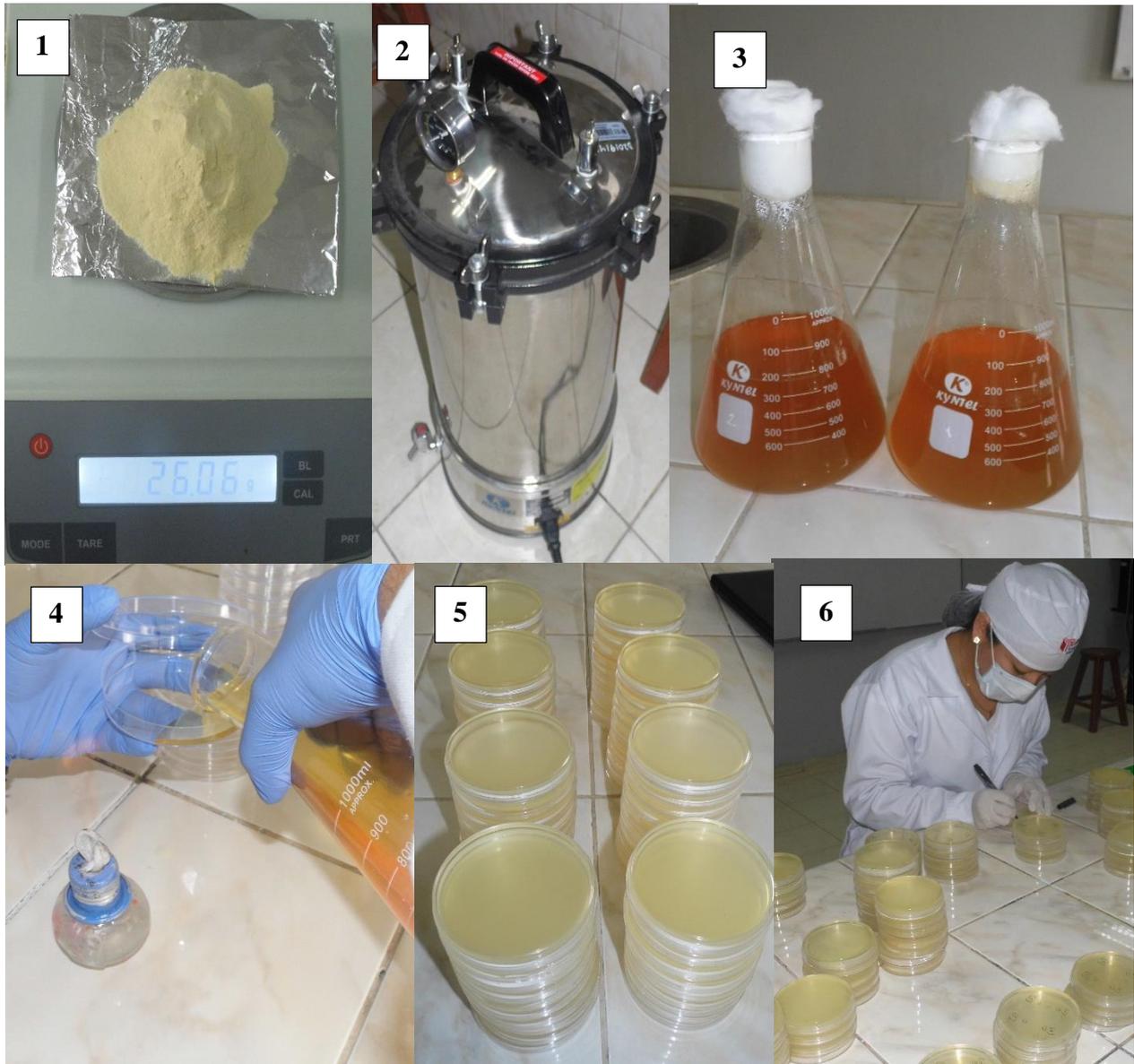


ANEXO 06: Preparación de las concentraciones del extracto alcohólico de *Prosopis pallida*

1: Extracto de *Prosopis pallida*

2: Concentraciones de 10 – 100 mg/ml del extracto de *Prosopis pallida*.

3: Protección de los viales que contienen los extractos con papel aluminio.



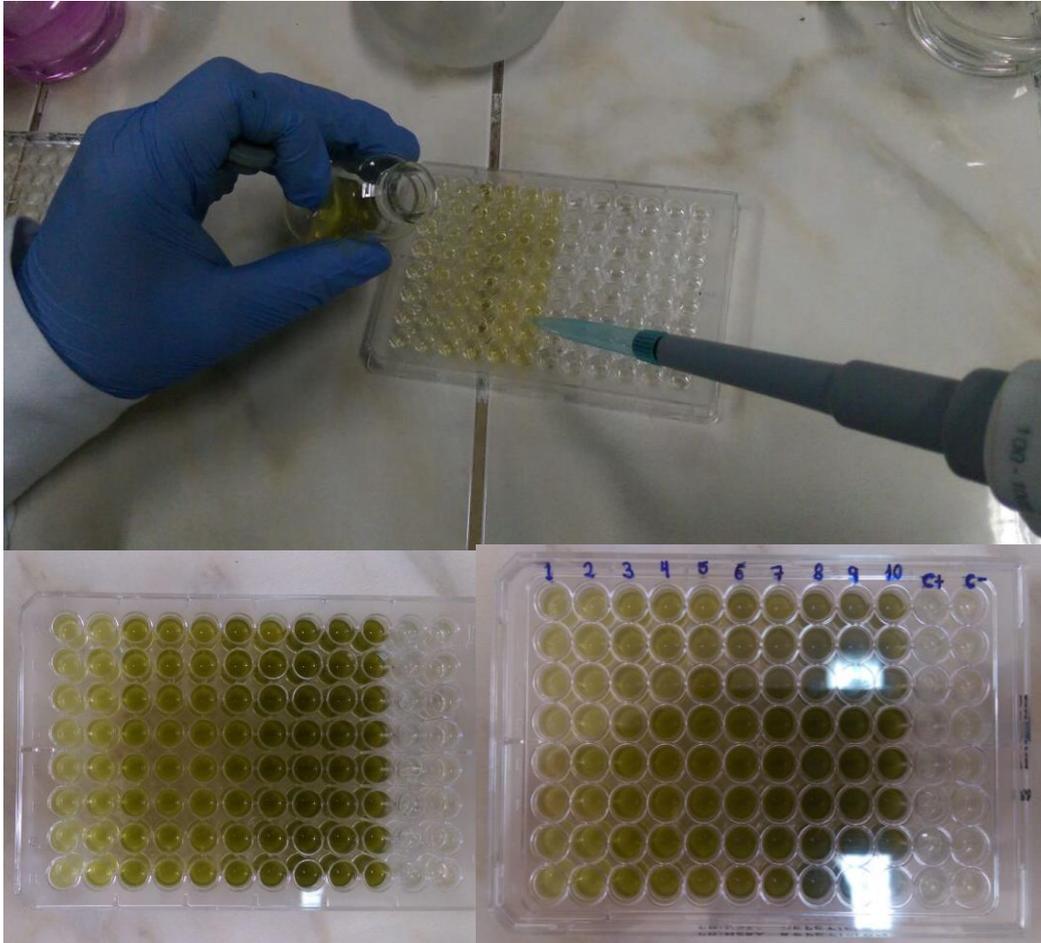
ANEXO 07: Preparación de medios de cultivo para la determinación del efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *Prosopia pallida*.

- 1: Pesado del Agar Muller Hinton.
- 2: Autoclavado del Agar Muller Hinton.
- 3: Agar Muller Hinton.
- 4: Sirviendo el Agar Muller Hinton en las placas petri.
- 5: Solidificación del Agar Muller Hinton.
- 6: Rotulación de las placas petri.

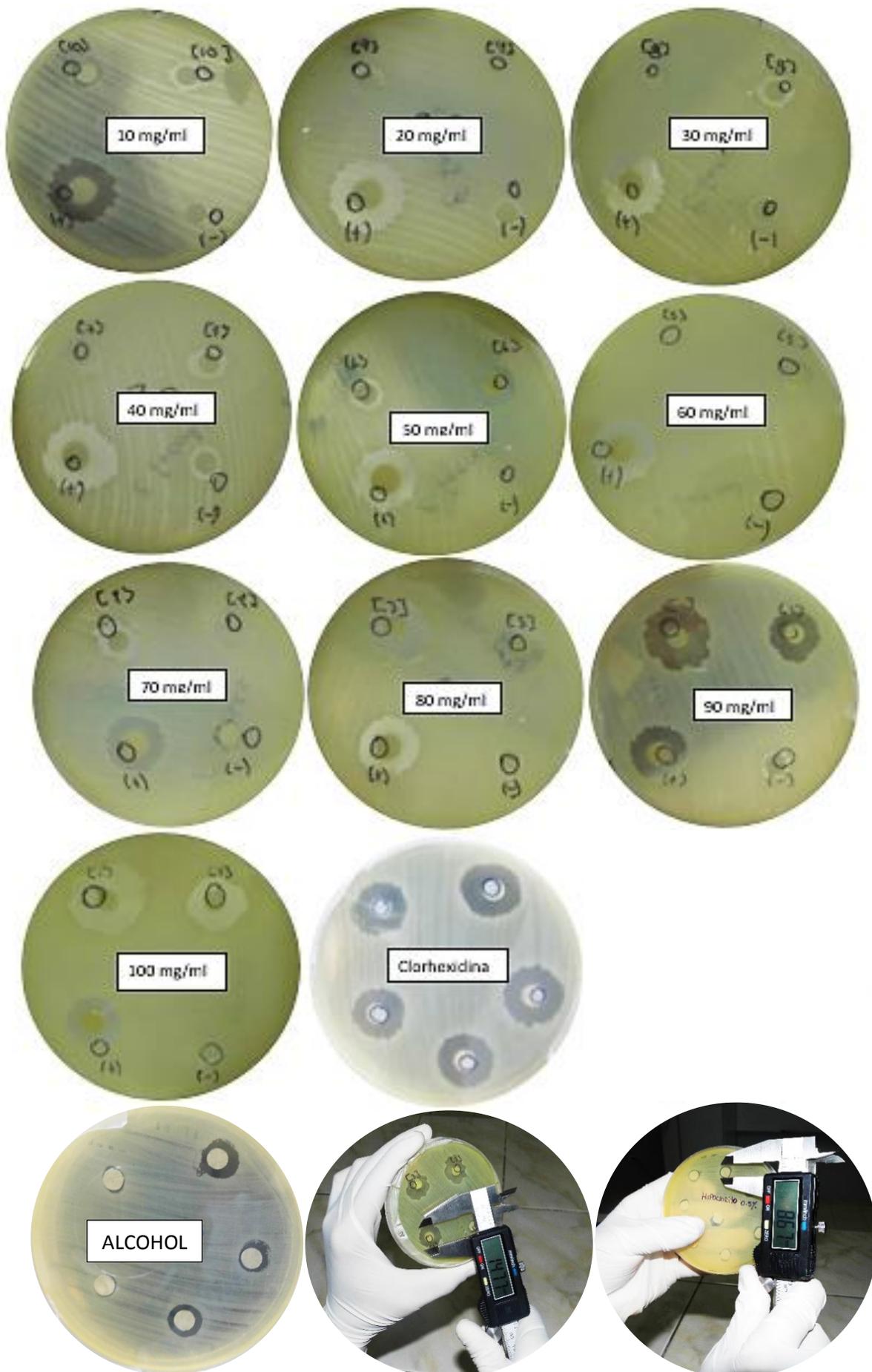


ANEXO 08: Siembra del inculo de *Enterococcus faecalis* sobre la superficie de las placas Petri con agar Muller Hinton.

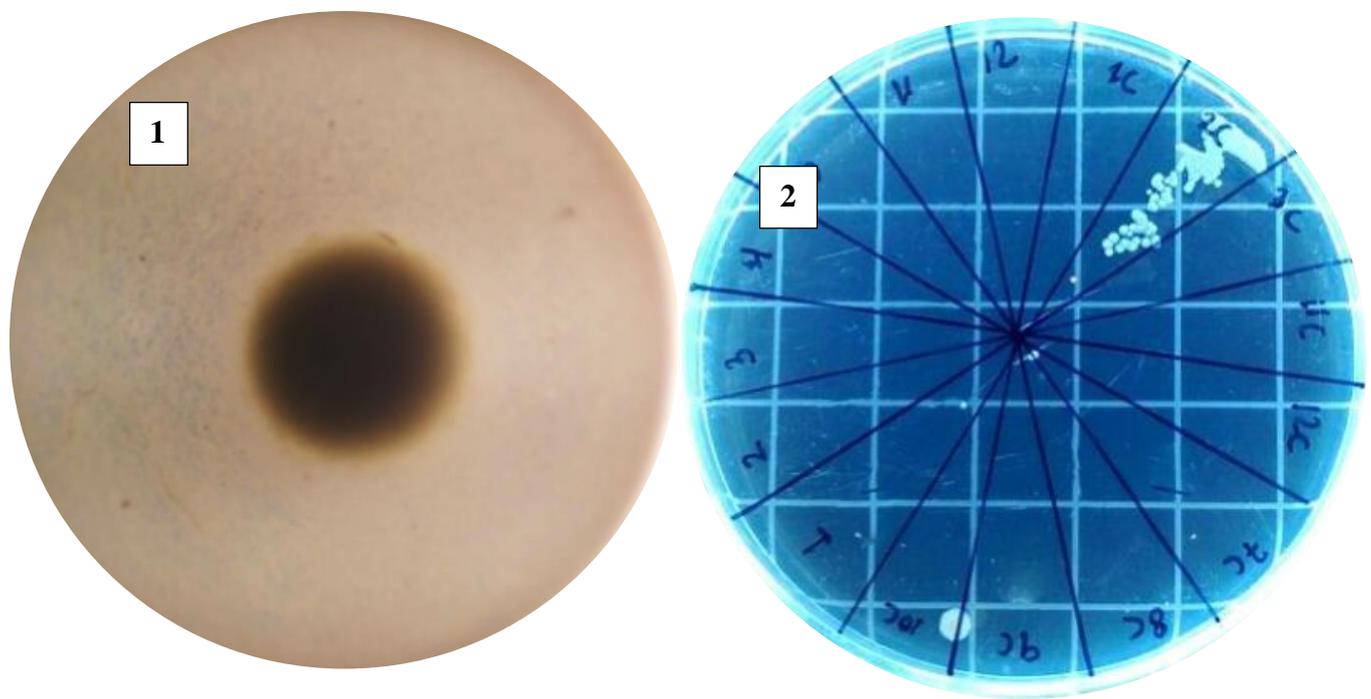
- 1: Materiales que se utilizaron para la siembra del inculo.
- 2: Hisopo conteniendo la suspensión bacteriana.
- 3: Siembra del inculo sobre la superficie de la placa Petri.
- 4: Incubación a 36°C de las placas Petri con Agar Muller Hinton.



ANEXO 09: Evaluación de las concentraciones del extracto de *Prosopis palida* mediante el método de microdilución en caldo.

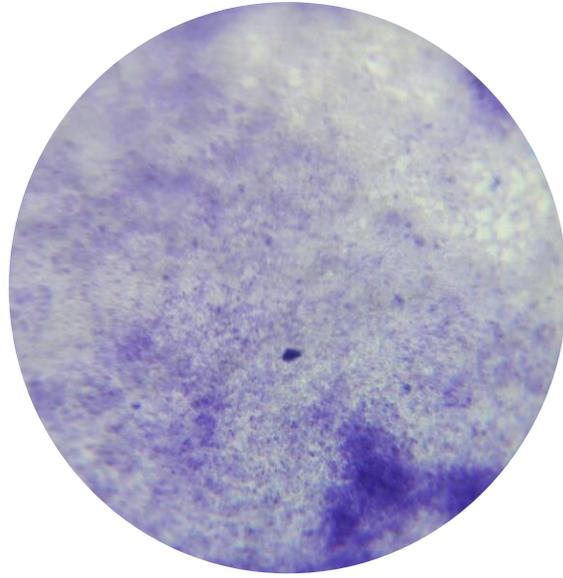


ANEXO 10: Medición de los halos de inhibición de las concentraciones de *Prosopis pallida*, control positivo y negativo



ANEXO 11: Lectura de resultados de micro dilución en caldo.

- 1: Formación de botón en la concentración de suspensión bacteriana.
- 2: Siembra de la microdilución en placa Petri para ver el crecimiento bacteriano.



ANEXO 12: Tinción Gram negativa de *Enterococcus faecalis*

DIÁMETRO DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS													
EXTRACTO ALCOHÓLICO DE <i>Prosopis pallida</i> (Algarrobo)													
Concentraciones	REPLICACIONES										PROMEDIO	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		Clorhexidina 2%	Alcohol 80%
10 mg/ml	7.96	8.39	11.52	7.44	7.35	9.77	8.51	13.86	12.27	8.36	9.54	17.86	7.98
20 mg/ml	10.16	8.57	9.15	7.04	7.51	8.07	7.51	9.23	8.51	6.54	8.23	18.30	8.20
30 mg/ml	9.49	7.22	10.21	8.72	9.7	10.17	10.55	10.43	9.6	7.85	9.39	17.53	8.40
40 mg/ml	11.17	10.29	12.16	9.43	9.32	10.08	22.12	10.47	15.36	11.84	12.22	17.17	7.94
50 mg/ml	9.56	9.09	10.17	12.36	9	13.43	7.62	9.07	11.66	9	10.10	16.42	8.09
60 mg/ml	15.15	8.43	13.18	14.43	8.06	11.54	9.37	12.65	11.16	9.48	11.35	17.33	8.03
70 mg/ml	10.2	11.42	9.28	7.32	8.88	10.08	10.77	10.21	9.66	9.51	9.73	16.17	8.81
80 mg/ml	10.7	15.26	17.82	16.97	18.07	12.16	17.29	14.56	15.55	21.66	16.00	16.37	8.12
90 mg/ml	19.33	19.75	12.22	13.1	14.11	15.04	13.41	14.85	18.64	20.47	16.09	16.68	8.27
100 mg/ml	12.66	13.35	12.66	20.17	16.18	12.52	11.69	14.96	16.07	16.57	14.68	15.18	6.61

Fuente:
Fichas de recolección de datos.

ANEXO 13: Medida del halo de inhibición

del extracto alcohólico de *Prosopis pallida*, sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

ANEXO N° 14. Promedios del diametro de inhibición del extracto alcoholico de *Prosopis pallida* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

DIÁMETRO DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS			
EXTRACTO ALCOHOLICO DE <i>PROSOPIS PALLIDA</i> (Algarrobo)			
CONCENTRACIONES	PROMEDIO	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
		Clorhexidina 2%	ALCOHOL 80%
10 mg/mL	9.54	17.86	7.98
20 mg/mL	8.23	18.30	8.20
30 mg/mL	9.39	17.53	8.40
40 mg/mL	12.22	17.17	7.94
50 mg/mL	10.10	16.42	8.09
60 mg/mL	11.35	17.33	8.03
70 mg/mL	9.73	16.17	8.81
80 mg/mL	16.00	16.37	8.12
90 mg/mL	16.09	16.68	8.27
100 mg/mL	14.68	15.18	6.61
PROMEDIO		16.90	8.05

Fuente: Fichas de recoleccion de datos.

Se muestran los promedios del diámetro del halo de inhibición del extracto alcoholico de *Prosopis pallida* y de los controles positivos (Clorhexidina al 2%) y controles negativos (Alcohol al 80%) frente a la bacteria de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

ANEXO N° 15: Diámetro de botón de crecimiento de *Enterococcus faecalis* frente al extracto alcohólico de *Prosopis pallida* por el método de microdilución.

DIÁMETRO DE BOTÓN MEDIANTE MICRODILUCIÓN EN CALDO	
EXTRACTO “ <i>Prosopis Pallida</i> “	
CONCENTRACIONES	PROMEDIO
0 mg/ml	1.95 mm
10 mg/ml	-
20 mg/ml	-
30 mg/ml	-
40 mg/ml	-
50 mg/ml	-
60 mg/ml	-
70 mg/ml	-
80 mg/ml	-
90 mg/ml	-
100 mg/ml	-

Fuente: Fichas de recolección de datos

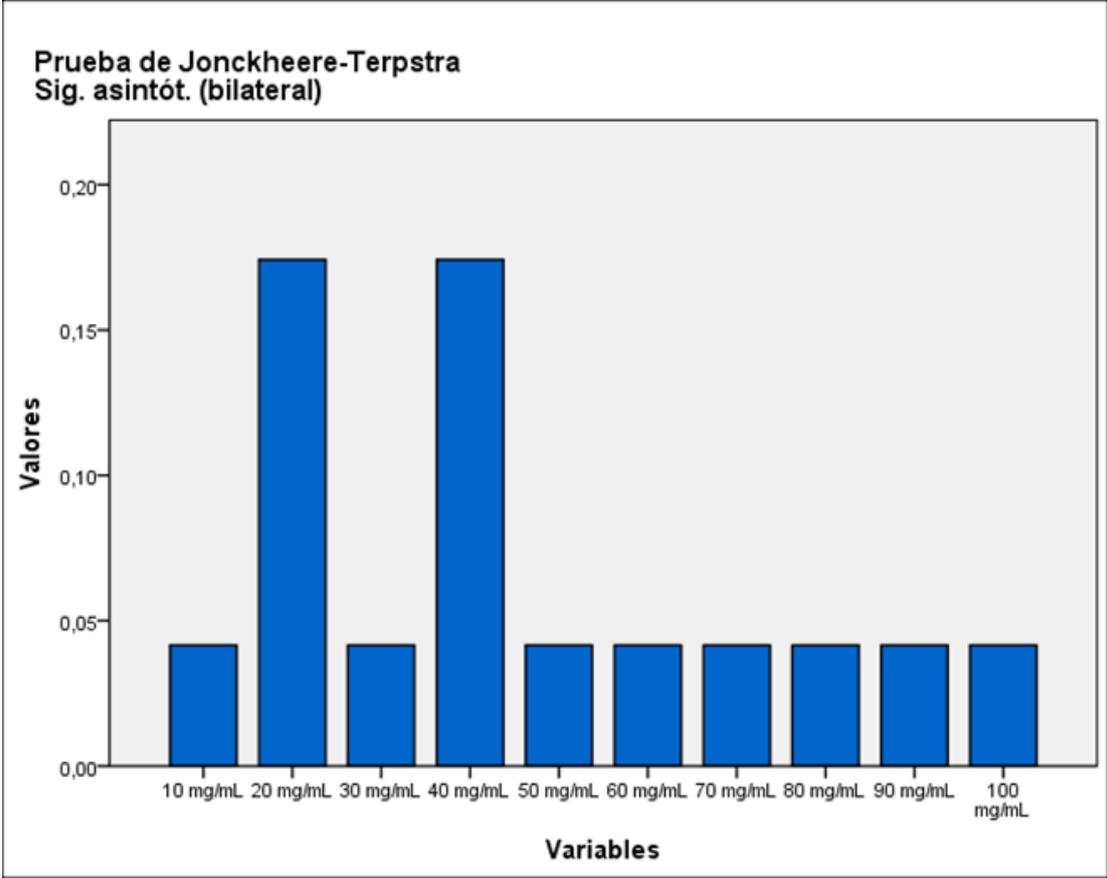
- 0 = Control negativo de crecimiento bacteriano
- = Ausencia de crecimiento bacteriano

Diámetro de botón de crecimiento y ausencia de crecimiento bacteriano frente a 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 100 mg/ml del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* mediante el método de microdilución, observando que no hubo crecimiento bacteriano a diferencia del control negativo bacteriano donde se formó un botón de 1.95 mm.

Prueba de Jonckheere-Terpstra^a

	10 mg/mL	20 mg/mL	30 mg/mL	40 mg/mL	50 mg/mL	60 mg/mL	70 mg/mL	80 mg/mL	90 mg/mL	100 mg/mL
Número de niveles en Grupos	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
N	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Estadístico de J-T observado	,000	1,000	,000	1,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
Media del estadístico J-T	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000
Desviación típica del estadístico de J-T	1,472	1,472	1,472	1,472	1,472	1,472	1,472	1,472	1,472	1,472
Estadístico de J-T tipificado	-2,038	-1,359	-2,038	-1,359	-2,038	-2,038	-2,038	-2,038	-2,038	-2,038
Sig. asintót. (bilateral)	,042	,174	,042	,174	,042	,042	,042	,042	,042	,042

ANEXO 16: Test no paramétrico de Joncheere Tepstra, encontrando que para establecer valores significativos más estables a partir de 50 mg/ml hasta los 100 miligramos, sin embargo, los valores por debajo de 50 mg/ml tiene resultados no concluyentes, por lo que el efecto inhibidor bacterianos estaría en torno a los 50 mg/ml de *Prosopis pálida*.



ANEXO 17: Test no paramétrico de Joncheere Tepstra, la variable de las concentraciones de *Prosopis pálida* no presenta en todas sus versiones una distribución de acuerdo a la campana de gauss (Curva de Gauss o Distribucion normal), por lo que, no se pudo realizar el análisis de varianza pertinente.

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
10 mg/mL	,378	5	,019	,769	5	,044
20 mg/mL	,389	5	,013	,697	5	,009
30 mg/mL	,421	5	,004	,668	5	,004
40 mg/mL	,270	5	,200*	,856	5	,215
50 mg/mL	,337	5	,066	,820	5	,117
60 mg/mL	,265	5	,200*	,837	5	,158
70 mg/mL	,360	5	,033	,754	5	,033
80 mg/mL	,254	5	,200*	,847	5	,185
90 mg/mL	,230	5	,200*	,850	5	,195
100 mg/mL	,219	5	,200*	,932	5	,611

ANEXO 18: Prueba de Normalidad de las Variables



ANEXO 19: Muestra de *Prosopis pallida* para su respectiva certificación.

Constancia N° 005-2017

El que suscribe, Dr. J. Manuel Charcape Ravelo, docente del Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Piura, Director de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias y Director del Herbarium Piurense, deja

CONSTANCIA

Que la Srta. Stephany Lizbeth Alvarado Saavedra, estudiante del 10^{no} ciclo de la Escuela de Estomatología la Universidad César Vallejo – Piura, identificado con DNI N° 71486676, con domicilio legal en Asentamiento Humano José María Arguedas Mz. H Lote 30 – Piura, alcanzó una muestra botánica a este despacho para ser determinada en esta institución, manifestando que es para la realización de su Tesis titulada: Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto alcohólico de *Prosopis pallida* sobre *Enterococcus faecalis* ATC.C. 29212. La muestra examinada resultó ser: ***Prosopis pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth “algarrobo”**

División: Angiospermae

Clase: Equisetopsida

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Género: *Prosopis*

Especie: *P. pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth FABACEAE

Se le expide esta constancia a solicitud de la interesada para los fines de realización de su tesis.

Piura, 11 de julio del 2017



c.c. Herbarium Piurense.

<https://www.facebook.com/Herbarium.piurense>

ANEXO 12: Constancia de certificación de la especie de *Prosopis pallida*.