



Efecto inhibitorio in vitro de la algarrobina de *Prosopis pallida* frente a *Escherichia coli*

In vitro inhibitory effect of algarrobin from Prosopis pallida against Escherichia coli

C.E. CORREA-ARELLANO^{1*} Y R.B. GUTARRA-VÍLCHEZ²

¹ Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Universidad César Vallejo, Lima, Perú.

² Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres, Lima, Perú.

*<ccorreaar@ucvvirtual.edu.pe>

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar in vitro el efecto de la algarrobina de *Prosopis pallida* frente a *Escherichia coli*. El efecto de la algarrobina de *Prosopis pallida* frente a *Escherichia coli* fue demostrado por el método de difusión en agar. La concentración mínima inhibitoria se determinó por el método de difusión en agar, utilizando algarrobina a 5 concentraciones diferentes que se pusieron en contacto con *Escherichia coli*. Se encontró que se formaban halos de inhibición cuando se ponía en contacto la *Escherichia coli* con la algarrobina. El diámetro de los halos de inhibición disminuyó conforme disminuyó la concentración de la algarrobina. A la concentración del 25% V/V ya no se evidenció ningún halo de inhibición. La algarrobina de *Prosopis pallida* presenta efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*, con una concentración mínima inhibitoria de 50% V/V. La magnitud de la inhibición bacteriana varía en relación directa a la concentración de la algarrobina con un margen de error del 5%. No hay diferencia estadísticamente significativa entre el grado de inhibición de *Escherichia coli* cuando se emplea algarrobina al 100% o algarrobina al 75%, cuando el intervalo de confianza es 99%.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the in vitro effect of algarrobin from Prosopis pallida against Escherichia coli. The effect of algarrobin from Prosopis pallida against Escherichia coli was demonstrated by the agar diffusion method. The minimum inhibitory concentration was determined by the agar diffusion method, using algarrobin at 5 different concentrations that were put in contact with Escherichia coli. It was found that inhibition halos were formed when Escherichia coli was put in contact with algarrobin. The diameter of the inhibition halos decreased as algarrobin concentration decreased. At the concentration of 25% V / V, no inhibition halo was observed. Algarrobin from Prosopis pallida has antibacterial effect on Escherichia coli, with a minimum inhibitory concentration of 50% V/V. The magnitude of bacterial inhibition varies



in direct relation to the concentration of algarrobin with a margin of error of 5%. There is no statistically significant difference between the degree of inhibition of Escherichia coli when using algarrobin at 100% or algarrobin at 75%, when the confidence interval is 99%.

Palabras clave: *Prosopis*, *Escherichia coli*, antibacterianos, pruebas de sensibilidad microbiana

Keywords: *Prosopis*, *Escherichia coli*, antibiotics

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas son un problema de salud a nivel mundial, y son amplios los esfuerzos que se hacen para controlar este mortal problema. Una de las áreas de investigación es la búsqueda de alimentos funcionales, es decir, aquellos que tienen un efecto potencialmente positivo en la salud más allá de la nutrición básica porque promueven una salud óptima y ayudan a reducir el riesgo de padecer enfermedades. Uno de ellos es la algarrobina que es un complemento nutricional obtenido a partir de la algarroba, que es la manera como se denomina al fruto maduro del algarrobo (*Prosopis pallida*), a la cual se le atribuyen varios beneficios y que en su composición podemos encontrar más minerales que los reportados en la miel de abejas y ofrece un valor nutricional mayor que el reportado para las peras de marañón (Guilherme et al., 2009). En Perú, el algarrobo (*Prosopis pallida*) es el que más abunda de la zona costera peruana y se ha reportado en trece (13) departamentos, desde Tumbes a Tacna (Dostert et al., 2012). Varias investigaciones encontraron que *P. pallida*, presenta actividad antimicrobiana frente a una amplia variedad de microorganismos (Sandoval et al., 2016; Camacho, 2017; Vásquez, 2017; Cárdenas et al., 2017; Gonzales-Barrón et al., 2020; Enríquez Díaz et al., 2018; Castro,

2017; Bussmann et al., 2011; Bussmann et al., 2009; Grillo et al., 2018), entre ellos *Escherichia coli* (Sandoval et al., 2016; Gonzales-Barrón et al., 2020; Castro, 2017). En Perú se ha hecho variada investigación sobre las propiedades antimicrobianas de las distintas partes de *P. pallida*, pero muy poca investigación sobre las propiedades funcionales de la algarrobina a pesar de ser un alimento bastante apreciado, barato y de fácil acceso, en especial en el norte del Perú.

Algunas cepas de *E. coli* se asocian a múltiples enfermedades: infecciones del tracto urinario (ITU), inflamación de las meninges, sepsis, colitis hemorrágica, entre otras (Picazo et al., 2016). En Perú, la diarrea continúa siendo la tercera causa de muerte en niños menores de 5 años, pese a los avances recientes en el manejo y prevención de esta enfermedad, siendo *Campylobacter* y *E. coli* los patógenos más prevalentes a nivel comunitario en niños (Riveros et al., 2015). Javad Sharifi-Rad et al. (2019) desarrollaron una amplia revisión bibliográfica sobre estudios que abordan la composición química y las propiedades farmacológicas de las plantas del género *Prosopis*. Los autores concluyeron que estas plantas tienen efectos benéficos para la salud muy prometedores aunque hay muy pocos estudios desarrollados para apoyar efectivamente sus efectos farmacológicos, y que se necesitan más estudios preclínicos

para dar soporte adicional y confirmar los efectos biológicos de las plantas del género *Prosopis*. Erika Castro (2017) se planteó demostrar si la miel de *Apis mellifera* y la algarrobina de *Prosopis pallida* presentan actividad antibacteriana frente a los coliformes hallados en quesillos preparados de manera artesanal y que eran vendidos en el mercado “La Unión” de la ciudad de Trujillo, Departamento de La Libertad, Perú. Encontró que la algarrobina inhibió la multiplicación de las bacterias coliformes en todas las concentraciones trabajadas; concluyendo que la algarrobina tiene efecto antibacteriano frente a los coliformes y que este efecto es mayor que el de la miel de abejas.

El presente estudio tiene el objetivo de evaluar in vitro el efecto de la algarrobina de *Prosopis pallida* frente a *Escherichia coli*.

MATERIAL Y MÉTODO

Se desarrolló una investigación de tipo intervención, analítico, prospectivo, longitudinal que respondió a un diseño experimental. Se emplearon cultivos de cepas de *Escherichia coli* ATCC[®] 25922[™] y algarrobina certificada con registro sanitario y producida a partir de los frutos de *Prosopis pallida* “algarrobo”, proveniente de Piura-Perú y agua; con una concentración final de 78° Brix.

Se preparó agar Mueller Hinton, agar eosina azul de metileno, caldo triptica-sa soya, TSI, LIA, Citrato de Simmons, MIO y agua peptonada. El desarrollo de las técnicas se aplicó considerando las pruebas de laboratorio convencionales usadas en microbiología. Las cepas de *Escherichia coli* ATCC[®] 25922[™] se reactivaron poniendo en contacto el hisopo que contenía la cepa con caldo tripticasa

soya, luego se sembró por estría simple, usando el hisopo, una placa Petri con agar Mueller Hinton, finalmente se incubó la placa sembrada por 24 horas a 37 °C. La pureza e identidad del cultivo se confirmó sembrando en agar Eosina Azul de metileno (EMB) y en los medios diferenciales: TSI, LIA, Citrato de Simmons y MIO. Este paso se hizo por triplicado. Se preparó el estándar 0,5 de la escala de Mc Farland basándose en el Manual del Instituto Nacional de Salud (INS) (Sacsquispe et al., 2020).

Elaboración de discos con algarrobina

Se elaboraron discos de papel filtro Whatman N°1 de 6 mm de diámetro con la ayuda de un perforador convencional, que luego se esterilizaron en autoclave por 15 minutos a 121°C, posteriormente fueron guardados en un frasco con tapa previamente esterilizado.

Se colocó 10 mL aproximadamente de algarrobina en una placa Petri estéril. Después se sumergieron los discos de papel filtro por grupos de 10-15 discos en esta placa. Se dejaron por 5 minutos y luego se pusieron a secar en estufa a 37 °C por 24 horas. Finalmente se guardaron en frascos estériles con tapa.

Preparación del inóculo

Se preparó a partir de cultivo de 24 horas conteniendo *Escherichia coli* ATCC[®] 25922[™] provenientes de placas Petri con agar Mueller Hinton.

Se recolectó una azada por separado y se prepararon suspensiones en tubos de ensayo conteniendo 5 mL de agua peptonada al 0,1%, las cuales se ajustaron al 0,5 de la escala de McFarland. De esta manera se tuvo una suspensión con $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL)

Demostración de la actividad antibacteriana

El método utilizado fue el de difusión en agar siguiendo las pautas propuestas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (2019). Cada experiencia se repitió 5 veces.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se prepararon soluciones de algarrobina en agua destilada estéril al 75%, 50%, 25% y 12,5%. Se impregnaron sendos discos de papel filtro con 10 μ L de cada una de las soluciones de algarrobina de *Prosopis pallida*, y luego se dejaron secar debidamente protegidos para evitar contaminaciones. Se rotularon seis (6) placas Petri conteniendo agar Müller Hinton en volumen apropiado para que el espesor sea de 4 mm sobre una superficie horizontal y se sembró por distribución uniforme la suspensión de *Escherichia coli* ATCC[®] 25922[™] con turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala Mac Farland. Se separó una (1) placa Petri para que sirviera de control positivo de crecimiento bacteriano. En cada una de las cinco (5) placas restantes se colocaron equidistantes cinco discos de papel filtro impregnados con algarrobina al 100%, 75%, 50%, 25% y 12,5% respectivamente. Se incubaron todas las placas Petri a 37 °C durante 24 horas, tiempo después del cual se observaron las placas buscando la presencia de halos de inhibición, cuyos diámetros se midieron utilizando una regla milimetrada. Cada experiencia de repitió 5 veces.

Análisis estadístico

Los datos se procesaron en el paquete de software denominado SPSS v.26, para realizar los siguientes análisis: Obtención de medidas descriptivas como la media aritmética, varianza, error y la desviación estándar para variables cuantitativas; comparación de medias con análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95%; prueba HSD de Tukey para evaluar si hay diferencia significativa entre los promedios de los diámetros de los halos de inhibición formados durante la determinación de la concentración mínima inhibitoria. Se consideraron resultados significativos aquellos valores de $p < 0,05$

Aspectos éticos

En todo momento, se tuvieron presentes los principios éticos para proteger el medio ambiente y la salud, procediendo responsablemente en la eliminación de los materiales conteniendo microorganismos patógenos, los cuales fueron previamente esterilizados en autoclave; siguiendo lo que ordena la Ley General del Ambiente N° 28611 (Ministerio del Ambiente, 2013).

RESULTADOS

Demostración de la actividad antibacteriana de la algarrobina frente a *Escherichia coli*

Los resultados obtenidos muestran que la algarrobina presentaba efecto antibacteriano contra *Escherichia coli* ATCC[®] 25922[™] en el 100% de las pruebas. El diámetro promedio de los halos de inhibición fue de $12,48 \pm 0,71$ mm, con un error estándar de 0.14 (**Tabla 1**).

Tabla 1. Medidas estadísticas descriptivas de los halos de inhibición ocasionados por la interacción de la algarrobina con *Escherichia coli*
Table 1. Descriptive statistical measures of the inhibition halos caused by the interaction of algarrobin with *Escherichia coli*.

Parámetro estadístico	Valor
N	25
ΣX	312
Promedio	12.48
Varianza	0.51
Desviación estándar	0.71
Error estándar	0.14

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de la algarrobina frente a *Escherichia coli*

Los diámetros de los halos de inhibición que se formaron al final de los ensayos se presentan con detalle en la **Tabla 2**. Se obtuvo un diámetro promedio de $12,6 \pm 0,55$ mm con algarrobina pura, $11,4 \pm 0,55$ mm con algarrobina concentrada al 75%, $8,2 \pm 0,84$ mm con algarrobina concentrada al 50% y no se observó halo de inhibición cuando se utilizó algarrobina al 25% y 12,5% de concentración (**Tabla 3**).

Los resultados muestran que el efecto inhibitorio varía acorde al grado de concentración de la algarrobina, tan es así que el efecto inhibitorio va disminuyendo conforme va bajando la concentración de la algarrobina, y cae a cero cuando la concentración de la algarrobina alcanza el 25% o menos, por lo que la concentración mínima inhibitoria de algarrobina frente a *Escherichia coli* es del 50%.

El análisis de varianza muestra que las diferencias en el grado de inhibición de

Escherichia coli cuando es sometida a tratamiento con diferentes concentraciones de algarrobina son significativas (**Tabla 4**).

También existen diferencias significativas con un margen de error del 1% entre los grados de inhibición de *Escherichia coli* ATCC[®] 25922[™] sometida a la acción de la algarrobina cuando se comparan otras combinaciones de concentraciones, excepto cuando se compara la inhibición producida por la algarrobina al 25% y 12,5%, entre las que no existe diferencia significativa (**Tabla 5**).

DISCUSIÓN

El método utilizado en esta investigación para evaluar la actividad antimicrobiana fue el de difusión en agar, el cual es ampliamente utilizado para evaluar la actividad antimicrobiana de extractos y está diseñado específicamente para bacterias de crecimiento rápido como *Escherichia coli* (Herrera, 1999).

Los resultados de esta investigación muestran que la algarrobina de *Prosopis pallida* sí presenta efecto antibacteriano contra *Escherichia coli*. Estos resultados

Tabla 2. Diámetro de los halos de inhibición expresado en mm formados por la interacción de la algarrobina a diferentes concentraciones con *Escherichia coli*

Table 2. Diameter of the inhibition halos expressed in mm formed by the interaction of algarrobin at different concentrations with Escherichia coli

	Concentración de algarrobina				
	100%	75%	50%	25%	12.5%
Ensayo 1	12	11	8	0	0
Ensayo 2	13	12	9	0	0
Ensayo 3	13	11	7	0	0
Ensayo 4	13	12	9	0	0
Ensayo 5	12	11	8	0	0
Promedio	12,6	11,4	8,2	0	0

Tabla 3. Medidas estadísticas descriptivas de los halos de inhibición, expresados en mm, ocasionados por la interacción de la algarrobina a diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli*

Table 3. Descriptive statistical measurements of the inhibition halos, expressed in mm, caused by the interaction of algarrobin at different concentrations against Escherichia coli

Parámetro Estadístico	Concentración de algarrobina				
	100%	75%	50%	25%	12.50%
N	5	5	5	5	5
Σx	63	57	41	0	0
Promedio	12.6	11.4	8.2	0	0
Varianza	0.3	0.3	0.7	0	0
Desviación estándar	0.55	0.55	0.84	0	0
Error estándar	0.24	0.24	0.37	0	0

Tabla 4. Análisis de varianza (ANOVA) entre los diámetros de los halos de inhibición ocasionados por la interacción de la algarrobina a diferentes concentraciones con *Escherichia coli* ATCC® 25922[™]

Table 4. Analysis of variance (ANOVA) between the diameters of the inhibition halos caused by the interaction of algarrobin at different concentrations with Escherichia coli ATCC® 25922[™]

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	742,96	4	185,74	714,38	0
Dentro de los grupos	5,2	20	0,26		
Total	748,16	24			

Tabla 5. Prueba HSD Tukey para el tratamiento de *Escherichia coli* ATCC® 25922[™] con algarrobina a diferentes concentraciones

Table 5. HSD Tukey test for the treatment of Escherichia coli ATCC® 25922[™] with algarrobin at different concentrations

HSD (0.05) = 0,97		HSD (0.01) = 1,21	
Factor	Diferencia de medias	Sig.	
M1 vs M2	1,2	P<0,05	
M1 vs M3	4,4	P<0,01	
M1 vs M4	12,6	P<0,01	
M1 vs M5	12,6	P<0,01	
M2 vs M3	3,2	P<0,01	
M2 vs M4	11,4	P<0,01	
M2 vs M5	11,4	P<0,01	
M3 vs M4	8,2	P<0,01	
M3 vs M5	8,2	P<0,01	
M4 vs M5	0,0	no significativo	

M1=100%, M2=75%, M3=50%, M4=25%, M5=12,5%

eran los esperados debido a que otras investigaciones demostraron que *Prosopis pallida* presenta actividad bacteriana frente a *Escherichia coli* (Sandoval et al., 2016; Gonzales-Barrón et al., 2020; Castro, 2017).

Erika Castro (2017) concluyó que la algarrobina de *Prosopis pallida* presenta actividad antibacteriana frente a los coliformes hallados en quesillos preparados de manera artesanal. Los coliformes son un grupo amplio de bacterias que pueden hallarse contaminando alimentos, entre las cuales se encuentra *Escherichia coli*, por ello consideramos que sus resultados indican que la algarrobina presenta actividad antimicrobiana contra coliformes, pero no indica frente a cuáles bacterias. Con nuestra investigación estamos demostrando que la algarrobina inhibe a *Escherichia coli*. Estudios posteriores podrían enfocarse a determinar contra qué otros coliformes presenta actividad antimicrobiana la algarrobina.

La actividad antimicrobiana de la algarrobina de *Prosopis pallida* podría deberse a la presencia de polifenoles, flavonoides y taninos (Cárdenas, 2017). Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios abundantes en las plantas, a los cuales se les atribuyen propiedades antibacterianas y antioxidantes (Doroteo et al., 2013). Los polifenoles reportados en *Prosopis pallida* son el ácido gálico, catequinas, taninos condensados, etc. (Flor, 2013). Los mecanismos que se cree que son responsables de la toxicidad de los fenoles contra los microorganismos incluyen la inhibición de la enzima beta-glucano sintasa por los compuestos oxidados, posiblemente a través de la reacción con grupos sulfhidrilo o a través de interacciones no específicas con las proteínas (Mason, 1987).

Muchas preparaciones fitoquímicas con alto contenido de flavonoides han reportado actividad antibacteriana (Cushnie, 2005). Varias investigaciones han demostrado que la actividad antioxidante de los flavonoides se debe a una combinación de sus propiedades como quelante de hierro y captadora de radicales libres, además de su cualidad para inhibir las oxidasas: lipooxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa y la xantina oxidasa; lo cual evita la formación de especies reactivas de oxígeno y de hidroxiperóxidos orgánicos (Escamilla et al., 2009; Pérez, 2003). *Escherichia coli* utiliza su peroxidasa para sobrevivir al estrés oxidativo (Agranoff et al., 1998), la cual, al ser inhibida, podría afectar el crecimiento de esta bacteria. Díaz (2012) afirma que “el ácido gálico, las catequinas y otros compuestos fenólicos, presentes a la algarrobina, actúan sobre las membranas celulares, inhibiendo los 18 canales iónicos”. García (2012) complementa la explicación sobre el mecanismo de acción antibacteriana de los polifenoles afirmando que “los compuestos fenólicos pueden alterar las membranas y pared celular de las bacterias e inhibir la síntesis de enzimas, con la consecuente salida de proteínas, ácidos nucleicos, iones inorgánicos y otros elementos vitales para la célula bacteriana, con lo que conduciría a la muerte bacteriana”. Camacho (2017) reportó que los productos de *Prosopis pallida* no presentaban actividad antibacteriana contra *Escherichia coli*. Este resultado opuesto al encontrado por nosotros podría deberse a que Camacho trabajó con *Escherichia coli* ATCC® 8739™, que en la página oficial de ATCC (www.atcc.org) se reporta como una cepa acondicionada para ensayos de biorresistencia, a diferencia de la cepa

ATCC[®] 25922[™] que la reportan como una cepa acondicionada para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por discos. Bussmann et al. (2009) tampoco encontraron actividad contra *Escherichia coli*. Ellos trabajaron con *Escherichia coli* aislada de paciente con infección urinaria. Milagros Yábar et al. (2017) encontraron que el 45,9% de las *Escherichia coli* aisladas de pacientes con infección urinaria eran multirresistentes, es decir, habían desarrollado mecanismos para resistir a tratamientos con sustancias antibacterianas. Este hallazgo podría explicar este resultado opuesto al encontrado por nosotros.

En conclusión, la algarrobina de *Prosopis pallida* presenta efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*, con una concentración mínima inhibitoria de 50% V/V. La magnitud de la inhibición bacteriana varía en relación directa a la concentración de la algarrobina con un margen de error del 5%. No hay diferencia estadísticamente significativa entre el grado de inhibición de *Escherichia coli* cuando se emplea algarrobina al 100% o algarrobina al 75%, cuando el intervalo de confianza es 99%.

BIBLIOGRAFÍA

- AGRANOFF, D. & S. KRISHNA, 1998. Metal ion homeostasis and intracellular parasitism. *Molecular Microbiology* 28: 403-412.
- BUSSMANN, R., A. GLENN, K. MEYER, A. ROTHROCK, A. TOWNESMITH, D. SHARON, et al., 2009. Antibacterial Activity of Medicinal Plants of Northern Peru – Part II. *Arnaldoa* 16 (1): 93- 103
- BUSSMANN, R., A. GLENN, D. SHARON, G. CHAIT, D. DIAZ, K. POURMAND, et al., 2011. Proving that Traditional Knowledge Works: The antibacterial activity of Northern Peruvian medicinal plants. *Journal of Ethnobotany Research & Applications* 9(1):67-96.
- CAMACHO, C., 2017. Actividad antimicrobiana y antioxidante del extracto etanólico de *Prosopis pallida* “algarrobo”. Repositorio de Tesis - UNMSM [Internet]. [citado 28 de febrero de 2020]; Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/5857>
- CÁRDENAS, C., J. RUIZ, A. CASTRO, N. RAMOS, J. ROJAS & D. RAMOS, 2017. Actividad antibacteriana y antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Prosopis pallida* (algarrobo). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 22(4): 22-24.
- CASTRO, E., 2017. Efecto antibacteriano de miel de *Apis mellifera* y algarrobina de *Prosopis pallida* sobre coliformes en quesillos preparados artesanalmente expendidos en el mercado “La Unión” – Trujillo [Internet]. Universidad César Vallejo. [citado 28 Feb 2020]. Disponible en <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/614>
- CUSHNIE, T. & A. LAMB, 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26(5): 343-56.
- DOROTEO, V., C. DÍAZ, C. TERRY & R. ROJAS, 2013. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 79(1):13-20.
- DÍAZ, R.O., 2012. Efecto antibacteriano del ácido gálico y de la catequina sobre *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli*. Tesis de título. Universidad de Chile. Disponible en: http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/112192/diaz_r.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- DOSTERT, N., J. ROQUE, A. CANO, M. LA TORRE & M. WEIGEND, 2012. Hoja Botánica: Algarrobo. Proyecto Perú biodiverso. Museo de Historia Natural. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [citado 28 Feb 2020]. Disponible en: <http://bibliotecavirtual.minam.gob.pe/biam/bitstream/handle/minam/1425/BIV01201.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- ENRÍQUEZ DÍAZ, M., G. GÓMEZ ZAPATA & M. GUERRERO MANRIQUE, 2018. Efecto antifúngico in vitro de los extractos hidroetanólicos de *Prosopis pallida* (algarrobo), *Plantago major* (llantén), *Ruta graveolens* (ruda) sobre *Candida albicans* ATCC 10231. [Internet]. Universidad César Vallejo. [citado 28 Jul 2020]. Disponible en <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/26354>
- ESCAMILLA, C., E. CUEVAS & J. GUEVARA, 2009. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM 52(2): 73-5.
- FLOR, E., 2013. Evaluación de medios de cultivo para la micropropagación de algarrobo tropical (*Prosopis pallida*) H.B.K. Quito, Pichincha. Tesis de pregrado. Quito. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/989/1/T-UCE-0004-14.pdf>
- GARCÍA A., 2012. Efecto de los polifenoles sobre el crecimiento y metabolismo de bacterias lácticas del vino. Potencial uso como alternativa al empleo de los sulfitos durante la vinificación. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. [citado 10 de octubre de 2020]; Disponible en: <http://digital.csic.es/handle/10261/60799>
- GONZALES-BARRÓN, U., R. DIJKSHOORN, M. MALONCY, T. FINIMUNDY, R. CALHELHA, C. PEREIRA, et al., 2020. Nutritive and Bioactive Properties of Mesquite (*Prosopis pallida*) Flour and Its Technological Performance in Breadmaking. Foods 9(5):597. Disponible en <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/5/597>
- GRILLO, M. & N. LIVIA, 2018. Efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroetanólicos de *Prosopis pallida* (algarrobo), *Plantago major* (llantén) y *Ruta graveolens* (ruda) sobre *Porphyrromonas gingivalis* ATCC33277. [Internet]. Universidad César Vallejo. [citado 28 Jul 2020]. Disponible en <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/26356>
- GUILHERME, A., T. HONORATO, A. DORNELLES, G. PINTO, E. BRITO & S. RODRIGUES, 2009. Quality Evaluation of Mesquite (*Prosopis juliflora*) Pods and Cashew (*Anacardium occidentale*) apple syrups. Journal of Food Process Engineering 32(4): 606-22.
- HERRERA, L., 1999. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. Rev méd Hosp Nac Niños 34 (Suppl): 33-41 [citado el 10 de octubre del 2020]. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- JAVAD SHARIFI-RAD, FARZAD KOBARFARD, ATHAR ATA, SEYED ABDULMAJID AYATOLLAHI, NAFISEH KHOSRAVI-DEHAGHI, ARUN KUMAR JUGRAN, et al., 2019. *Prosopis* Plant Chemical Composition and Pharmacological Attributes: Targeting Clinical Studies from Preclinical Evidence. Biomolecules 9(12): 777. Disponible en <http://dx.doi.org/10.3390/biom9120777>
- MASON, T. & B. WASSERMAN, 1987. Inactivation of red beet beta-glucan synthase by native and oxidized phenolic compounds. Phytochemistry 26(8): 2197-2202.
- MINISTERIO DEL AMBIENTE, 2013. Ley General del Ambiente, Ley N° 28611. [citado 2020 feb 20]; Disponible en <http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2013/06/ley-general-del-ambiente.pdf>
- PÉREZ, G., 2003. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas 22(1): 48-37.
- PICAZO, J. & J. PRIETO, 2016. Compendio de Microbiología. 2ª ed. Edit Elsevier Health Sciences España: 346-367.
- RIVEROS, M. & T. OCHOA, 2015. Enteropatógenos de importancia en salud pública. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública 32(1): 157.

- SACSAQUISPE, R. & J. VELÁSQUEZ, 2002. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. [citado 2020 feb 20]; Available from: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/informes-publicaciones/353004-manual-de-procedimientos-para-la-prueba-de-sensibilidad-antimicrobiana-por-el-metodo-de-disco-difusion> Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). CLSI Supplement M100. 29th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2019: 1-282.
- SANDOVAL ZAVALETA, E. & E. ZUÑIGA JULCA, 2016. 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*. Universidad Nacional de Trujillo [Internet]. [citado 28 de febrero de 2020]; Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1497>
- VÁSQUEZ CACHAY, L., 2017. Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Candida albicans* ATCC 90028. [Internet]. Universidad César Vallejo. [citado 28 Jul 2020]. Disponible en <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/11057>
- YÁBAR, M., B. CURI-PESANTES, C. TORRES, R. CALDERÓN-ANYOSA, M. RIVEROS & T. OCHOA, 2017. Multirresistencia y factores asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* provenientes de urocultivos. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública 34(4). [citado el 10 de octubre del 2020]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342017000400012

Recibido: 06/2021
Aceptado: 12/2021

