



INVESTIGACIÓN ORIGINAL

# Potencial antimicrobiano de extractos etanólicos de *Caesalpinia spinosa* frente a patógenos del biofilm oral: estudio comparativo

## Antimicrobial potential of ethanolic extracts of *Caesalpinia spinosa* against oral biofilm pathogens: a comparative study

Carol Flores-Regalado<sup>1</sup>. Edisson-Mauricio Pacheco-Quito<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Especialidad de Ortodoncia. Universidad Católica de Cuenca.  
<https://orcid.org/0000-0002-1793-733X>

<sup>2</sup> Especialidad de Ortodoncia. Universidad Católica de Cuenca.  
<https://orcid.org/0000-0002-6168-3218>

Correspondencia:  
[cgfloresr26@est.ucacue.edu.ec](mailto:cgfloresr26@est.ucacue.edu.ec)

Recibido: 12/06/2026

Aceptado: 10/07/2026

Publicado: 13/07/2026

### RESUMEN

**Introducción:** La biopelícula oral constituye un desafío frecuente en pacientes con aparatología ortodóntica, favoreciendo la proliferación de microorganismos acidogénicos y especies asociadas a procesos inflamatorios gingivoperiodontales. *Caesalpinia spinosa* contiene compuestos fenólicos con potencial antimicrobiano, cuyo comportamiento varía según el órgano vegetal y el método de obtención del extracto. **Objetivo:** Evaluar la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de hojas, vainas y mezcla de hojas más vainas de *C. spinosa*, obtenidos por maceración en frío y evaporación rotatoria, frente a microorganismos relevantes en ortodoncia. **Materiales y métodos:** Se emplearon *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Se evaluaron cuatro concentraciones del extracto (200, 400, 800 y 1000 mg/mL) mediante difusión en agar. Se obtuvieron estadísticas descriptivas y se aplicó un ANOVA factorial de cuatro vías para evaluar efectos principales e interacciones. **Resultados:** Los extractos de *C. spinosa* mostraron actividad antimicrobiana frente a las tres cepas evaluadas. Se observaron diferencias significativas según el microorganismo ( $p < 0,001$ ), la concentración ( $p < 0,001$ ) y el órgano vegetal ( $p = 0,002$ ), mientras que el método de extracción no influyó significativamente ( $p = 0,595$ ). *Enterococcus faecalis* presentó los mayores diámetros de inhibición, seguido de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*. La actividad aumentó con la concentración, sin diferencias entre 800 y 1000 mg/mL. **Conclusiones:** Los extractos etanólicos de *C. spinosa* presentan actividad antimicrobiana in vitro frente a microorganismos relevantes en ortodoncia, con mayor efecto en vainas y altas concentraciones.

**Palabras clave:** *Caesalpinia spinosa*. Extractos vegetales. Actividad antimicrobiana. Ortodoncia.

### ABSTRACT

**Introduction:** Oral biofilm is a common challenge in patients wearing orthodontic appliances, as it promotes the proliferation of acidogenic microorganisms and species associated with gingival and periodontal inflammatory processes. *Caesalpinia spinosa* contains phenolic compounds with potential antimicrobial activity, whose behavior varies according to the plant organ and the extraction method used. **Objective:** To evaluate the antimicrobial activity of ethanolic extracts from leaves, pods, and a mixture of leaves and pods of *C. spinosa*, obtained by cold maceration and rotary evaporation, against microorganisms relevant to orthodontics. **Materials and Methods:** *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, and *Enterococcus faecalis* were used. Four extract concentrations (200, 400, 800, and 1000 mg/mL) were evaluated using agar diffusion. Descriptive statistics were obtained, and a four-way factorial ANOVA was



applied to assess main effects and interactions. Results: *C. spinosa* extracts showed antimicrobial activity against all three tested strains. Significant differences were observed according to microorganism ( $p < 0.001$ ), concentration ( $p < 0.001$ ), and plant organ ( $p = 0.002$ ), whereas the extraction method did not have a significant effect ( $p = 0.595$ ). *Enterococcus faecalis* showed the largest inhibition zones, followed by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans*. Activity increased with concentration, with no differences between 800 and 1000 mg/mL. Conclusions: Ethanolic extracts of *C. spinosa* exhibit in vitro antimicrobial activity against microorganisms relevant to orthodontics, with greater effects observed in pod extracts and at higher concentrations.

Keywords: *Caesalpinia spinosa*. Plant extracts. Antimicrobial activity. Orthodontics.

## INTRODUCCIÓN

La cavidad oral alberga una microbiota compleja organizada en biofilms que, en condiciones de equilibrio, contribuyen al mantenimiento de la salud bucal<sup>1,2</sup>. Sin embargo, la alteración de la homeostasis del hospedador puede favorecer la colonización y proliferación de microorganismos patógenos, desencadenando procesos infecciosos e inflamatorios.<sup>3,4</sup>

Aunque el sistema inmunitario desempeña un papel fundamental en el control microbiano, en numerosos casos resulta necesario el uso de agentes antimicrobianos para el tratamiento de infecciones odontogénicas<sup>5</sup>. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), estas infecciones afectan a aproximadamente 3 500 millones de personas a nivel mundial; se estima que cerca del 90 % de la población presenta caries dental, el 50 % gingivitis y alrededor del 30 % periodontitis<sup>6</sup>. Los pacientes tratados ortodónticamente constituyen un grupo particularmente vulnerable, ya que la aparatología fija o removible favorece la retención de placa bacteriana y la colonización microbiana<sup>7,8</sup>, incrementando el riesgo de caries, gingivitis, periodontitis, mucositis y perimplantitis<sup>9</sup>. Entre los microorganismos frecuentemente aislados de la aparatología ortodóntica y de las superficies bucodentales se encuentran *Streptococcus mutans*, estrechamente relacionado con el desarrollo de la caries dental, asimismo; *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* han sido asociados a infecciones oportunistas y persistentes de la cavidad oral<sup>10,11</sup>. La coexistencia de estas especies representa un desafío clínico, al comprometer la salud bucal<sup>12,13</sup> y

potencialmente interferir con la eficacia terapéutica durante el tratamiento ortodóntico<sup>14,15</sup>.

El control químico de biofilms mediante antisépticos y antimicrobianos convencionales continúa siendo una estrategia terapéutica de primera línea<sup>16,17</sup>. No obstante, su uso prolongado se ha asociado con alteraciones de la microbiota oral, efectos adversos locales y, de manera preocupante, con el desarrollo de resistencia antimicrobiana<sup>18-22</sup>. La OMS ha reportado que aproximadamente el 10 % de las prescripciones antimicrobianas corresponden a procesos odontológicos<sup>23,24</sup> y estima que, de mantenerse esta tendencia, la resistencia bacteriana podría ocasionar hasta 10 millones de muertes anuales para el año 2050<sup>25</sup>. Este escenario limita las opciones terapéuticas disponibles, incrementa la severidad de las infecciones y eleva los costos de atención sanitaria<sup>26</sup>.

Ante esta problemática, la fitoterapia ha cobrado interés como una alternativa farmacológica potencial, debido a la actividad antimicrobiana demostrada por diversos extractos vegetales y a su perfil de efectos adversos generalmente más favorable<sup>27</sup>. Los fitofármacos son formulaciones farmacéuticas cuyos principios activos se obtienen de especies vegetales y se emplean con fines preventivos o terapéuticos<sup>28-30</sup>. En este contexto, *Caesalpinia spinosa* (*C. spinosa*), conocida como tara, una especie sudamericana rica en taninos hidrolizables y compuestos fenólicos, ha mostrado actividad antimicrobiana frente a diversas bacterias orales en estudios preliminares<sup>31,32</sup>. Asimismo, se ha descrito que su actividad biológica puede variar en función del órgano



vegetal empleado y del método de extracción utilizado<sup>34,35</sup>, lo que resalta la importancia de optimizar los procesos de obtención de metabolitos bioactivos. De manera complementaria, el uso empírico tradicional de *C. spinosa* en afecciones inflamatorias y procesos infecciosos sugiere un potencial farmacológico adicional, respaldado por reportes de actividad cicatrizante y antiinflamatoria<sup>34,35</sup>.

A pesar de estos antecedentes, la evidencia científica disponible es limitada en cuanto a la evaluación sistemática de la actividad antimicrobiana de *C. spinosa* frente a un conjunto ampliado de microorganismos asociados a biofilms en aparatología ortodóncica, así como al análisis comparativo entre diferentes órganos vegetales, métodos de extracción y concentraciones. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de hojas, vainas y hojas más vainas de *C. spinosa*, obtenidos mediante maceración en frío y evaporación rotatoria, frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*, utilizando el método de difusión en agar.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental *in vitro*, con enfoque cuantitativo, diseño transversal y nivel de investigación comparativo, orientado a evaluar la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de *C. spinosa*. El estudio se desarrolló en el Laboratorio de Genética y Biología Molecular (CIITT) de la Universidad Católica de Cuenca. El flujo del procedimiento se detalla en la Figura 1.

### Material vegetal

Se recolectaron hojas y vainas maduras de *C. spinosa* bajo condiciones controladas. El material vegetal fue lavado con agua destilada y secado inicialmente a temperatura ambiente durante 7 días. Posteriormente, se completó el secado en estufa (Memmert®) a 38 °C durante 48 horas.

En el caso de las vainas, estas fueron desgranadas manualmente, descartándose las semillas. Posteriormente, se trituraron 400 g de hojas y 400 g de vainas, por separado, utilizando una licuadora en seco hasta obtener un material finamente pulverizado.

### Preparación de los extractos vegetales

Para el proceso de extracción se emplearon dos métodos descritos a continuación:

#### Extracción etanólica por maceración en frío

Se procesaron 200 g de hojas secas y 200 g de vainas secas, de forma independiente, utilizando etanol al 96 % (v/v) como disolvente. Previo a la maceración, los materiales vegetales fueron prehidratados con etanol para facilitar la penetración del disolvente y optimizar la transferencia de masa.

Las muestras se colocaron en recipientes de vidrio ámbar, herméticamente sellados y protegidos de la luz, y se sometieron a maceración durante cuatro días a temperatura ambiente, con agitación manual cada 12 horas. Finalizado el proceso, las mezclas fueron filtradas mediante papel filtro de 5 µm para eliminar residuos sólidos.

La eliminación del disolvente se realizó por evaporación en baño de agua (WTB Memmert®) a 35 °C, asistida por un flujo continuo de aire, con el fin de facilitar la volatilización del etanol y minimizar la degradación térmica de compuestos termolábiles. Los extractos obtenidos fueron almacenados a 4 °C hasta su uso.

#### Extracción mediante maceración dinámica y evaporación rotatoria

La extracción se realizó mediante un protocolo modificado de maceración dinámica y concentración por evaporación rotatoria, basado en lo descrito por Seijas et al. (2022)<sup>36</sup>. El material vegetal previamente triturado (hojas y vainas, procesados por separado) fue sometido a maceración dinámica con etanol al 96 % (v/v), en una relación sólido: solvente de 1:4 (p/v), bajo agitación



constante a 35 °C durante 2 horas. Finalizado el proceso de maceración, cada extracto fue filtrado al vacío utilizando papel filtro de poro fino (5 µm), obteniéndose un volumen aproximado de 600 mL de extracto para hojas y 600 mL para vainas.

Posteriormente, los extractos filtrados fueron concentrados mediante evaporación rotatoria bajo presión reducida, siguiendo el protocolo descrito por Pareja M, et al (2020)<sup>23</sup>, con ligeras modificaciones. Para este procedimiento se utilizó un rotavapor BIOBASE® modelo RE-501 (BIOBASE Bioindustry (Shandong) Co., Ltd., China). La concentración se realizó a una temperatura constante de 35 °C, con una velocidad de rotación de 45 rpm, durante un período de 3 h, con el objetivo de minimizar la degradación térmica de los compuestos bioactivos. Posteriormente, la resina concentrada obtenida fue transferida a un recipiente de vidrio y sometida a calentamiento controlado a 35 °C sobre una plancha calefactora, hasta completar la evaporación del alcohol residual. Finalmente, los extractos secos fueron almacenados a 4 °C en frascos individuales protegidos de la luz, hasta su utilización en los ensayos experimentales.

#### *Preparación de las concentraciones experimentales*

A partir de los extractos etanólicos obtenidos, se prepararon soluciones experimentales a concentraciones finales de 200, 400, 800 y 1000 mg/mL, utilizando etanol al 96 % como solvente.

Las diluciones se realizaron mediante un procedimiento seriado, garantizando la homogeneidad y precisión en la reconstitución del material vegetal. En el caso de la mezcla hojas más vainas, las concentraciones se obtuvieron mediante una combinación proporcional de ambos extractos, manteniendo un contenido total de sólidos equivalente al definido para cada concentración. Las soluciones fueron almacenadas a 4 °C, protegidas de la luz, hasta su uso.

#### *Evaluación microbiológica*

#### *Cepas bacterianas*

Se utilizaron cepas de referencia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Cada cepa fue reactivada en los medios de cultivo correspondientes, como agar sangre o agar Mitis Salivarius.

#### *Ensayo de susceptibilidad antimicrobiana*

Los inóculos bacterianos se ajustaron a una turbidez equivalente al estándar 0,5 de McFarland ( $\approx 1-2 \times 10^8$  UFC/mL). La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en agar por pocillos, siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para la preparación de medios, estandarización del inóculo y condiciones de incubación.

Se realizaron pocillos de 4 mm de diámetro, utilizando un sacabocados estandarizado y esterilizado. En cada pocillo se depositaron 40 µL de las soluciones de extracto a las concentraciones de 200, 400, 800 y 1000 mg/mL. Cada placa contenía cuatro pocillos, dispuestos de forma equidistante para evitar interferencias entre halos de inhibición.

Como control positivo, se utilizó un colutorio de clorhexidina, mientras que el control negativo consistió en etanol al 96 %, con el fin de descartar un efecto inhibitorio atribuible al solvente. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 o 48 horas en estufa (Mettler®). Posteriormente, los diámetros de los halos de inhibición se midieron en milímetros (mm) utilizando un vernier digital, registrándose los datos en una ficha de recolección de datos.

#### *Unidades experimentales*

El diseño experimental consideró como factores: tipo de extracto (hojas, vainas y mezcla hojas + vainas), método de extracción (maceración en frío y extracción mediante evaporación rotatoria), concentración del extracto (200, 400, 800 y 1000 mg/ml) y microorganismo (*Staphylococcus aureus*; *Streptococcus mutans*;



*Enterococcus faecalis*). Cada combinación experimental se evaluó por triplicado.

#### Análisis estadístico

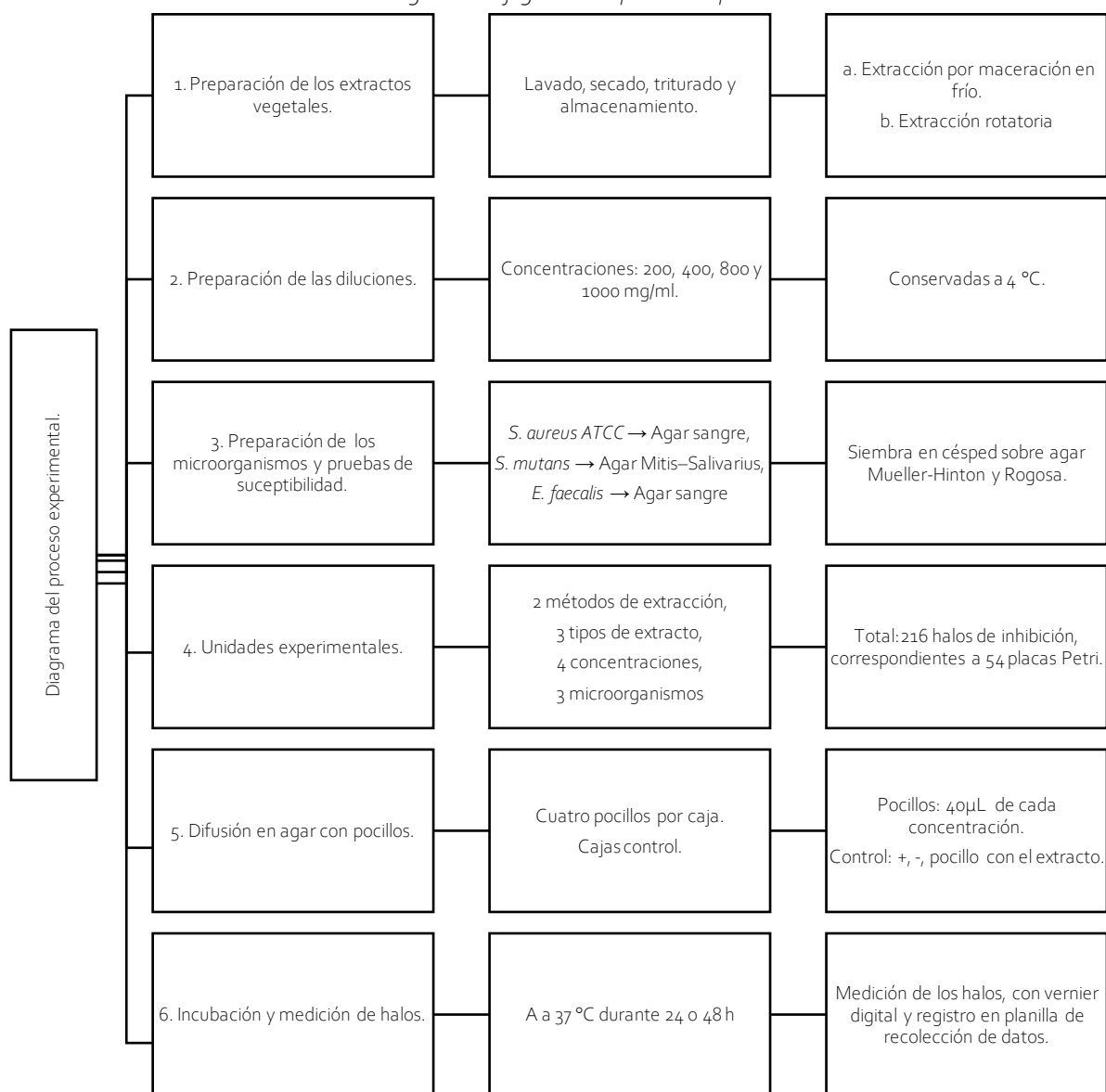
Los datos se expresaron en diámetro del halo de inhibición (mm) y se resumieron mediante estadísticos descriptivos (media y desviación estándar) para cada combinación experimental.

El análisis inferencial se realizó mediante un ANOVA factorial de cuatro vías, considerando como factores fijos

el microorganismo, el tipo de extracto, el método de extracción y la concentración del extracto. Se evaluaron los efectos principales y las interacciones entre los factores sobre el diámetro del halo de inhibición.

Cuando se identificaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), se aplicaron comparaciones múltiples post hoc mediante la prueba de Dunnett T3. Todos los análisis se realizaron utilizando el software IBM SPSS Statistics®, versión 31, estableciendo un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

Figura 1. Flujoograma del proceso experimental.





## RESULTADOS

Los extractos etanólicos de *C. spinosa* evidenciaron actividad antimicrobiana in vitro frente a las cepas evaluadas, manifestada por la formación de halos de inhibición en todas las combinaciones experimentales analizadas. El control negativo, correspondiente a etanol al 96 % (v/v), no produjo halos de inhibición frente a ninguna de las cepas evaluadas.

En contraste, el control positivo generó halos de inhibición consistentemente mayores que los observados para los extractos de *C. spinosa* en todas las cepas analizadas, confirmando la validez del ensayo y la adecuada sensibilidad del método empleado. La magnitud del efecto antimicrobiano varió en función del microorganismo, la concentración del extracto y el órgano vegetal utilizado, lo que permitió realizar comparaciones estadísticas detalladas entre los distintos factores experimentales.

El análisis del tipo de método de extracción no evidenció diferencias estadísticamente significativas en el diámetro del halo de inhibición entre la extracción mediante evaporación rotatoria y la maceración en frío ( $F = 0,284$ ;  $p = 0,595$ ), con valores medios comparables entre ambos procedimientos. En contraste, el microorganismo evaluado mostró un efecto significativo sobre el diámetro del halo de inhibición ( $F = 151,690$ ;  $p < 0,001$ ). *Enterococcus faecalis* presentó los mayores valores de inhibición ( $17,27 \pm 1,58$  mm), seguido por *Staphylococcus aureus* ( $14,50 \pm 1,70$  mm), mientras que *Streptococcus mutans* exhibió los valores más bajos ( $11,64 \pm 2,43$  mm).

La concentración del extracto influyó significativamente en la actividad antimicrobiana ( $F = 25,055$ ;  $p < 0,001$ ). Se observó un incremento progresivo del diámetro del halo de inhibición al aumentar la concentración de 200 a 1000 mg/mL. Las comparaciones múltiples confirmaron diferencias significativas entre 200 mg/mL y las concentraciones de 400, 800 y 1000 mg/mL, así como entre 400 mg/mL y 800–1000 mg/mL, mientras que no se identificaron diferencias significativas entre 800 y 1000 mg/mL.

Estos hallazgos evidencian la presencia de interacciones entre la cepa bacteriana, el órgano vegetal y la concentración del extracto, lo que se refleja en patrones diferenciales de inhibición a concentraciones elevadas. Respecto al órgano de la planta, se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en el diámetro del halo de inhibición ( $F = 6,193$ ;  $p = 0,002$ ). Los extractos obtenidos a partir de vainas mostraron los mayores valores de inhibición ( $15,44 \pm 2,99$  mm), seguidos por la mezcla hojas + vainas ( $14,15 \pm 2,66$  mm) y por los extractos de hojas ( $13,81 \pm 3,14$  mm).

Las comparaciones post hoc indicaron diferencias significativas entre hojas y vainas, así como entre vainas y la mezcla hojas + vainas, sin diferencias significativas entre hojas y la mezcla. El análisis estratificado por cepa mostró que, en *Staphylococcus aureus*, el órgano de la planta influyó significativamente en el diámetro del halo de inhibición ( $F = 8,534$ ;  $p < 0,001$ ), con mayores valores asociados a los extractos de vainas, seguidos por la mezcla hojas + vainas y hojas. En *Streptococcus mutans*, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los órganos evaluados ( $F = 3,086$ ;  $p = 0,052$ ), aunque se registraron variaciones en los valores medios. En *Enterococcus faecalis*, el efecto del órgano de la planta fue significativo ( $F = 11,001$ ;  $p < 0,001$ ), destacándose nuevamente los extractos de vainas con los mayores halos de inhibición.

Al analizar específicamente las concentraciones más altas (800 y 1000 mg/mL), se mantuvo un patrón diferencial en función de la cepa y del órgano vegetal. En *Staphylococcus aureus*, se observaron diferencias significativas entre los órganos de la planta ( $F = 22,705$ ;  $p < 0,001$ ), con mayores valores asociados a las vainas. En *Streptococcus mutans*, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los órganos a estas concentraciones ( $F = 2,890$ ;  $p = 0,070$ ). En *Enterococcus faecalis*, el órgano de la planta mostró un efecto significativo ( $F = 36,479$ ;  $p < 0,001$ ), con mayores halos de inhibición en los extractos obtenidos a partir de vainas, seguidos por hojas y por la mezcla hojas + vainas.



Tabla 1. Estadísticos descriptivos del diámetro del halo de inhibición según los factores experimentales.

| Factor                | Categoría                                 | n   | Media $\pm$ DE (mm) |
|-----------------------|-------------------------------------------|-----|---------------------|
| Método de extracción  | Extracción mediante evaporación rotatoria | 108 | 14,58 $\pm$ 2,75    |
|                       | Maceración en frío                        | 108 | 14,36 $\pm$ 3,25    |
| Microorganismo        | <i>Staphylococcus aureus</i>              | 72  | 14,50 $\pm$ 1,70    |
|                       | <i>Streptococcus mutans</i>               | 72  | 11,64 $\pm$ 2,43    |
|                       | <i>Enterococcus faecalis</i>              | 72  | 17,27 $\pm$ 1,58    |
| Órgano de la planta   | Hojas                                     | 72  | 13,81 $\pm$ 3,14    |
|                       | Vainas                                    | 72  | 15,44 $\pm$ 2,99    |
|                       | Mezcla hojas + vainas                     | 72  | 14,15 $\pm$ 2,66    |
| Concentración (mg/mL) | 200                                       | 54  | 12,22 $\pm$ 3,12    |
|                       | 400                                       | 54  | 13,99 $\pm$ 2,52    |
|                       | 800                                       | 54  | 15,39 $\pm$ 2,22    |
|                       | 1000                                      | 54  | 16,29 $\pm$ 2,47    |

Nota: Los valores se expresan como media  $\pm$  desviación estándar (DE).

Tabla 2. Análisis de varianza (ANOVA) del diámetro del halo de inhibición.

| Factor               | gl | F       | p       |
|----------------------|----|---------|---------|
| Método de extracción | 1  | 0,284   | 0,595   |
| Microorganismo       | 2  | 151,690 | <0,001* |
| Órgano de la planta  | 2  | 6,193   | 0,002*  |
| Concentración        | 3  | 25,055  | <0,001* |

Nota: Diferencias estadísticamente significativas  $p < 0,05$ .

Tabla 3. Comparaciones múltiples del diámetro del halo de inhibición según la concentración del extracto (Tukey HSD)

| Comparación       | Diferencia de medias (mm) | p       |
|-------------------|---------------------------|---------|
| 200 vs 400 mg/mL  | -1,77                     | 0,003*  |
| 200 vs 800 mg/mL  | -3,16                     | <0,001* |
| 200 vs 1000 mg/mL | -4,06                     | <0,001* |
| 400 vs 800 mg/mL  | -1,40                     | 0,029*  |
| 400 vs 1000 mg/mL | -2,30                     | <0,001* |
| 800 vs 1000 mg/mL | -0,90                     | 0,278   |

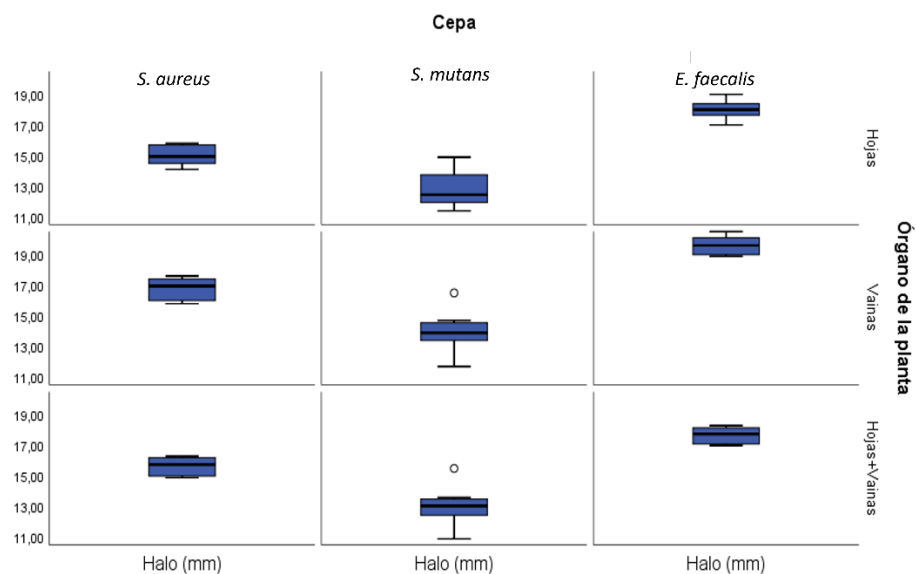
Nota: Diferencias estadísticamente significativas  $p < 0,05$ .

Tabla 4. Diámetro del halo de inhibición (mm) según el órgano de la planta para cada microorganismo.

| Microorganismo               | Órgano de la planta   | n  | Media $\pm$ DE (mm) | p       |
|------------------------------|-----------------------|----|---------------------|---------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Hojas                 | 12 | 15,00 $\pm$ 0,63    | <0,001* |
|                              | Vainas                | 12 | 16,78 $\pm$ 0,73    |         |
|                              | Mezcla hojas + vainas | 12 | 15,65 $\pm$ 0,60    |         |
| <i>Streptococcus mutans</i>  | Hojas                 | 12 | 12,85 $\pm$ 1,21    | 0,070   |
|                              | Vainas                | 12 | 13,93 $\pm$ 1,21    |         |
|                              | Mezcla hojas + vainas | 12 | 13,02 $\pm$ 1,12    |         |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | Hojas                 | 12 | 18,02 $\pm$ 0,64    | <0,001* |
|                              | Vainas                | 12 | 19,62 $\pm$ 0,63    |         |
|                              | Mezcla hojas + vainas | 12 | 17,66 $\pm$ 0,52    |         |

Nota: Los valores de p corresponden al ANOVA de una vía dentro de cada microorganismo.  $p < 0,05$  indica diferencias estadísticamente significativas.

Figura 2. Interacción entre microorganismo, órgano de la planta y concentración del extracto (800 y 1000 mg/mL)



## DISCUSIÓN

El presente estudio evaluó la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de *C. spinosa* frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*, microorganismos frecuentemente asociados a la formación de biopelículas en pacientes con aparatología ortodóncica. Los resultados evidenciaron que la actividad antimicrobiana de *C. spinosa* está influenciada principalmente por el microorganismo evaluado, la concentración del extracto y el órgano vegetal

empleado, mientras que el método de extracción no mostró diferencias significativas en la magnitud del halo de inhibición.

En relación con la susceptibilidad microbiana, *Enterococcus faecalis* presentó los mayores diámetros de inhibición, seguido por *Staphylococcus aureus*, mientras que *Streptococcus mutans* mostró una respuesta menor. Este hallazgo concuerda con estudios previos que han reportado una elevada sensibilidad de *E. faecalis* a



extractos etanólicos de *C. spinosa*<sup>31</sup>, atribuida a la interacción de los taninos hidrolizables con la pared celular bacteriana, alterando su permeabilidad y viabilidad celular<sup>34</sup>. Asimismo, la menor susceptibilidad observada en *S. mutans* es consistente con lo descrito por Macedo et al. (2023)<sup>33</sup>, quienes señalan que la estructura del biofilm y la capacidad acidogénica de esta especie pueden limitar la difusión y acción de compuestos fenólicos.

La concentración del extracto mostró un efecto dosis-dependiente claro, observándose un incremento progresivo del diámetro del halo de inhibición al aumentar la concentración de 200 a 1000 mg/mL. Este comportamiento coincide con lo reportado por Ibieta G y Peñarrieta M (2021)<sup>37</sup>, quienes describen que concentraciones elevadas de taninos y polifenoles derivados de *C. spinosa* potencian la actividad antimicrobiana frente a bacterias grampositivas. No obstante, la ausencia de diferencias significativas entre las concentraciones de 800 y 1000 mg/mL sugiere la posible existencia de un efecto de saturación, fenómeno previamente descrito para extractos ricos en compuestos fenólicos, donde el incremento de la dosis no se traduce necesariamente en una mayor inhibición microbiana (Huang J, Zaynab M, 2024)<sup>35</sup>.

Respecto al órgano de la planta, los extractos obtenidos a partir de vainas presentaron consistentemente los mayores diámetros de inhibición, tanto en el análisis global como en el análisis estratificado por cepa, particularmente frente a *S. aureus* y *E. faecalis*. Estos resultados son concordantes con lo descrito por Guillén J, Rojas W, Duarte R (2024)<sup>38</sup>, quienes reportan una mayor concentración de taninos hidrolizables y compuestos fenólicos en las vainas de *C. spinosa*, en comparación con otros órganos vegetales. La menor actividad observada en los extractos de hojas podría explicarse por diferencias en el perfil fitoquímico y en la disponibilidad de metabolitos bioactivos con acción antimicrobiana.

El método de extracción, por su parte, no mostró un efecto significativo sobre el diámetro del halo de

inhibición. Este hallazgo sugiere que tanto la maceración en frío como la extracción mediante evaporación rotatoria con evaporación rotatoria fueron igualmente eficaces para la obtención de compuestos antimicrobianos, lo cual coincide con lo reportado por Seijas et al. (2022)<sup>36</sup> y Pareja et al. (2020)<sup>23</sup>, quienes indican que, bajo condiciones controladas de temperatura y solvente, ambos métodos permiten preservar la actividad biológica de los taninos de *C. spinosa*. Desde una perspectiva aplicada, este resultado resulta relevante, ya que la maceración en frío representa una alternativa más accesible y de menor costo para la obtención de extractos con potencial farmacológico.

Una limitación relevante del presente estudio es la ausencia de determinaciones de concentración mínima inhibitoria (MIC) y concentración mínima bactericida (MBC), las cuales permiten cuantificar con mayor precisión la potencia antimicrobiana de los extractos. El método de difusión en agar empleado constituye una herramienta de cribado inicial ampliamente utilizada para identificar extractos con actividad antimicrobiana, pero no sustituye a los ensayos de dilución en caldo requeridos para una caracterización farmacológica más profunda. No obstante, estudios previos han reportado valores de MIC para extractos ricos en taninos derivados de *C. spinosa* y especies afines, particularmente frente a bacterias grampositivas, lo que sugiere que la actividad observada en el presente estudio podría estar relacionada con concentraciones efectivas de compuestos fenólicos bioactivos. En este contexto, los extractos que mostraron mayor diámetro de inhibición, especialmente aquellos obtenidos a partir de vainas, representan candidatos prioritarios para futuros estudios de MIC y MBC.

La mayor actividad antimicrobiana observada en los extractos obtenidos a partir de vainas puede explicarse, al menos en parte, por diferencias en la composición fitoquímica entre los órganos vegetales. Diversos estudios han demostrado que las vainas de *C. spinosa* presentan un mayor contenido de taninos hidrolizables y



compuestos fenólicos, como galotaninos y derivados del ácido gálico, en comparación con otros órganos de la planta. Estos compuestos han sido ampliamente asociados con actividad antimicrobiana mediante mecanismos que incluyen la alteración de la permeabilidad de la pared celular bacteriana y la inactivación de proteínas esenciales. Aunque en el presente estudio no se realizó una caracterización fitoquímica cuantitativa del extracto, los resultados obtenidos son coherentes con la literatura disponible y sugieren que los taninos podrían desempeñar un papel central en la actividad antimicrobiana observada.

En el contexto clínico ortodóncico, los hallazgos de este estudio adquieren particular importancia, dado que la presencia de *S. aureus*, *S. mutans* y *E. faecalis* en la cavidad oral ha sido ampliamente documentada en pacientes portadores de aparatología fija, asociándose a un mayor riesgo de caries y enfermedad gingivoperiodontal<sup>7,8,10-13,39</sup>. En este sentido, los extractos etanólicos de *C. spinosa*, especialmente los obtenidos a partir de vainas y a concentraciones elevadas, podrían representar una alternativa prometedora para el desarrollo de formulaciones antisépticas complementarias, orientadas a la prevención y control de biofilms en ortodoncia.

Desde una perspectiva farmacológica, es importante considerar que las concentraciones efectivas observadas en este estudio son relativamente elevadas, lo que podría limitar su aplicación clínica directa. En este sentido, futuras investigaciones deberían orientarse al aislamiento y purificación de los compuestos más activos o al desarrollo de formulaciones que potencien su efecto antimicrobiano. Asimismo, aunque *C. spinosa* ha sido utilizada tradicionalmente con fines medicinales, se ha reportado que altas concentraciones de taninos pueden generar efectos irritantes, por lo que la evaluación de la seguridad y citotoxicidad resulta indispensable antes de considerar aplicaciones clínicas.

No obstante, este estudio presenta algunas limitaciones. Al tratarse de un modelo in vitro, los resultados no

pueden extrapolarse directamente al entorno clínico, donde factores como la saliva, la dinámica del biofilm y la interacción con tejidos orales pueden modificar la actividad antimicrobiana. Asimismo, no se realizó la caracterización fitoquímica cuantitativa de los extractos, lo que limita la identificación precisa de los compuestos responsables de la actividad observada. Futuros estudios deberían incorporar análisis químicos detallados, modelos de biofilm multi especies y evaluaciones in vivo para confirmar el potencial terapéutico de *C. spinosa* en el ámbito odontológico.

## CONCLUSIONES

Los extractos etanólicos de *C. spinosa* presentaron actividad antimicrobiana in vitro frente a microorganismos relevantes asociados a la biopelícula oral en pacientes con aparatología ortodóncica. La actividad observada estuvo condicionada principalmente por la cepa bacteriana evaluada, la concentración del extracto y el órgano vegetal empleado, lo que evidencia un comportamiento antimicrobiano diferencial dependiente de estos factores.

Los resultados obtenidos respaldan el potencial de *C. spinosa* como fuente de compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana, particularmente a partir de extractos obtenidos de vainas y a concentraciones elevadas. Asimismo, la ausencia de diferencias relevantes entre los métodos de extracción evaluados sugiere que ambos procedimientos constituyen alternativas viables para la obtención de extractos con actividad antimicrobiana.

En conjunto, estos hallazgos aportan evidencia preliminar que sustenta el interés farmacológico de *C. spinosa* y justifican la realización de estudios posteriores orientados a la caracterización fitoquímica, la determinación de concentraciones mínimas inhibitorias y la evaluación de su seguridad, con miras a su posible aplicación en el control del biofilm asociado a la aparatología ortodóncica.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. Sedghi L, DiMassa V, Harrington A, Lynch S, Kapila Y. The oral microbiome: role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontol* 2000. 2021 Oct 31;87(1):107–31. doi:10.1111/prd.12393
2. Lamont R, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiome: diversity, biogeography and human health. *Nat Rev Microbiol*. 2024 Feb 12;22(2):89–104. doi:10.1038/s41579-023-00963-6
3. Tian S, Ding T. Oral microbiome in human health and diseases. *mLife*. 2024 Sep 16;3(3):367–83. doi:10.1002/mlf2.12136
4. Rajasekaran J, Krishnamurthy H, Bosco J, Jayaraman V. Oral microbiome: a review of its impact on oral and systemic health. *Microorganisms*. 2024 Aug 29;12(9):1797. doi:10.3390/microorganisms12091797
5. Bostanghadiri N, Kouhzad M, Taki E, Elahi Z, Khoshbayan A. Oral microbiota and metabolites: key players in oral health and disorder, and microbiota based therapies. *Front Microbiol*. 2024 Aug 20;15. doi:10.3389/fmicb.2024.1431785
6. World Health Organization. Oral health. 2025. Oral health.
7. Meddah S, Bouamra A, Boudjelal H, Fouatih N. The impact of orthodontic treatment on the periodontium: a literature review. *Journal of Dentistry and Oral Medicine*. 2024 May 4;6(03):22–6. doi:10.36349/easjdom.2024.v06i03.001
8. Fabado B, Lozano M, Alemán O, Haya M, Cabo M, Ribes C. Risk in patients with orthodontic treatment. *Acta Scientific Dental Sciences*. 2024;8:27–43.
9. Contaldo M, Lucchese A, Lajolo C, Rupe C, Di Stasio D, Romano A, et al. The oral microbiota changes in orthodontic patients and effects on oral health: an overview. *J Clin Med*. 2021 Feb 16;10(4):2–13. doi:10.3390/jcm10040780
10. Zheng J, Wang X, Zhang T, Jiang J, Wu J. Comparative characterization of supragingival plaque microbiomes in malocclusion adult female patients undergoing orthodontic treatment with removable aligners or fixed appliances: a descriptive cross sectional study. *Front Cell Infect Microbiol*. 2024 May 13;14. doi:10.3389/fcimb.2024.1350181
11. Zheng J, Wang X, Zhang T, Jiang J, Wu J. Assessment of oral health status of patients undergoing fixed orthodontics: a clinical study. *J Pharm Bioallied Sci*. 2021 Nov;13(Suppl 2):S1259–62. doi:10.4103/jpbs.jpbs\_41\_21
12. ElNaghy R, Al Qawasmi R, Hasanin M. Does orthodontic treatment using clear aligners and fixed appliances affect periodontal status differently? *Evid Based Dent*. 2023 Jun 15;24(2):73–4. doi:10.1038/s41432-023-00890-8
13. Chauhan A, Mishra N, Patil D, Shinde K, Sureshkumar S, Gaikwad S, et al. Impact of orthodontic treatment on the incidence of dental caries in adolescents: a prospective cohort study. *Cureus*. 2024 Mar 10;16(3). doi:10.7759/cureus.55898
14. De La Cruz M, Benites S, Rodríguez I, Salazar M, Rojas W, Otiniano N. Antimicrobial Potential of Tara Hydroalcoholic Extract (*Caesalpinia spinosa*) against *Streptococcus* Associated with Strep Throat. *Processes*. 2023 Jun 8;11(6):1754. doi:10.3390/pr11061754
15. Huang J, Zaynab M, Sharif Y, Khan J, Al-Yahyai R, Sadder M, et al. Tannins as antimicrobial agents: Understanding toxic effects on pathogens. *Toxicon*. 2024 Aug;247:107812. doi:10.1016/j.toxicon.2024.107812
16. Grari O, Ezrari S, ElYandouzi I, Benaissa E, Ben L, Lahmer M, et al. A comprehensive review on biofilm-associated infections: mechanisms, diagnostic challenges, and innovative therapeutic strategies. *Microbe*. 2025 Sep;8:1–13. doi:10.1016/j.microb.2025.100436
17. Giaouris E, Habimana O. The battle against biofilms: a focus on novel antimicrobial strategies and their mechanisms of action. *Antibiotics*. 2025 Jan 21;14(2):111. doi:10.3390/antibiotics14020111



18. Kang X, Yang X, He Y, Guo C, Li Y, Ji H, et al. Strategies and materials for the prevention and treatment of biofilms. *Mater Today Bio*. 2023 Dec;23:1–20. doi:10.1016/j.mtbio.2023.100827
19. Fernandes S, Gomes I, Simões M, Simões L. Novel chemical based approaches for biofilm cleaning and disinfection. *Curr Opin Food Sci*. 2024 Feb;55:1–14. doi:10.1016/j.cofs.2024.101124
20. Grooters K, Ku J, Richter D, Krinock M, Minor A, Li P, et al. Strategies for combating antibiotic resistance in bacterial biofilms. *Front Cell Infect Microbiol*. 2024 Jan 19;14. doi:10.3389/fcimb.2024.1352273
21. Liu H, Prentice E, Webber M. Mechanisms of antimicrobial resistance in biofilms. *npj Antimicrobials and Resistance*. 2024 Oct 1;2(1):27. doi:10.1038/s44259-024-00046-3
22. Uruén C, Chopo G, Tommassen J, Mainar J, Arenas J. Biofilms as promoters of bacterial antibiotic resistance and tolerance. *Antibiotics*. 2020 Dec 23;10(1):3. doi:10.3390/antibiotics10010003
23. Pareja M, Pardo K, Jurado B, Guillen A, Romero A, Meneses L. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze “tara” Fabaceae sobre bacterias de la biopelícula bucal. *Diagnóstico*. 2020 Oct 13;59(1):5–11. doi:10.33734/diagnostico.v59i1.201
24. Soleymani F, Pérez C, Makiabadi M, Maté J. Mapping worldwide antibiotic use in dental practices: a scoping review. *Antibiotics*. 2024 Sep 8;13(9):1–17. doi:10.3390/antibiotics13090859
25. Naghavi M, Vollset S, Ikuta K, Swetschinski L, Gray A, Wool E, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet*. 2024 Sep;404(10459):1199–226. doi:10.1016/S0140-6736(24)01867-1
26. Naddaf M. 40 million deaths by 2050: toll of drug-resistant infections to rise by 70%. *Nature*. 2024 Sep 26;633(8031):747–8. doi:10.1038/d41586-024-03033-w
27. Zouine N, Ghachtouli N, Abed S, Koraichi S. A comprehensive review on medicinal plant extracts as antibacterial agents: factors, mechanism insights and future prospects. *Sci Afr*. 2024 Dec;26:23–95. doi:10.1016/j.sciaf.2024.e02395
28. Riaz M, Khalid R, Afzal M, Anjum F, Fatima H, Zia S, et al. Phytobioactive compounds as therapeutic agents for human diseases: a review. *Food Sci Nutr*. 2023 Jun 17;11(6):2500–29. doi:10.1002/fsn3.3308
29. Abdallah E, Alhatlani B, Menezes P, Martins C. Back to nature: medicinal plants as promising sources for antibacterial drugs in the post-antibiotic era. *Plants*. 2023 Aug 28;12(17):30–77. doi:10.3390/plants12173077
30. Ansari P, Reberio A, Ansari N, Khan J, Chowdhury S, Abd E, et al. Therapeutic potential of medicinal plants and their phytoconstituents in diabetes, cancer, infections, cardiovascular diseases, inflammation and gastrointestinal disorders. *Biomedicines*. 2025 Feb 12;13(2):45–7. doi:10.3390/biomedicines13020454
31. Flores C. Efecto antimicrobiano in vitro de extractos de *Caesalpinia spinosa* (algarrobo) sobre patógenos orales. *Revista de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires*. 2022;37(2):45–52.
32. Villavicencio B. Efecto antimicrobiano in vitro de extractos de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos betalactámicos. *Odontología Sanmarquina*. 2021;24(3):205–14. doi:10.15381/os.v24i3.18433
33. Macedo S, Cano D, Quispe E, Bonet A, Machaca H, Loayza M, et al. Efecto in vitro de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia espinosa* (tara) sobre *Streptococcus mutans*. *Rev Investig*. 2023 Jun 30;12(2):81–92. doi:10.26788/ri.v12i2.3706
34. Rivera M. Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “tara” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con eritromicina. *Vallejian Medical Journal*. 2020;9(1):52–5. doi:10.18050/revistamedicavallejiana.v9i1.2504



35. Desai S, Prajapati V, Chandarana C. Chemistry, biological activities, and uses of tara gum. In. 2022. p. 1–24. doi:10.1007/978-3-030-76523-1\_11-1
36. Seijas S, Seijas P, Seijas N, Salgado L, Esquivel C, Gonzalez JL. Parameters energy in the industrial production of tannins of *Caesalpinia spinosa* kuntze (Tara). Rev Cienc Tecnol. 2022 Mar 18;18(1):189–201. doi:10.17268/rev.cyt.2022.01.14
37. Ibieta G, Peñarrieta J. Caracterización química y cuantificación de taninos del polvo de *caesalpinia spinosa*: tara boliviana. Rev Bol Quim. 2021 Apr 30;38(1):26–35. doi:10.34098/2078-3949.38.1.3
38. Guillén J, Rojas W, Duarte R. Andean fabaceae species with pharmacological potential: exploration of antioxidant, anticarcinogenic, and antimicrobial properties. Agriculture. 2024 Dec 20;14(12):2337. doi:10.3390/agriculture14122337
39. Contaldo M, others. The Oral Microbiota Changes in Orthodontic Patients and Effects on Oral Health: An Overview. J Clin Med. 2021;10(4). doi:10.3390/jcm10040780

### **Conflictos de intereses**

*Los autores señalan que no existe conflicto de intereses durante la realización del estudio, no se recibió fondos para la realización del mismo, el presente solo fue sometido a la Revista Científica "Universidad Odontológica Dominicana" para su revisión y publicación*

### **Financiamiento**

*Los autores indican la utilización de fondos propios para la elaboración del trabajo de investigación.*

### **Declaración de contribución**

*Los autores han contribuido en elaboración del trabajo de investigación, en las diferentes partes del mismo*

### **Agradecimiento**

*Los autores agradecen a la Universidad Católica de Cuenca, Cuenca, Ecuador, por su apoyo constante y oportuno. Asimismo, reconocen al Laboratorio de Genética y Biología Molecular por brindar las instalaciones y el apoyo técnico necesarios para el desarrollo de este estudio.*