

Duazary / Vol. 16, No. 1 - 2019 / 105 - 114
DOI: <http://dx.doi.org/10.21676/2389783X.2533>



Evaluación del efecto antibacteriano del látex de *Jatropha curcas* “piñón” frente a *Staphylococcus aureus*

Evaluation of the antibacterial effect of latex *Jatropha curcas* “piñón” in front of *Staphylococcus aureus*

Título corto: Evaluación del efecto antibacteriano del látex

Guillermo José Gallardo-Vásquez¹ , Juana Elvira Chávez-Flores² , Martha Contreras-Torvisco³ 

Tipología: Artículo de investigación científica y tecnológica

Para citar este artículo: Gallardo-Vásquez GJ, Chávez-Flores JE, Contreras-Torvisco M. Evaluación del efecto antibacteriano del látex de *Jatropha curcas* “piñón” frente a *Staphylococcus aureus*. Duazary. 2019 enero; 16(1): 105-114. Doi: <http://dx.doi.org/10.21676/2389783X.2533>

Recibido en abril 13 de 2017

Aceptado en julio 13 de 2018

Publicado en línea en septiembre 01 de 2018

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del látex de *Jatropha Curcas* “Piñón” frente a *Staphylococcus aureus*. El método de difusión en disco, de Kirby Bauer, fue usado en la investigación; las concentraciones del látex de *Jatropha Curcas* “Piñón” fueron las siguientes: 10%, 20%, 30%, 40% y 100% usando agua destilada como solvente. Se realizó análisis fitoquímico y prueba de solubilidad al látex de la planta en estudio. El látex de *Jatropha Curcas* “Piñón” fue muy soluble en agua destilada, etanol y metanol; además, según el análisis fitoquímico, el látex presentó flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, alcaloides y esteroides. La concentración del látex al 40% presentó el mayor efecto antibacteriano a un nivel de confianza del 95%, y un error relativo del 5%.

Palabras clave: Antibacteriano; Látex; *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The present research aims to evaluate the antibacterial effect of *Jatropha Curcas* latex “Piñón” against *Staphylococcus aureus*. The disc diffusion method of Kirby Bauer was used in the research, the concentrations of *Jatropha Curcas* “Piñón” latex were as follows: 10%, 20%, 30%, 40% and 100% using distilled water as solvent. Phytochemical analysis

1. Instituto Nacional de Salud del Niño de San Borja. Lima, Perú. Correo: cienciasfarmaceuticas.qf@gmail.com - <http://orcid.org/0000-0002-6199-2328>

2. Universidad Norbert Wiener. Lima, Perú. Correo: qfwinerianos@gmail.com - <http://orcid.org/0000-0001-6206-3398>

3. Universidad Norbert Wiener. Lima, Perú. Correo: marthaqf.282@gmail.com - <http://orcid.org/0000-0002-5116-772X>

and solubility test were performed on the latex of the plant under study. *Jatropha Curcas* “Piñón” latex was very soluble in distilled water, ethanol and methanol. According to the phytochemical analysis the latex presented flavonoids, tannins, phenolic compounds, alkaloids and steroids. The concentration of latex at 40% had the highest antibacterial effect at a 95% confidence level and a relative error of 5%.

Keywords: Antibacterial; Kirby Bauer; *Staphylococcus aureus*.

INTRODUCCIÓN

En muchas poblaciones donde el acceso a la salud es limitado, las plantas medicinales son una buena alternativa para prevenir o curar alguna enfermedad; son baratos y generan una primera intención en su uso. En África, los productos naturales son la primera opción para la cura de enfermedades^{1,2}.

La Organización Mundial de la salud³ (OMS) actualmente ha publicado el listado de patógenos prioritarios resistentes a los antibióticos; con ello, busca que investigadores a nivel mundial generen nuevo conocimiento con respecto a Investigación y Desarrollo (I+D) de nuevos antibióticos para combatir la resistencia bacteriana. Estas bacterias han adquirido diferentes mecanismos de resistencia a los antibióticos, por ejemplo, la formación de plásmidos, modificación de la membrana plasmática, etc. Uno de estos microorganismos es el *Staphylococcus aureus*, y es la razón por la que la investigación busca una nueva alternativa contra el microorganismo, y así ampliar la gama de antibacterianos existentes en la actualidad.

El uso irracional de antimicrobianos sintéticos propicia el aumento de resistencia bacteriana e inmunodepresión; esto constituye una gran amenaza mundial, ya que las bacterias pueden generar mecanismos que impidan que el antibiótico pueda alterar su crecimiento o erradicarlos.

En los últimos años, la producción de nuevas moléculas es lenta, ha disminuido. La industria farmacéutica invierte millones en su investigación, ya que les conviene producir medicamentos que serán usados permanentemente y no los que serán usados solo en un lapso, como los antibióticos.

Una de las respuestas para conseguir alternativas a los antibióticos sintéticos es la fitoquímica y fitofarmacología, logrando encontrar y aislar nuevas moléculas; por consiguiente, las plantas medicinales son una buena fuente de metabolitos secundarios, muchos de los cuales pueden presentar efecto antibacteriano⁴.

La familia Euphorbiaceae es la sexta familia de plantas con flores más diversas, conformada por aproximadamente 8000 especies agrupadas en 317 géneros; se encuentran distribuidas en la región tropical y subtropical. Las especies de esta familia se caracterizan por sus variaciones morfológicas, que van desde árboles hasta arbustos, hierbas y lianas. El género *Jatropha*, perteneciente a esta familia, cuenta con más de 70 especies que se destacan por su dureza, rápido crecimiento y fácil propagación; las semillas de *Jatropha*, especialmente *J. pohliana*, *J. gossypifolia* y *J. curcas*, tienen un alto contenido de aceite, lo cual ha permitido que estas especies se consideren como cultivos potenciales para la producción de biodiesel⁵.

La especie *Jatropha curcas* es un arbusto o árbol pequeño, originario de América pero amplia-

mente cultivado en países de Asia y África; es reconocida por ser un excelente cultivo debido a que se adapta fácil a zonas áridas, semiáridas y de alta pluviosidad, además, tiene pocas plagas y enfermedades. A nivel biológico el género se utiliza ampliamente en el control de plagas, por sus propiedades como insecticida y fungicida. En diferentes especies del género *Jatropha* se han evidenciado usos medicinales, en especial en el tratamiento de infecciones de la piel, enfermedades de transmisión sexual, ictericia y fiebre⁶⁻⁹.

En las hojas de *J. curcas* se han identificado metabolitos como apigenina, vitexina e isovitexina, que pueden ser utilizados contra la malaria, el reumatismo y los dolores musculares. El látex se utiliza como desinfectante en las infecciones bucales y se ha establecido que contiene compuestos con propiedades anticancerígenas como jatrophina, jatrofano, y curcaina. Se ha observado actividad antimicrobiana de *Jatropha* frente *S. aureus* y *Escherichia coli*¹⁰⁻¹².

Extractos obtenidos de la semilla, las hojas, la corteza y el aceite de *J. curcas* han mostrado acción eficaz como purgante natural. La actividad antiinflamatoria y la utilización como tratamiento del reumatismo ha sido evidenciado mediante la utilización de las hojas de la planta sobre la región afectada. Los tallos de *J. curcas* se han utilizado para elaborar cepillos de dientes con el fin de fortalecer las encías, reducir y evitar la presencia de abscesos. La raíz se ha utilizado para el tratamiento de la neumonía, la sífilis y como abortivo, purgante y desinflamatorio local. Las semillas son la base de muchos medicamentos que se utilizan para la ascitis, la gota y enfermedades de la piel. El látex se ha utilizado para promover la curación de heridas, úlceras y como astringente en cortes y contusiones^{13,14}.

De acuerdo a los antecedentes encontrados, existe poca evidencia del análisis del látex del tallo de *J. curcas*, por ello el objetivo del estudio es evaluar su efecto antibacteriano frente a *S. aureus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del Estudio

Diseño descriptivo, donde la variable independiente son las concentraciones de látex de *J. Curcas* “Piñón” (10%, 20%, 30%, 40% y 100 %). La variable dependiente es el efecto antibacteriano.

Muestra Utilizada

El material vegetal fue recolectado en el Departamento de Piura, provincia de Morropón, distrito de San Juan de Bigote ubicada a una altitud de 174 msnm (metros sobre el nivel del mar)¹⁵⁻¹⁹.

Obtención del látex

Para la obtención de 10 mL del látex de *J. Curcas* “Piñón” se realizaron incisiones oblicuas en el tallo, con un machete de acero inoxidable y mango de madera, y se recogió el exudado en un frasco de vidrio, el cual fue transportado en un Tecnopor con geles de hielo. Las incisiones realizadas en la planta fueron limpiadas alrededor con la ayuda de alcohol de 70°.

Prueba de Solubilidad y Marcha Fitoquímica

En tubos de ensayo se colocaron 0,5 mL de solvente y 0,5 mL de látex de *J. Curcas* “Piñón”. Mediante observación directa se determinó la solubilidad del látex. Se usaron diferentes reactivos de acuerdo al metabolito secundario a identificar, para ello se usó 0,5 mL de látex en cada caso.

Evaluación del efecto antibacteriano: método de Kirby Bauer

Para evaluar el efecto antimicrobiano se usó el método de Kirby – Bauer, para ello se utilizó cepa pura de *S. aureus* ATCC 25923. El látex del tallo de *J. Curcas* “Piñón” fue preparado a diferentes concentraciones con agua destilada (10%, 20%, 30%, 40% y 100%) y se utilizaron 30 discos de papel whatman N°4 de 6 mm de diámetro.

Se preparó el inóculo ajustándose al 0,5 de la escala de McFarland¹¹ con suero fisiológico al 0,9%, y se usaron hisopos estériles a una distancia de 10 cm del mechero de Bunsen para sembrar el inóculo en placas petri que contenían agar Mueller-Hinton; posteriormente, en cada placa, se colocaron los discos previamente embebidos con las diferentes concentraciones del látex del tallo de *J. Curcas* “Piñón”; las placas se incubaron en estufa a 37°C por 24 horas; finalmente se realizaron 5 repeticiones. Los halos de inhibición fueron medidos con un Vernier marca BullTools de 150 x 0,02 mm¹⁵⁻¹⁹.

La actividad del látex se clasificó en marcada ($d_{hi} > 16$ mm), moderada ($12 \text{ mm} < d_{hi} < 16 \text{ mm}$), ligera ($8 \text{ mm} < d_{hi} < 12 \text{ mm}$) o sin actividad ($d_{hi} < 8 \text{ mm}$), según los rangos de la escala utilizada por Toda *et al*²⁰.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos de la evaluación del efecto antibacteriano del Látex del Tallo de *J. Curcas* “Piñón” fueron analizados estadísticamente, usando el programa SPSS ver. 22, aplicando la prueba de homogeneidad de varianza de Levene, Anova one way o de un factor y la prueba post hoc de Tukey.

Declaración sobre aspectos éticos

Se mantuvo la confidencialidad en el manejo de los datos. La información obtenida se manejó exclusivamente con fines científicos, respetando de esta manera todas las normas éticas de acuerdo con la Declaración de Helsinki.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se observa que el látex del tallo de *J. Curcas* “Piñón” presenta en su mayoría metabolitos secundarios polares; el solvente seleccionado para el estudio fue el agua destilada.

Tabla 1. Prueba de Solubilidad del Látex del Tallo de *J. Curcas* “Piñón”.

Solventes	Látex
Agua Destilada	+
Etanol	+
Metanol	+
Butanol	-
Acetato de Etilo	-
Cloroformo	-
Hexano	-
Acetona	-
Benceno	-
Éter Etlíco	-
Éter de Petróleo	-

En la Tabla 2 se observa que el látex del tallo de *J. Curcas* “Piñón” presenta metabolitos secundarios que le pueden brindar efecto antibacteriano como los flavonoides y compuestos fenólicos. Los alcaloides por lo general brindan acción

euforizante, y otros como depresores del sistema nervioso central. Los triptenos no están muy relacionados con el efecto antibacteriano, al igual que los carbohidratos.

Tabla 2. Análisis Fitoquímico del Látex del Tallo de *J. Curcas* “Piñón”.

Reactivos	Metabolitos	Látex
AlCl ₃	Flavonoides	+
Shinoda	Flavonoides	+
Gelatina/NaOH	Taninos	+
FeCl ₃	Compuestos Fenólicos	+
Dragendorff	Alcaloides	+
Mayer	Alcaloides	+
Popoff	Alcaloides	+
Sonneschein	Alcaloides	+
Wagner	Alcaloides	+
Molisch	Carbohidratos	+
Liebermann - Burchard	Esteroides y/o Triterpenos	+

En las Tabla 3 se observa que todas las medias se encuentran dentro de los límites establecidos a un intervalo de confianza del 95% y un error relativo del 5%, por ello ningún dato se excluye.

Tabla 3. Estadística descriptiva del promedio de los halos de inhibición del Látex del Tallo de *J. Curcas* “Piñón”.

Concentración del látex (%)	Muestra por concentración	Promedio de Halos de inhibición	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
10,00	5	0	0	0	0	0	0	0
20,00	5	0	0	0	0	0	0	0
30,00	5	7,4240	0,94015	0,42045	6,2567	8,5913	6,00	8,48
40,00	5	8,8880	0,47510	0,21247	8,2981	9,4779	8,46	9,66
100,00	5	0	0	0	0	0	0	0
Total	25	3,2624	4,12774	0,82555	1,5586	4,9662	0	9,66

En la Tabla 4 se observa que las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneas, rechazando la hipótesis alternativa; con ello se aplicó la prueba Anova one way o de un factor.

Tabla 4. Prueba de Homogeneidad de Varianza: Estadístico de Levene.

	gl1	gl2	Sig.
5,698	4	20	0,003

Dónde: H_0 = Las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneos ($P < 0,05$).

H_1 = Las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneos ($P > 0,05$).

En la Tabla 5 se muestra que $P < 0,05$; por ello, se afirma la hipótesis alternativa, es decir, existe diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de látex.

Tabla 5. ANOVA de un factor.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	404.480	4	101.120	455.660	.000
Intra-grupos	4.438	20	.222		
Total	408.919	24			

DONDE: H_0 = No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0,05$)

H_1 = Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0,05$).

En la Tabla 6 se observa que el promedio de halos de inhibición del látex a concentración del 10%, 20% y 100% son estadísticamente iguales, además no se observó efecto antibacteriano. Con respecto al promedio de halos de inhibición del látex a concentraciones del 30% y 40% presentan diferencias significativas.

Tabla 6. Prueba de Tukey: subconjunto de grupos.

Concentración del látex (%)	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
10,00	5	0		
20,00	5	0		
100,00	5	0		
30,00	5		7,4240	
40,00	5			8,8880
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,000.

DISCUSIÓN

En la actualidad, obtener nuevas alternativas antibióticas es de suma importancia, ya que los microorganismos están en constante desarrollo de resistencia mediante diferentes mecanismos. Es por ello que el presente trabajo busca generar conocimiento en cuanto al látex de *J. Curcas* “Piñón”, y su efecto antibacteriano a diferentes concentraciones.

En el análisis fitoquímico realizado del látex del tallo de *J. Curcas* “Piñón” se obtuvo resultados positivos en esteroides y/o triterpenos, taninos y compuestos fenólicos coincidiendo con Kisangau *et al*²¹. que en el extracto que obtuvieron de las hojas a base de éter, agua y diclorometano obtuvo resultados negativos en algunos metabolitos como flavonoides, alcaloides y antraquinonas y positivo para terpenoides, taninos y compuestos fenólicos (tabla 2). González *et al*²². realizaron el estudio de la toxicidad aguda de semillas de *J. Curcas*, para ello realizaron un análisis fitoquímico preliminar, obteniendo alcaloides en abundancia y lactonas, triterpenos, esteroides y antocianinas coincidiendo en alguno de ellos con el estudio^{22,23}.

El método de Kirby Bauer o de difusión de disco es usado para determinar el efecto antibacteriano de cualquier compuesto químico o planta, y en el estudio no fue la excepción. Pabón *et al*²³. También aplicó el mismo método usando extractos obtenidos con solventes éter, diclorometano y etanol; además otros estudios que han empleado la misma metodología obtuvieron que las hojas y raíces poseen actividad antibacteriana, debido a la presencia de fenoles (ácido gálico y pirogálico) y de saponinas y flavonoides²⁴⁻²⁶. El efecto antibacteriano se atribuye

a la mezcla de los compuestos en mención y su acción en diferentes orgánulos de la célula, por ello no se sabe con exactitud el mecanismo celular antimicrobiano²⁷⁻³⁴.

Kisangau *et al*²¹ dentro de su estudio también realizó el ensayo de difusión de disco para determinar el efecto antibacteriano in vitro de varias plantas. Dentro de sus resultados obtuvo que el extracto acuoso de las hojas de *J. Curcas* “Piñón”, a una concentración de 85mg/mL, presentó un halo de inhibición promedio de 40,0 mm frente a *S. aureus*; por consiguiente, se confirma su efecto antibacteriano frente a esta bacteria al igual que en el estudio, pero usando el látex y obteniendo un halo de inhibición promedio de 8,888 mm a una concentración del 40%.

En el análisis fitoquímico del látex de *J. Curcas* “Piñón”, se determinó la presencia de esteroides y/o triterpenos (tabla 2). El principal mecanismo de los terpenoides consiste en alterar la membrana celular bacteriana mediante diferentes vías, ya sea permitiendo la entrada de iones, generando inestabilidad en la membrana plasmática como alterando el ordenamiento de la bicapa lipídica. Kaya *et al*³⁵ corroboraron estos mecanismos mediante microscopía electrónica de barrido en células de microorganismos no tratados y tratados con extractos de *Ocimum basilicum*.

En el presente estudio se observa que el halo de inhibición máximo obtenido en promedio fue de 8,888 mm a una concentración del 40%, por lo que presenta una actividad antibacteriana ligera según la clasificación de Toda *et al*²⁰ a un nivel de confianza del 95% y un error relativo del 5% (tablas 3-6).

DECLARACIÓN SOBRE CONFLICTOS DE INTERESES

El presente estudio fue realizado mediante fondos propios del grupo de investigación. Los autores declaran ser independientes respecto a las instituciones financiadoras y de apoyo, y durante la ejecución del trabajo o la redacción del manuscrito no han incidido intereses o valores distintos a los que usualmente tiene la investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guerra M, Rodríguez J, García S, Llerena R. Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus* (DC). *Stapf. Rev Cubana Plant Med* [Internet]. 2004 Ago [citado 2017 Mar 26]; 9 (2): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962004000200005&lng=es.
2. Khan M, Kihara M, Omoloso A. Antimicrobial activity of *Symplocos cochinchinensis*. *Fitoterapia*. 2001; 72(7):825-8.
3. Organización Mundial de la Salud [Internet]. Ginebra: OMS; 2017 [actualizado 27 feb 2017; citado 19 mar 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/>
4. Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía peruana. 2da ed. Lima: Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI) e Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP); 2000.
5. Oliveira J, Leite P, Souza L, Mello V, Silva E, Rubim J, et al. Characteristics and composition of *Jatropha gossypifolia* and *Jatropha curcas* L. oils and application for biodiesel production. *Biomass Bioenergy*. 2009; 33(3):449-53
6. Openshaw K. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biomass Bioenergy*. 2000;19 (1):1-15.
7. Joon J, Damayani K, Ta W, Taufiq H. Biodiesel production from *Jatropha* oil by catalytic and non-catalytic approaches: An overview. *Bioresource Technol*. 2011;102(2):452-60
8. King A, He W, Cuevas J, Freudenberger M, Ramiaramananana D, Graham I. Potential of *Jatropha curcas* as a source of renewable oil and animal feed. *J Experimental Botany*. 2009; 60:(10):2897-905
9. Misra P, Toppo D, Gupta N, Chakrabarty D, Tuli R. Effect of antioxidants and associate changes in antioxidant enzymes in controlling browning and necrosis of proliferating shoots of elite *Jatropha curcas* L. *Biomass Bioenergy*. 2010; 34(12):1861-9
10. Thomas R, Sah NK, Sharma PB. Therapeutic biology of *Jatropha curcas*: a mini review. *Curr Pharm Biotechnol*. 2008; 9(4):315-24
11. Saetae D, Worapot S. Antifungal activities of ethanolic extract from *Jatropha curcas* seed cake. *J Microbiol Biotechnol*. 2010;20(2), 319-24.
12. Saetae D, Worapot S. Toxic compound, anti-nutritional factors and functional properties of protein isolated from detoxified *Jatropha curcas* seed cake. *International. J Molecular Sciences*. 2011;12(1):66-77
13. Saetae D, Worapot S. Antifungal activities of ethanolic extract from *Jatropha curcas* seed cake. *J Microbiol Biotechnol*. 2010;20(2),319-24
14. Carrasco-Rueda JM, Fartolino-Guerrero A, Sánchez-Chávez A, Luján-Reyes J, Pachas-Quiroz A, Castilla-Candela LC, et al. Efecto sobre la motilidad intestinal del extracto de alcaloides de semilla de *Jatropha curcas* L. *Rev cubana Plant Med*. 2013; 18(1); 84-91.

15. Mujumdar AM, Misar AV. Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* roots in mice and rats. *J Ethnopharmacol.*2004; 90(1):11-15.
16. López J, Pérez J. Potencial etnomedicinal de dos especies tropicales del género *Jatropha* L. *Medicina Naturista.* 2011; 5(1):8-12.
17. Salazar A, Goicochea S, Zavala E, Cazusa L, Luján E, Pante C. Acción analgésica y neurofarmacológica de las fracciones soluble y no soluble del extracto etanólico de la semilla de *Jatropha curcas* L. *Acta Médica Peruana.* octubre de 2014; 31(4):213-9.
18. Martínez, M. Ausencia de actividad antimicrobiana de un extracto acuoso liofilizado de Aloe vera (sábila). *Rev. Cubana Plant Med.* 1996; 1(3):18-20.
19. Toda M, Okubo S, Mara Y, Shimamura T. Antibacterial and bactericidal activities of tea extracts and catechins against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Jap J Bacteriol.*991; 46(5):845-849.
20. Kisangau D, Hosea K, Lyaruu H. In vitro antimicrobial assay of plants used in Traditional Medicine in Bukoba Rural District, Tanzania. *Afri. J. Trad. CAM.* 2007; 4 (4): 510-23.
21. González R, Bohórquez J, Márquez L, De La Rosa C. Fotoquímica preliminar y evaluación de la toxicidad aguda de las semillas de *Jatropha Curcas Linneo*. *Actual Biol.* 2007; 27 (1): 109-111.
22. Pabón L, Vanegas J, Rendón M, Santos R, Hernández R. Actividad antioxidante y antibacteriana de extractos de hojas de cuatro especies agroforestales de la Orinoquía colombiana. *Rev Cubana Plant Med [Internet].* 2013 Mar [citado 2017 Abr 03]; 18(1): 57-70. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000100008&lng=es.
23. Udayakumar R, Hazzena B. Antimicrobial studies of some selected medicinal plants. *Ancient Sci. Life.* 2002; 21:230-234.
24. Mayta F, Sacsquispe S. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa - Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). *Rev Estomatol Herediana.* 2010; 20(1):19-24.
25. Pimentel E, Castillo D, Quintana M, Maurtua D, Villegas L, Díaz C. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. *Rev. Estomatol. Herediana [internet].* 2015. [citado 2017 abr 03]; 25(4):268-277. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1019-43552015000400004&lng=es&nrm=iso. ISSN 1019-4355.
26. Saïdana D, Mahjoub M, Boussaada O, Chriaa J, Mahjoub M, Chéraïf I, et al. Antibacterial and antifungal activities of the essential oils of two saltcedar species from Tunisia. *J Am Oil Chem Soc.* 2008; 85(9):817-26.
27. Cruz A, Rodríguez N, Rodríguez C. Evaluación in Vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* Y *Silybum marianum*. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica.* 2010; 13 (2): 117-124.
28. Boussaada O, Chriaa J, Nabli R, Ammar S, Saidana D, Mahjoub M, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of methanol extracts of *Evax pygmaea* (Asteraceae) growing wild in Tunisia. *World J Microbiol Biotechnol.*2008; 24(8):1289-96.
29. Atindehou K, Kone M, Terreaux C, Traore D, Hostettmann K, Dosso M. Evaluation of the antimicrobial potential of medicinal plants from the Ivory Coast. *Phyther Res.* 2002; 16(5):497-502.

30. Al-Bayati FA. Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha longifolia* L. leaves grown wild in Iraq. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2009; 8:20.
31. Guerra M, Rodríguez J, García G. Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf Rev Cubana Plant Med. 2004; 9(2).
32. Fabio A, Cermelli C, Fabio G, Nicoletti P, Quaglio P. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on microorganisms responsible for respiratory infections. Phytother Res. 2007; 21:374-377.
33. Maguna FP, Romero AM, Garro OA, Okulik NB. Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides. Facultad de Agroindustrias, UNNE, Argentina. 2006. (Comunicaciones Científicas y Tecnológicas en Internet). Consultado: 9 Oct 2008. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/>.
34. Kaya I, Yigit N, Benli M. Antimicrobial Activity of Various Extracts of *Ocimum basilicum* L. and Observation of the Inhibition Effect on Bacterial Cells by Use of Scanning Electron Microscopy. Afr J Traditional and Alternative Medicine. 2008; 5(4):363-369.