

Multimed 2012; 16(Supl 1)

ARTÍCULO ORIGINAL

Efecto antibacteriano de plantas de la flora cubana en Granma

Antibacterial effect of plants from the Cuban Flora in Granma

Ms. Quím. Biológ. Jorge L. Difurnó López,¹ Ms. Quím. Biológ. Caridad de la Paz Lorente,^{II} Ms. Quím. Biológ. Javier A. Frías Tamayo,^{II} Ms. Quím. Biológ. Javián Ocaña Ramírez,^{II} Ms. Enfer. Infecc. Rosa Ramírez Castillo.^{III}

¹ Universidad de Granma. Granma, Cuba.

^{II} Filial de Ciencias Médicas Haydee Santamaría Cuadrado. Manzanillo. Granma, Cuba.

^{III} Facultad de Ciencias Medicas Celia Sánchez Manduley. Manzanillo. Granma, Cuba.

RESUMEN

Lograr que la población cubana disponga de fitofármacos estudiados con rigurosidad ha sido el objetivo de muchos investigadores. Por ello, el presente estudio evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos vegetales acuosos obtenidos a partir de las especies vegetales: *Jatropha aethiopica* Muell Arg., *Pteris vittata* L., *Luffa cylindrica* L. y *Turnera ulmifolia* L., con el objetivo de establecer los patrones de mínima concertación inhibitoria, mínima concentración microcida y el comportamiento como microcida o microstático de los mismos ante la cepa control *S. aureus* ATCC 25923. Los extractos de *Pteris vittata* L y *Luffa cylindrica* L. frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC-25923 mostraron MCI de 1,562 - 3,125%, MCM de 3,125% y EF Microcida para el helecho mientras que para *Luffa* fue Microstático. El extracto de *Jatropha aethiopica* Muell Arg frente a la misma cepa mostró MCI de 0,781 – 1,562 %, MCM de 1,562 %, y EF Microcida. La MCI de *Turnera ulmifolia* L. frente a esas cepas salvajes es de 0,195 – 0,390%, MCM de 0,390% y EF Microstático.

Palabras Clave: plantas medicinales; fitoterapia.

ABSTRACT

The goal of many researchers has always been to get that Cuban population makes proper use of the phytopharmacs rigorously studied. Therefore, the current study evaluated the antimicrobial

activity in vitro of the aqueous vegetable extracts obtained from vegetable species: *Jatropha aethiopica* Muell arg., *Pteris vittata* L., *I. l.* and cylindrical *Luffa Turnera ulmifolia* L., with the objective to establish patterns of minimal inhibitory concentration, minimal microcid concentration and their microcid and microstatic behavior due to the presence of the ECA *S. aureus* strain control ATCC 25923. The extracts of *Pteris vittata* L and *Luffa cylindrical* L. from ECA *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 showed MCI of 1,562-3,125%, 3,125% MCM and EF Microcid for the fern mean while it was Microstatic for *Luffa*. The extract of *Jatropha aethiopica* Muell-Arg showed 0,781 MCI - 1,562%, MCM of 1,562%, and EF Microcid with the same strain. The MCI of *Turnera ulmifolia* L. was 0,195 - 0,390%, 0,390% MCM and EF Microstatic with these wild strains.

Key Words: medicinal plants; phytotherapy.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, a pesar del desarrollo que ha experimentado la Humanidad, las plantas medicinales continúan siendo un arsenal muy valioso, tanto de sustancias bio-activas como de sus precursores, con fines de productos de alta potencialidad debido a su contenido fitoquímicos y a su escaso efecto tóxico.¹⁻²

Desde la producción de penicilina hasta la actualidad, los antibióticos han curado muchas infecciones que pudieron haber sido letales. Sin embargo, su empleo indiscriminado y muchas veces erróneo ha contribuido a la selección de microorganismos resistentes. Todos los antibióticos de hoy en día, incluyendo a nuevos agentes como estreptograminas y nuevas generaciones de fluoroquinolonas, están sujetos también a la aparición de resistencia. Por todo ello surge la necesidad imperiosa de hacerle frente al problema antes citado, lo que ha llevado a investigadores y a la industria farmacéutica a buscar nuevas sustancias con actividad antimicrobiana, y es aquí donde los aportes de la Etnobotánica surgen como una novedosa probabilidad.¹⁻³

Muchos países se han involucrado en la obtención de medicamentos a partir de las plantas. En Europa ya se había estudiado la actividad anti-infecciosa de polifenoles extraídos del alto potencial florístico con que cuenta el viejo continente; pero son los países del Tercer Mundo quienes poseen primeros lugares en tales programas de estudio en aras de garantizar la obtención de biopreparados asequibles a toda la población que cuenten con la suficiente base científica y sean genuina expresión de sus experiencias etnobotánicas.²⁻⁶

En las condiciones de Cuba antes de 1960, la utilización de las plantas medicinales era patrimonio popular unido a necesidades no resueltas de la población. Esta rama de la medicina tradicional se

ha renovado con el uso y producción de plantas medicinales. Los profundos avances científicos de hoy han confirmado la vigencia del retorno a la tierra, no sólo para la producir alimentos, sino también medicamentos, actividades en las que la síntesis química irrumpió con gran fuerza en el siglo XX. Por eso siempre resultará importante tener en cuenta el conocimiento empírico del pueblo sobre el manejo y uso de estas especies para favorecer la conservación de tan importantes recursos fitogénéticos. ^{6 - 10}

Para la demostración de actividad antimicrobiana existe una amplia gama de metodologías pero hoy en día la opinión más generalizada plantea que una de las formas más eficientes, económicas y asequibles resultan las técnicas con discos de difusión en agar. Este método es uno de los más usados en el mundo, por la gran ventaja que posee sobre los demás, y sus parámetros ya han sido bien regulados por el National Committee for Clinicals Laboratory Standards (NCCLS). Pero también se dispone de otros como la dilución en medio de cultivo líquido y en agar, cuya laboriosidad, eficiencia y sensibilidad lo confina a investigaciones fundamentales. ⁷⁻¹¹

Lograr que la población cubana disponga de fitofármacos rigurosamente estudiados es un propósito de muchos investigadores. Por ello, el presente estudio pretende evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* de las tinturas obtenidas a partir de las especies vegetales siguientes: *Jatropha aethiopica* Muell Arg., *Pteris vittata* L., *Luffa cylindrica* L. y *Turnera ulmifolia* L., obtenidos en el Centro de Estudios de Química Aplicada de la Universidad de Granma.

METODO

Breve descripción botánica de las especies estudiadas:

***Jatropha aethiopica* Muell Arg. (Chaya).**

Es un árbol de varios metros de altura y más de 20 cm de diámetro en la base, muy ramificado y lechoso. Sus hojas son grandes., alternas, lampiñas, palmeadas y acorazonadas en la base, los lóbulos con dientes grandes y el pecíolo de 30 cm de longitud. Las plantas de este género son nativas de África, Norteamérica, y el Caribe. ²

Clasificación taxonómica:

Reino: Plantae.

División: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsidae.

Orden: Malpighiales.

Familia: Euforbiaceae.

Género: *Jatropha*.

Especie: *Jatropha aethiopica*. Muell Arg. ²

***Pteris vittata* L. (Helecho).**

Es un helecho muy característico de hojas con limbo muy largo y lanceolado. Las pinnas son muy numerosas, no divididas, lineares, agudas, de margen cerrado y auriculadas en la base. Los soros se encuentran en el envés de la hoja de forma lineal. Se trata de una especie calcífila y prospera mejor en lugares abiertos sobre rocas, muros, cerca de acequias, riachuelos, rocas que gotean por la humedad y paredes calizas. Tolera muy bien la desecación y por eso es frecuente dentro de las ciudades. ^{2, 12}

Clasificación taxonómica:

Reino: Plantae.

División: Pteridophyta.

Clase: Pteridopsida.

Orden: Pteridales.

Familia: Pteridaceae.

Género: *Pteris*.

Especie: *Pteris vittata* L. ^{2, 12}

***Luffa cylindrica* L (Roem). (Friegaplatos)**

Es una enredadera herbácea, vigorosa y de ciclo anual. Su tallo es más bien delgado, lampiño, de 4 a 6 cm de largo o más. Puede tener guías de más de 10 m de largo. Se encuentra con frecuencia alrededor de poblaciones, sobre los árboles, postes de luz eléctrica y cercas. Se cultiva en patios y cercas de las poblaciones para usar sus frutos como esponjas o estropajo y el resto de la planta como medicinal. ^{2, 13}

Clasificación taxonómica:

Reino: Plantae.

División: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Orden: Violales.

Familia: *Cucurbitaceae*.

Género: *Luffa*.

Especie: *Luffa cylindrica* L. ¹³

***Turnera ulmifolia* L. (Marilope)**

Es una planta arbustosa, silvestre, erecta, ramificada, de casi un metro de altura. Hojas lanceoladas, aovado-oblongas, delgadas, cortamente pecioladas, de 1 a 11cm de longitud, aserradas, agudas o acuminadas en el ápice, y en su mayoría estrechadas en la base. Las flores

son axilares y de color amarillo azufre brillante en sus cinco pétalos, de pedúnculos cortos, bractéolas del mismo largo o más largas que el cáliz, lanceoladas y aserradas en la parte mas baja. Es nativa de México y la India Oriental. ²

Clasificación taxonómica:

Reino: Plantae.

División: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Orden: Malpighiales.

Familia: Turneráceae.

Género: Turnera.

Especie: *Turnera ulmifolia* L. ²

Obtención de Tintura al 20%.

La tintura fue obtenida a partir del material vegetal, seco, molido y tamizado a 0.5 mm de diámetro, utilizando como menstuo Alcohol al 70%. Se utilizaron 100 g de la droga cruda para obtener 500 mL de tintura al 20%. La tintura se obtuvo por maceración de la droga pulverizada, por un tiempo de 7 días, según Norma Ramal 311 e Salud Publica, empleando agitador mecánico o zaranda (ILM, THYS 2, Alemania). La tintura obtenida a partir de las plantas seleccionadas se concentraron hasta obtener un volumen de 100 mL y se fraccionaron sucesivamente (3 X 30 mL) con solventes de polaridad creciente: n- hexano, cloroformo, acetato de etilo y agua. ¹³

Tamizaje fitoquímico:

Se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales de Centro de Estudios de Química Aplicada de la Universidad de Granma, empleando la metodología reportada al efecto y en uso dentro del territorio nacional. Se llevaron acabo los siguientes ensayos:

- de Dragendorff y Mayer (para la determinación de alcaloides),
- de Baljet (para la determinación de cumarinas),
- de Sudán III (para la determinación de ácidos grasos),
- determinación de Resinas,
- de Liebermann-Burchard (para la determinación de triterpenos y/o esteroides),
- determinación de espuma,
- de Fehling (para la determinación de carbohidratos reductores),
- de Borntrager (para la determinación de quinonas),
- de Shinoda (para la determinación de flavonoides),

- determinación de antocianidinas, y
- determinación de mucílagos. ¹¹

Jatropha aethiopica Muell Arg., al ser sometida a tamizaje fitoquímico ofreció resultados relevantes en cuanto a la detección de quinonas y cumarinas.

Pteris vittata L ofreció resultados favorables en el tamizaje fitoquímico realizado a los extractos etéreo, etanólico y acuoso de las hojas de la planta, se muestra la alta variabilidad de compuestos presentes en este helecho y se destacan entre ellos: cumarinas, ácidos grasos, flavonoides, alcaloides, saponinas, aminoácidos, azúcares reductores, triterpenos, esteroides, antocianidinas, quinonas, fenoles y taninos. ¹²

El tamizaje fotoquímico en las extracciones sucesivas con hexano, cloroformo, acetato de etilo y agua de *Luffa cylindrica L (Roem)* proporcionó resultados favorables a metabolitos con antimicrobiana como coumarinas y quinonas en las hojas y tallos y cumarinas en el fruto.

Turnera ulmifolia L., en su tamizaje fitoquímico ofreció resultados favorables en alta medida frente a los ensayos de alcaloides para el extracto acuoso de hojas, y el de quinonas en el extracto alcohólico de hojas. Los restantes ensayos no revelaron resultados de importancia para la actividad antimicrobiana. ¹⁰

Entre de los metabolitos detectados, se encuentran en las cuatro especies: cumarinas, flavonoides, quinonas y alcaloides.

Aseguramiento de la calidad:

La cepa control *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se transportó refrigerada e inoculada e medio Müeller-Hinton agarizado y el día antes de su empelo en la experimentación se inoculó de nuevo en medio líquido y sucesivamente a medio sólido después de 4 horas de incubación a 37 grados Celsius en ambiente de aerobiosis. Se tuvo en cuenta que dentro de esta especie se asume a bacterias Gram positivas, agrupadas en racimos de cocos, capaces de provocar reacciones bioquímico-fisiológicas en los hospederos que atacan, entre las cuales se destacan la producción de coagulasa, catalasa, DNA-asa y la formación de película ó bio-película criterios que hoy en día se aceptan para admitir el poder patógeno de dicha bacteria ante el hombre y otras especies de animales.

Tamizaje microbiológico:

La evaluación de la actividad microbiológica de los extractos vegetales se realiza en tres pasos:

1. Tamizaje general.

2. Determinación de la mínima concentración inhibitoria.
3. Determinación de la mínima concentración bactericida.

El tamizaje general por lo general se realiza mediante la técnica de difusión en medio sólido, o en placa de agar, como también se le llama. Y se desarrolla mediante la formulación de Bauer, Kirby y colaboradores para estimar el grado de inhibición del crecimiento de los microorganismos.¹

La determinación de la actividad antimicrobiana puede dividirse en dos fases: tamizaje y concentración mínima inhibitoria. Este último procedimiento se realiza únicamente con los microorganismos cuyo procedimiento fue inhibido por el extracto en la primera fase. Se evalúa si hubo crecimiento, una completa supresión del crecimiento es requerida para declarar que el extracto es activo.⁸

El estudio de la actividad antimicrobiana in vitro se llevó a cabo mediante la determinación de las mínimas concentraciones inhibitorias (MCI) teniendo en cuenta el método de las diluciones seriadas dobles en medio líquido. Se empleó como método de micro dilución en caldo el reportado en la literatura para la evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de acículas de pino y una variante en guayaba, con algunas adaptaciones.¹¹

Para los cálculos para la Mínima Concentración Inhibitoria (MCI) y la Mínima Concentración Microcida (MCM) se realizan tres réplicas para cada dilución, ofreciendo como resultado final el promedio de dichos valores. Durante los experimentos se tuvieron en cuenta las Buenas Practicas de Laboratorio y los requisitos de seguridad biológica que demanda cada uno. El método desarrollado por Martínez, Molina y Boucourt para el estudio de estos parámetros ha dado resultados favorables y se decide su empleo en esta oportunidad dada su factibilidad y reproducibilidad puesto que se trata de soluciones de principios activos de plantas que solo tienen una apreciación cualitativa de componentes activos, o sea, la actividad obtenida se adjudicará a la mezcla y no a un componente en particular. Esto permite un criterio de predicción al respeto y posibilita la decisión de continuar el flujograma investigativo o desechar el producto como tal.¹²

RESULTADOS

Durante el experimento realizado se empleó un set de diluciones eradas basado en la proporción de la tintura empleada, expresadas en por ciento.

La concentración inhibitoria mínima o MCI se refleja en la proporción de tintura empelada, nótese que los intervalos ofrecidos permiten detectar como el resultado comienza casi siempre a partir del octavo tubo ó el décimo. Así lo muestra la tabla 1. Se aprecia además que las especies *Pteris vitata* y *Luffa cylindrica* desarrollan intervalos similares para su mínima concentración inhibitoria,

y en orden decreciente sigue *Jatropha aethiopica* y *Turnera ulmifolia*. La diferencia entre estos grupos no resulta un parámetro de valor.

Tabla 1. Intervalos de Mínima Concentración Inhibitoria de extractos vegetales acuosos frente a *S. aureus* ATCC 25923.

Extractos vegetales acuosos	Intervalo de Mínima Concentración Inhibitoria (en % de concentración del extracto)
<i>Jatropha aethiopica</i> Muell Arg Hojas.	0,781 – 1,562
<i>Pteris vittata</i> L. Hojas	1,562 - 3,125
<i>Luffa cilíndrica</i> L. Fruto	1,562 – 3,125
<i>Turnera ulmifolia</i> L. Hojas	0,195 – 0,390

Fuente: Registro de control del experimento.

Partiendo del intervalo de mínima contracción inhibitoria es posible obtener la cifra de mínima concertación microcida asumiéndola como el límite inferior del mismo. Eso lo expresa la tabla 2. Nótese como las particularidades de cada planta pueden apreciarse con mejor nitidez al establecerse cifras totalmente diferentes, y se mantiene la igualdad en los casos mencionados con antelación.

Tabla 2. Intervalos de Mínima Concentración Microcida de los extractos vegetales acuosos frente a *S. aureus* ATCC 25923.

Extractos vegetales acuosos	Mínima Concentración Microcida (en % de concentración del extracto)
<i>Jatropha aethiopica</i> Muell Arg. (hojas)	1,562
<i>Pteris vittata</i> L. (hojas)	3,125
<i>Lufa cilíndrica</i> L. (fruto)	3,125
<i>Turnera ulmifolia</i> L. (hojas)	0,390

Fuente: Registro de control del experimento.

De los resultados obtenidos en el anterior experimento se deduce el tipo de efecto farmacológico que le producto ejerce sobre el microorganismo, existiendo en este caso solo dos categorías posibles, microcida o microstático. Tales datos aparecen en la tabla 3.

Tabla 3. Efecto farmacológico de los extractos vegetales estudiados frente a *S. aureus* ATCC 25923.

Extractos vegetales acuosos	EFFECTO FARMACOLOGICO
<i>Jatropha aethiopica</i> Muell Arg.	Microcida
<i>Pteris vittata</i> L.	Microcida
<i>Lufa cilíndrica</i> L.	Microstático
<i>Turnera ulmifolia</i> L.	Microstático

Fuente: Registro de control del experimento.

DISCUSIÓN

Casi finalizando el pasado siglo XX se llegó a pensar que con el descubrimiento de la genómica bacteriana el avance tecnológico proveería muy rápidamente de muchas clases nuevas de antibióticos para el siglo XXI; sin embargo hasta el 2004, ningún antibiótico de amplio espectro había logrado posicionarse con la fuerza necesaria que su uso clínico demandaba durante los últimos 20 años. Frente a esta importante problemática mundial, numerosas son las investigaciones enfocadas a la búsqueda de nuevos compuestos biológicos a partir de fuentes naturales, dentro de ellos un gran número de estudios han sido dirigidos para la evaluación de actividades antimicrobianas en extractos y aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas.⁴

De las 252 drogas consideradas básicas y esenciales para la OMS, el 11% son exclusivamente de origen vegetal. Por eso Cuba ha ido sumándose a esta corriente mundial, y a lo largo del país existen instituciones científicas que se dedican a la búsqueda de diferentes actividades farmacológicas dentro del reino vegetal, para lo cual la riqueza de la flora cubana ofrece inagotables posibilidades. *Jatropha aethiopica* Muell Arg.; *Pteris vittata* L., *Luffa cylíndrica* L. y *Turnera ulmifolia* L., son plantas que crecen en nuestro territorio y se utilizan ampliamente en la medicina tradicional cubana que ha sabido aprovechar esta riqueza y la vasta experiencia

etnobotánica, pero su aplicación sin un aval científico representa un riesgo importante para la salud humana.⁷

Mediante los ensayos *in vitro* para evaluar la susceptibilidad de la cepa bacteriana frente a los extractos ensayados se determinó que los extractos vegetales acuosos de *Pteris vittata* L., *Luffa cylíndrica* L presentaron actividad más relevante contra *S. aureus* con una CMI cuyo intervalo se define por los límites inferiores de 0,39 – 0,781, y límites superiores de **1,562 – 3,125** para *Pteris vittata*, mientras que *Luffa cylíndrica* posee un intervalo desde 0,195 - 0,39 hasta **1,562 – 3,125 %** del extracto. Según NCCLS, en su anexo M7-A3, la Mínima Concentración Inhibitoria no debe ofrecerse como una cifra única. Dicho patrón internacional plantea que MCI deberá interpretarse como la mínima dilución a la cual se produce el fenómeno de que la sustancia o droga probar durante la experiencia inhibe el crecimiento microbiano, pero el verdadero MCI reside en el intervalo creado por esta dilución y el valor inmediato superior.⁹

Resulta importante recordar que la pared bacteriana de las Gram-positivas tiene una estructura simple constituida por un monocomplejo fácilmente hidrolizable que contiene alta proporción de muranilpéptidos ó mureína. Por eso es posible una buena respuesta de inhibición contra *S. aureus*. No existen trabajos de referencia sobre actividad antimicrobiana ante este tipo tinturas, que permitan comparar los resultados obtenidos. Sin embargo existen reportes sobre estos microorganismos, la diferencia puede radicar en la diferente composición que presentan los extractos vegetales empelados en relación con el efecto inhibitor contra las cepas bacterianas, el cual puede deberse a la estructura y composición de su pared celular.¹¹

La presencia de cumarinas, flavonoides, quinonas y alcaloides podría representar el basamento bioquímico que sustente tal actividad biológica, pues su presencia, detectada al menos en forma cualitativa en los extractos empleados, permite asociar diferentes mecanismos de acción contra la bacteria empelada en aras de lograr la inhibición de su crecimiento ya sea mediante a muerte bacteriana o solo deteniendo temporalmente su crecimiento. Por tanto los resultados obtenidos con estas especies son importantes dado que podrían avalar su uso potencial en algunas infecciones causadas por tales microorganismos, inclusive ante cepas resistentes y de muy difícil erradicación, como ocurre con frecuencia en nuestros hospitales hoy en día. Resultará obvia entonces la realización de estudios fitoquímicos de mayor especificidad y sensibilidad que permitan aislar e identificar los compuestos responsables de tal actividad, así como investigaciones microbiológicas con cepas salvajes de alto poder resistente, tales como las que fluctúan en nuestros hospitales hoy en día.⁵

El empleo de los productos naturales como tinturas, extractos y aceites vegetales previene los efectos de otro de los mecanismos que inducen resistencia microbiana hoy en día: la considerable presión selectiva a la que se someten las bacterias en el medio hospitalario; pero como el uso de extractos vegetales a nivel hospitalario es limitado, las bacterias no tienen mucha oportunidad para desarrollar mecanismos de resistencia en su contra. Resultará posible entonces que los extractos vegetales puedan inhibir el crecimiento de cepas multi-resistentes.⁶

Los resultados obtenidos resultan similares en alguna medida con los reportados por varios investigadores que emplean cepas del mismo germen como control microbiológico o como muestra en si para su experimentación. Muchos de ellos no evalúan los extractos ni tinturas, sino aceites o mezclas mejor caracterizadas químicamente. La decisión de tomar la metodología permite un paso de decisión en el tamizaje inicial de la especie vegetal antes de emplear toda la gama de recursos necesarios para la purificación fotoquímica de los componentes que con mayor proporción aparecen en la mezcla vegetal una vez sometida a caracterización.⁹

Los resultados obtenidos permiten desechar en este caso los extractos vegetales acuosos que demostraron menor poder antimicrobiano en cuanto a mínima concentración inhibitoria, pues la mezcla no desempeña una acción potente contra el germen probado ante ella, e incluso también se puede decidir en base al efecto farmacológico obtenido en dependencia de los intereses de fabricación. Esto posibilita la selección de *Pteris vittata L* y *Luffa cilíndrica L*, en detrimento de *Turnera ulmifolia L* y *Jatropha aethiopica Muell Arg.*¹³

CONCLUSIONES

La experiencia desarrollada con la cepa control de *S. aureus* ATCC 25923 permite afirmar que el extracto vegetal acuoso de hojas de *Pteris vittata L* y el obtenido a partir del fruto de *Luffa cilíndrica L* desarrollaron una mejor actividad inhibitoria frente a dicha cepa, la solución de extracto vegetal acuoso de hojas de *Pteris vittata L* o de frutos de *Luffa cilíndrica L* resultaron efectivas al **3,125 %** frente a la cepa control empleada en la experiencia; en cambio *Pteris vittata*, desarrolla acción microcida mientras que *Luffa cilíndrica* lo hace de manera microstática.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. García Luján C. Actividad antibacteriana de extractos de vegetales en cepas hospitalarias de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple. [Tesis] Torreón, Coahuila, México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; Diciembre de 2006. Disponible en: [HTTP://DIALNET.UNIRIOJA.ES/SERVLET/DCFICHERO_ARTICULO?CODIGO=2725574](http://dialnet.unirioja.es/servlet/DCFICHERO_ARTICULO?CODIGO=2725574)

2. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba. La Habana: Editorial Ciencia y Técnica; 1974.
3. Toribio MS, Oriani DS, Fernández JG y SKLIAR MI. Actividad antimicrobiana de *Verbesina encelioides*. InVet 2005; 7(1): 41-45.
4. Rojas Hernández NM, Rodríguez Uramis M. Actividad antimicrobiana de *Tectona grandis* L. f., *Bursera simaruba* (L.) Sarg. y *Cedrela odorata* L. [Internet] 2008 [citado 21 mayo 2009]; 13(4): [aprox. 5p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962008000400005&script=sci_arttext
5. Lapena EA, Medina Ramírez GE, Díaz L, et al. Actividad bactericida y fungicida de algunas plantas utilizadas en la Medicina Tradicional Venezolana. INHRR. [Internet] 2003 [citado 23 junio 2009]; 34(1): [aprox. 3p.] Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0798-04772003000100002&script=sci_arttext&tIng=pt
6. Soto Ortiz RC. Las plantas medicinales en el marco de una agricultura sostenible. Herbociencia.com.ar [Internet] 2001 [citado 8 abril 2010] Disponible en: <http://www.herbotecnia.com.ar/c-public-001.html>
7. Ponce A, Roura S, Del Valle C, Moreira M. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *in vitro* and *in vivo* Studies. Postharvest Biology and Technology 2008; 49. 294-300.
8. Shiva Ramayomi C. Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. Tesis Doctoral. Departamento de Sanidad y Anatomía de Animales. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona; 2007.
9. Domingo D, Lopez Brea M. Plantas com actividad antimicrobiana. Rev Esp Quimoterap 2003; 16(4): 385-93.
10. Rondón Arias L, Frías Tamayo JA, Almeida Saavedra M, Paz Lorente C. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de hojas y flores de la *Turnera ulmifolia* L. Química Viva Abr 2010; (9)1: 24-29.

11. CUBA. MINSAP. Métodos de ensayos a partir de drogas crudas. Norma Cubana de Salud Pública. NRSP 313. 1998.
12. Barrera DP. Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismos cariogénicos. Tesis Doctoral. Universidad Pontificia Javeriana. Facultad de Ciencias Básicas. Bogotá. Colombia; 2009.
13. Martínez MJ, Molina N, Boucourt E. Evaluación de la actividad antimicrobiana de *Psidium guajaba*. Rev Cubana Plant Med 1999; 2(1):12-4.

Recibido: 23 abril 2012.

Aprobado: 3 mayo 2012.

Jorge L. Difurnó López. Universidad de Granma. Granma, Cuba. E-mail: orto@crisol.cult.cu