



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
SEDE ARAGUA



**ACTIVIDAD BACTERICIDA Y BACTERIOSTÁTICA DE LOS
FITOFÁRMACOS MORINGA Y SANGREDRAGO COMPUESTO FRENTE A
CEPAS BACTERIANAS DE *Staphylococcus aureus***

**Trabajo de Investigación presentado como
requisito para aprobar la Asignatura por:**

Br. Agüero, Zoraya
Br. Alvarado, Johandry

La Morita, Noviembre 2023



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
SEDE ARAGUA



**ACTIVIDAD BACTERICIDA Y BACTERIOSTÁTICA DE LOS
FITOFÁRMACOS MORINGA Y SANGREDRAGO COMPUESTO FRENTE A
CEPAS BACTERIANAS DE *Staphylococcus aureus***

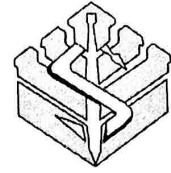
**Trabajo de Investigación presentado como
requisito para aprobar la Asignatura por:**

Br. Agüero, Zoraya
Br. Alvarado, Johandry
Tutores Científicos:
Dra. María Chacón
Dra. Nubilde Martínez
Tutor Metodológico:
Prof. José Romero

La Morita, Noviembre 2023



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANALISIS SEDE ARAGUA
PROFESORA "OMAIRA FIGUEROA"
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL
ASIGNATURA: TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

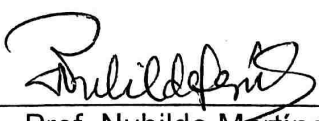


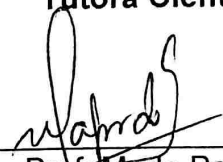
VEREDICTO


Nosotros los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Trabajo de Investigación titulado: **“Actividad bactericida y bacteriostática de los fitofármacos moringa y sangredrigo compuesto frente a cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*”** presentado por las bachilleres Zoraya Agüero y Johandry Alvarado con el fin de aprobar la Asignatura Trabajo de Investigación; después de la exposición y discusión pública del citado trabajo, consideramos que el mismo reúne los requisitos para **APROBARLO** como tal. En fe de lo cual se levanta la presente acta, el día lunes trece del mes de noviembre del año dos mil veintitrés, dejando constancia de que, conforme a lo dispuesto por la normativa vigente, actuó como Coordinador del jurado, el Tutor Metodológico Profesor José Romero.

Por otra parte se hace constar, para efectos académicos de convalidación, que el presente trabajo representa el equivalente al Trabajo de Grado reconocido en otras instituciones y el contenido del veredicto es auténtico.


Prof. María Chacón
C.I.: 9661810
Tutora Científica


Prof. Nubilde Martínez
C.I.: 4045894
Tutora Científica


Prof. María Paredes
C.I.: 14.192.510
Jurado Evaluador


Prof. José Romero
C.I.: 9524241
Coordinador del Jurado





UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



La Morita, Noviembre 2023

CONSTANCIA DE REVISIÓN Y ACEPTACIÓN DEL TUTOR CIENTÍFICO

En mi carácter de Tutor Científico del trabajo titulado: **ACTIVIDAD BACTERICIDA Y BACTERIOSTÁTICA DE LOS FITOFÁRMACOS MORINGA Y SANGREDRAGO COMPUESTO FRENTE A CEPAS BACTERIANAS DE *Staphylococcus aureus***, el cual es presentado por las Bachilleres Agüero Zoraya C.I: V- 25.506.717 y Alvarado Johandry C.I: V- 26.507.062 para aprobar la asignatura Trabajo de Investigación, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado designado.

Atentamente,

Dra. María Chacón
C.I: V- 9.661.450

Dra. Nubilde Martínez
C.I: V- 4.045.894

DEDICATORIA

Gracias a *Dios*, por darme la fortaleza necesaria para enfrentar cada día de mi vida y ser mejor persona.

Agradezco infinitamente el apoyo y el amor que día a día recibo de mis padres: Rosa y Johnny y mis hermanas: Rosmary y Mariangel, por acompañarme en estos largos años de estudio y por siempre creer en mí, fueron la base fundamental para seguir adelante y no desistir de cumplir esta meta, los amo.

A mi bebé André, quien es la luz que ilumina mis días y mi mayor motivación para cumplir todo lo que me proponga, te amo mi gordo.

A mi compañero de vida, Frederit, por darme su amor, su comprensión y siempre hacerme sonreír aligerando la carga y la presión durante todo este tiempo, te amo mi negro.

A mis amigos y compañeros de estudio, porque en tiempos difíciles nos mantuvimos firmes, demostramos que nada es imposible y que con determinación se puede lograr todo en la vida.

Johandry Alvarado.

A *Dios* primeramente por permitirme a través de sus bendiciones llegar a este momento importante de mi formación profesional.

A mis padres Juan Agüero y Zoraida Oliveros, por siempre darme palabras de ánimo, amor e inculcarme valores y educación, a través del tiempo; su apoyo incondicional me ha ayudado a ser la persona que soy.

A mis hermanos Juan Francisco y Manuel quienes son mis dos compañeros de aventuras. Les agradezco por siempre sentirse orgullosos de mí, por recordarme el potencial que tengo como persona y que puedo lograr todo lo que me proponga.

A mi abuelita Carmen porque a diario le pide a Dios para que guíe mi camino y todo salga bien en mi vida, por el amor que nos da a cada uno de sus nietos.

A mi familia y amigos quienes me han apoyado y animado dándome palabras de aliento cuando lo necesité y a culminar mis estudios universitarios.

Zoraya Agüero.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad de Carabobo, nuestra alma máter, lugar que nos permitió hacer realidad nuestro sueño, convertirnos en excelentes profesionales.

A nuestros profesores a lo largo de los años de estudio, por compartir sus conocimientos, experiencias y su amor por la labor que desempeñan.

A nuestras tutoras científicas, Dra. María Chacón y Dra. Nubilde Martínez, por acompañarnos y guiarnos en la realización de nuestro trabajo de investigación.

A nuestros amigos y futuros colegas, Rafael, Loana y Liliana, por los años de amistad y compañerismo, por convertirse en nuestra segunda familia, por darnos ánimos y siempre tener la disposición de ayudarnos para conseguir juntos esta meta tan anhelada. Los queremos mucho.

A nuestros padres, sin su apoyo emocional y económico nada sería posible.

Al Licenciado Miguel Tuntuji y a todo el personal del Laboratorio Biounilab C.A, por permitirnos usar sus espacios para la realización de la parte experimental de nuestro trabajo de investigación.

Por último, queremos agradecer a la Licenciada Ysvette Vásquez y Licenciado Daniel Hernández, por su apoyo y aportes necesarios para la finalización de nuestra tesis.

Johandry y Zoraya.

INDICE

	PP
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general	10
Objetivos específicos	10
MATERIALES Y MÉTODOS	11
Tipo de investigación	11
Contexto y lugar de la investigación	11
Muestra	11
Procedimiento experimental	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
21	
Conclusiones	22
Recomendaciones	22
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

LISTA DE TABLAS

N°	PP
1. Evaluación de la actividad bactericida de fitofármacos contra <i>S. aureus</i>	19

LISTA DE FIGURAS

N°		PP
1.	Fitofármaco Sangredrago Compuesto.....	12
2.	Discos impregnados con el fitofármaco Sangredrago Compuesto	14
3.	Cocimiento de la planta Moringa oleífera	15
4.	Placas incubadas a las 48 horas sin halos de inhibición....	17

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
“PROFA. OMAIRA FIGUEROA”
SEDE ARAGUA

ACTIVIDAD BACTERICIDA Y BACTERIOSTÁTICA DE LOS
FITOFÁRMACOS MORINGA Y SANGREDRAGO COMPUESTO FRENTE A
CEPAS BACTERIANAS DE *Staphylococcus aureus*

Bachilleres:

Br. Agüero, Zoraya
Br. Alvarado, Johandry

Tutores Científicos:

Dra. María Chacón
Dra. Nubilde Martinez

Tutor Metodológico:

Prof. José Romero
La Morita, Noviembre 2023

RESUMEN

La práctica de terapias naturales data desde la antigüedad, siendo fuente de diversos estudios e investigaciones que se basan en comprobar los metabolitos bioactivos de las plantas y su mecanismo de acción que pueden generar una acción bacteriostática y bactericida. La bacteria *Staphylococcus aureus* es una bacteria grampositiva que muchas veces actúa como agente patógeno causando múltiples enfermedades en los seres humanos. Esta investigación tuvo como objetivo determinar la actividad bactericida y bacteriostática de los fitofármacos en forma de cápsula de la planta *Moringa oleífera* y en forma de jarabe a base de las plantas *Croton lechleri*, *Nasturtium officinale* y *Melia azedarach* frente a cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*. Las cepas bacterianas fueron recuperadas mediante la siembra en agar sangre y agar manitol salado. La determinación de la actividad antimicrobiana se realizó mediante el método de difusión en discos impregnados con extractos acuosos de los fitofármacos moringa y sangredrago compuesto sobre la bacteria *Staphylococcus aureus*. Los resultados mostraron que los fitofármacos utilizados no producen halos de inhibición contra la bacteria *Staphylococcus aureus*, concluyendo que las plantas en presentación de fitofármacos empleados en este estudio no poseen actividad antimicrobiana sobre la bacteria.

Palabras Clave: *Staphylococcus aureus*, bactericida, *Moringa oleífera*, *Croton lechleri*, *Nasturtium officinale*, *Melia azedarach*.

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
“PROFA. OMAIRA FIGUEROA”
SEDE ARAGUA

BACTERICIDAL AND BACTERIOSTATIC ACTIVITY OF THE
PHYTOPHARMACOS MORINGA AND COMPOUND SANGREDRAGO
AGAINST BACTERIAL STRAINS OF *Staphylococcus aureus*

Bachilleres:

Br. Agüero, Zoraya
Br. Alvarado, Johandry

Tutores Científicos:

Dra. María Chacón
Dra. Nubilde Martinez

Tutor Metodológico:

Prof. José Romero
La Morita, Noviembre 2023

ABSTRACT

The practice of natural therapies dates back to ancient times, being a source of various studies and investigations that are based on verifying the bioactive metabolites of plants and their mechanism of action that can generate a bacteriostatic and bactericidal action. *Staphylococcus aureus* is a Grampositive bacteria that often acts as an agent pathogen causing multiple diseases in humans. This research aimed to determine the bactericidal and bacteriostatic activity of phytopharmaceuticals in capsule form from the *Moringa oleifera* plant-and in the form of a syrup based on the plants *Croton lechleri* plants, *Nasturtium officinale* and *Melia azedarach* against bacterial strains of *Staphylococcus aureus*. The bacterial strains were recovered by sowing on blood agar and mannitol salt agar. The determination of the antimicrobial activity was carried out by the disk diffusion method impregnated with aqueous extracts of the phytopharmaceuticals moringa and sangredrago composed of the bacteria *Staphylococcus aureus*. The results showed that the phytopharmaceuticals used do not produce halos of inhibition against the bacteria *Staphylococcus aureus*, concluding that the plants in presentation of phytopharmaceuticals used in this study do not they have antimicrobial activity on bacteria.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, bactericide, *Moringa oleifera*, *Croton lechleri*, *Nasturtium officinale*, *Melia azedarach*

INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad se han atribuido propiedades nutricionales y curativas a diversas plantas desde la fé y creencias que poseen las comunidades en muchas regiones del mundo, este conocimiento se ha transmitido de generación en generación sin basamento científico (Villarreal, 2014). Actualmente, muchos de los beneficios aportados por las plantas se conocen empíricamente y son pocos los estudios que se han realizado a fin de determinar los metabolitos bioactivos responsables de tales efectos curativos, se estima que solo se ha investigado entre el 10 y el 15 % de las especies de plantas (Bisht y cols., 2006).

Los fitofármacos conocidos también como productos naturales, son presentados en forma farmacéutica, son elaborados con material vegetal o algún derivado de éste. La eficacia terapéutica y seguridad de los fitofármacos debe ser confirmada científicamente en la literatura nacional o internacional (Cerecero y cols., 2005).

En relación con la especie *Moringa oleífera*, conocida como moringa, pertenece a la familia *Moringaceae* y al género *Moringa*, es originaria del norte de India y nordeste de Nigeria, se encuentra distribuida ampliamente en diversos países, debido a su adaptabilidad es capaz de establecerse en cualquier suelo y clima. Según González, (2018), los requerimientos del cultivo son poco exigentes en cuanto a suelos y cantidad de agua, siendo la temperatura el principal factor limitante. Desde el imaginario colectivo se le atribuyen propiedades cicatrizantes, además posee propiedades antiinflamatorias, antisépticas y antihipertensivas, así como

hipocolesterolemiantes (Nogales, 2019), antibacterianas y antifúngicas (Verdesoto, 2021). Existe una gran diversidad de fitoquímicos presentes en la planta *Moringa oleífera* como los glucosinolatos, compuestos fenólicos y carbamatos. No obstante, los compuestos que realmente poseen el efecto biológico son los isotiocianatos que se liberan por acción enzimática de la mirosinasa sobre los glucosinolatos (Macías, 2014). En otros estudios fitoquímicos se ha demostrado que la planta *Moringa oleífera* presenta, además, flavonoides, antocianinas, proantocianidinas y cinamatos (La Rosa y cols., 2021).

En años recientes se han desarrollado investigaciones y trabajos científicos que confirman la actividad antimicrobiana de la planta *Moringa*. En el año 1991, Cáceres y cols., realizaron una investigación acerca de los efectos de extractos acuosos de las hojas de la planta *Moringa* sobre el crecimiento de cepas de las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, encontrando inhibición del mismo en ambas cepas. En ese sentido se ha descrito que su acción bacteriostática puede deberse a una disrupción de la membrana celular por inhibición de enzimas esenciales (Suárez y cols., 2003). El potencial de los isotiocianatos en su aplicación como antibióticos quedó demostrada en un estudio con *Helicobacter pylori*, causante de úlceras gástricas y duodenales (Fahey, 2005).

Asimismo, diversos estudios *in vitro* han demostrado la actividad antimicrobiana de los biocomponentes de la cubierta de la semilla y de la vaina de la planta *Moringa* inhibiendo el crecimiento de bacterias multirresistentes Grampositivas y Gramnegativas (Arora y cols., 2014). Se han observado efectos antimicrobianos de la cubierta de la semilla inhibiendo la formación de biofilms de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*

y *Candida albicans* entre un 76- 86%, similar al efecto obtenido con la aplicación de antibióticos (gentamicina para *S. aureus* y *P. aeruginosa* y anfotericina para *C. albicans*) (Onsare y cols., 2015).

Por otro lado, se ha descrito que el extracto de la hoja de la planta *Moringa oleífera* presenta una actividad antibiótica de amplio espectro inhibiendo el crecimiento de diversas cepas bacterianas Gramnegativas multirresistentes (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Providencia stuartii*), (Dzotam y cols., 2015).

En el año 2018, Chero comparó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso y el extracto hidroetanólico de hojas de la planta *Moringa oleífera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Para ello utilizó el método de difusión en pozo y determinó la sensibilidad del extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de la planta *Moringa oleífera* a diferentes concentraciones, midiendo los halos de inhibición de crecimiento bacteriano. Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 35668 fue muy sensible frente el extracto hidroetanólico, mientras que el extracto acuoso no tuvo ningún efecto antibacteriano a las concentraciones empleadas. Se logró corroborar que el extracto hidroetanólico de la planta *Moringa oleífera* puede ser empleado como una alternativa en el control de crecimiento microbiano.

En relación con la planta *Croton lechleri*, conocida como sangre de drago, sangredrigo o sangregado, pertenece a la familia *Euphorbiaceae* y al género *Croton*, se encuentra distribuido en las zonas tropicales de América y

Centroamérica. Entre los metabolitos bioactivos de esta planta se menciona la presencia de diterpenos de tipo labdano, ciclitoles, triterpenos, esteroides, sustancias fenólicas y flavonoides (Coy y cols., 2016). La planta *Croton lechleri* ha sido utilizado ampliamente con fines medicinales. En ese sentido, algunos autores le han atribuido propiedades cicatrizantes, estimulante de defensas del organismo, bacteriostático, bactericida, fungicida, antiviral, antioxidante, anticancerígeno y antiinflamatorio a la savia extraída de la corteza de la planta.

Con relación al efecto bacteriostático de esta planta en el año 2019, Guevara evaluó el efecto antibacteriano de tres concentraciones de látex de sangre de drago (*Croton Lechleri*) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Utilizando discos de papel filtro empapados en tres diluciones diferentes de sangre de drago para posteriormente determinar la actividad antibacteriana del látex de sangredrago se determinó aplicando el procedimiento de Kirby – Bauer. Los resultados mostraron que la sangre de drago ejerce un efecto bactericida frente a las cepas de *S. Mutans* ATCC 25175, la concentración al 50% y 75% respectivamente tiene lecturas promedio en los halos de inhibición de 8.2 mm y 12 mm, indicando un grado aceptable de sensibilidad. El diámetro de la lectura de la zona de inhibición para la concentración de 100% fue no menor de 17.1 mm colocándola en un grado más aceptable de susceptibilidad frente a la cepa de *S. Mutans* ATCC 25175.

Asimismo, Espinoza y cols., en el año 2018, determinaron el efecto antibacteriano *in vitro* del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. (Sangre de drago) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus*. El análisis fitoquímico indicó la presencia de algunos compuestos químicos: fenoles, flavonoides,

aminoácidos, taninos, entre otros. El método empleado para la determinación del efecto antibacteriano *in vitro* fue el de difusión en agar cilindro-placa, a diferentes concentraciones del látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. Los resultados se determinaron en función a la medida del diámetro de los halos de inhibición. Se interpretó el porcentaje de inhibición de las concentraciones del látex encontrando que la concentración al 25% presentó efecto antibacteriano de tipo sensible en un 39%; la concentración al 50% presentó un efecto antibacteriano muy sensible en un 56%; la concentración al 75% presentó efecto antibacteriano sumamente sensible en un 69%; la concentración al 100% presentó efecto antibacteriano sumamente sensible en un 81%.

En cuanto a la planta *Nasturtium officinale* comúnmente conocida como Berro o mastuerzo de agua (Fresquet y cols., 2001). Pertenece a la familia *Brassicaceae* al género *Nasturtium*, su distribución geográfica es extensa. Se encuentra principalmente en Europa, América y Asia occidental (Martínez, 2020). Mide entre 10 a 60 cm de altura, tiende a agruparse en grandes colonias (Siñañi, 2017). Presenta principios activos como glucosinolatos (Dioses, 2018). Contiene además carotenos, vitaminas A, C, D y E, yodo y hierro (Ruiz y cols. 2010). Como metabolitos bioactivos de la planta, se describen los compuestos fenólicos (Martínez, 2020).

La planta *Nasturtium officinale* es usada de manera popular como fármaco en el tratamiento de la tuberculosis y en las bronquitis crónicas (Fresquet y cols. 2001). Se le atribuyen propiedades depurativas, antiescorbútcas y diuréticas. (Saavedra y cols., 2012).

Se ha demostrado que los extractos de las hojas de la planta *Nasturtium officinale* ejerce un efecto antibacteriano, siendo las bacterias Grampositivas como, por ejemplo, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* las más sensibles frente a los mismos (Farshbaf y cols., 2016). Además, estos extractos actúan eficazmente sobre *Mycobacterium tuberculosis*. (Ruiz y cols., 2010).

En el año 2020, Martínez determinó el efecto antibacteriano y antifúngico *in vitro* del extracto etanólico de la planta *Nasturtium officinale* (berro) sobre *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. Para determinar la susceptibilidad antibacteriana utilizó el método de difusión en pozos colocando el extracto etanólico de *N. officinale* en concentraciones al 20%, 40%, 60%, 80% y 100% en placas de Petri con Agar Müller-Hinton que contenían las cepas de *Enterococcus faecalis*, midiendo los halos de inhibición tras un tiempo de incubación se obtuvo un diámetro promedio entre 22,17 – 28,92 mm y se compararon con un control positivo de Clorhexidina al 2% cuyo diámetro promedio de halo de inhibición fue de 23 mm, los resultados demostraron que existe efecto antibacteriano en el extracto etanólico de *Nasturtium officinale* sobre cepas de *Enterococcus faecalis*.

En relación a la planta *Melia azedarach* conocida comúnmente por los nombres: paraíso, piocha, lila y canelo (Pazos y cols, 2008). Pertenece a la familia *Meliaceae* y al género *Melia*, su distribución geográfica es incierta. Se cree que es originaria de Asia, probablemente de India y Pakistán (Academia Nacional de Ciencias, 1983). Está ampliamente dispersa en Latinoamérica, distribuida en regiones tropicales y subtropicales (Calderón, 2020). Los principales metabolitos bioactivos de esta planta son los limonoides y se pueden encontrar en distintos órganos individuales y en todos los tejidos de

la planta (Calderón, 2020). El análisis fitoquímico realizado al extracto en etanol de las hojas frescas de *M. azedarach* permitió determinar la presencia de metabolitos bioactivos tipo alcaloide, terpenos/esteroles, saponinas, taninos y antocianina (Rojas y cols., 2012).

El efecto medicinal de la planta *M. azedarach* en humanos es de gran valor, diversas partes de la planta han sido empleadas para el tratamiento de enfermedades. Tiene una variedad de principios activos aislados y varias acciones de medicamentos farmacológicos, testeados y comprobados, incluyen actividad antiviral, antimicrobiana, antipalúdica, antiparasitaria, insecticida (Calderón, 2020).

En un estudio realizado por Calderón, en el año 2020, en la Universidad Alas Peruanas de Chiclayo, Perú, se evaluó la actividad antibacteriana del extracto oleoso de hojas de la planta *Melia azedarach* Linn (árbol del paraíso) sobre las bacterias *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se prepararon discos estériles de papel de filtro con 5 concentraciones diferentes del extracto oleoso. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el procedimiento de disco que es una modificación de la técnica descrita por Kirby y Bauer. Mediante los resultados se observó que el extracto oleoso de la planta *M. azedarach* tuvo acción antibacteriana sobre el cultivo de *S. pyogenes*, mientras que frente al cultivo de *S. aureus* tuvo una acción media que se incrementó a partir de concentraciones de 60% y frente a la bacteria *P. aeruginosa* su acción bactericida es mínima. Esta investigación determinó que el extracto oleoso de la planta *M. azedarach* tiene acción antibacteriana frente a las bacterias Grampositivas y su acción es mínima como antibacteriano frente a bacterias Gramnegativas.

Entre los agentes bacterianos que causan enfermedades se encuentra con prevalencia *Staphylococcus aureus*, bacteria grampositiva, la morfología de esta bacteria se asemeja a un coco, se dispone de dos en dos, en cadenas o en racimos, mide de 0,8 a 1,5 μm de diámetro, es una bacteria inmóvil y algunas cepas provocan la aparición de una cápsula exterior mucoide que aumenta su patogenicidad con posibilidad de ocasionar una infección.

Con respecto a su metabolismo, es anaerobio facultativo, coagulasa y catalasa positiva y oxidasa negativa. La producción de la enzima catalasa le posibilita desdoblar el peróxido de hidrógeno en H_2O y oxígeno libre, esto permite distinguir el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*, los cuales no producen esta enzima (catalasa negativa). La producción de coagulasa es una de las principales características que ayudan a diferenciar el *Staphylococcus aureus* (coagulasa positiva) de otras especies de estafilococos las cuales no producen esta enzima (coagulasa negativa), esta característica le permite a la bacteria *Staphylococcus aureus* coagular el plasma, así como también, posee la capacidad de desarrollarse en soluciones salinas con una proporción de hasta un 15% de cloruro sódico.

La bacteria *Staphylococcus aureus* puede comportarse como un organismo comensal y como un agente patógeno. El principal sitio de colonización en los seres humanos es la mucosa nasal. Se ha estimado que aproximadamente el 30% de la población en general es portadora de esta bacteria, es un microorganismo causante de diversos procesos infecciosos que van desde infecciones cutáneas hasta infecciones sistémicas mortales

(Correa y cols., 2020). Además, es una bacteria resistente a varios antibióticos por lo que es conveniente el avance en la investigación de fármacos eficaces contra esta bacteria.

Es importante demostrar de manera experimental las propiedades bactericidas y bacteriostáticas que son atribuidas a las plantas frente a diversas bacterias patógenas, con la finalidad de tener un basamento científico que permita validar y comprobar las propiedades terapéuticas de las plantas.

Por lo antes expuesto se propone determinar si el uso de las plantas *Moringa oleífera*, *Croton lechleri*, *Nasturtium officinale* y *Melia azedarach* en su presentación como fitofármacos ejercen un efecto bactericida y bacteriostático frente a las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* y de esta manera asegurar su empleo como alternativa terapéutica eficaz, segura, accesible y de fácil administración en el tratamiento de infecciones causadas por esta bacteria.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad bactericida y bacteriostática de los fitofármacos de la planta *Moringa oleífera* y Sangredrigo Compuesto que contiene las plantas *Croton lechleri*, *Nasturtium officinale* y *Melia azedarach* sobre cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus in vitro*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida y bacteriostática del fitofármaco de la planta *Moringa oleífera* sobre las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* en medios de cultivo *in vitro*.

Determinar la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida y bacteriostática del fitofármaco Sangredrigo Compuesto preparado con las plantas *Croton lechleri*, *Nasturtium officinale* y *Melia azedarach* sobre las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* en medios de cultivo *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio es de tipo experimental debido a que se manipularon las variables *in vitro*. Es de enfoque descriptivo porque al realizar el procedimiento experimental permite describir los resultados obtenidos.

CONTEXTO Y LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

Esta investigación se realizó en la sección de Fitofarmacología del Instituto de Investigaciones Biomédicas “Dr Francisco J Triana Alonso” Universidad de Carabobo (BIOMED-UC) y en la sección de bacteriología del Laboratorio Clínico Biounilab C.A, estado Aragua, Venezuela.

MUESTRA

MUESTRA BIOLÓGICA

Constituida por cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) donada por el Laboratorio Clínico Delgado Launois C.A, proveniente del Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” (INHRR).

MUESTRA EN ESTUDIO

Un fitofármaco a base de la planta *Moringa oleífera* en presentación de cápsulas de 300 mg y el fitofármaco Sangredrigo Compuesto en presentación de jarabe de 120 mL a base de las plantas *Croton lechleri* 2,63 mL, *Nasturtium officinale* 1,55 mL y *Melia azedarach* 0,45 mL en 15 mL de jarabe (Ver figura 1).



Figura 1. Fitofármaco Sangredrigo Compuesto.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

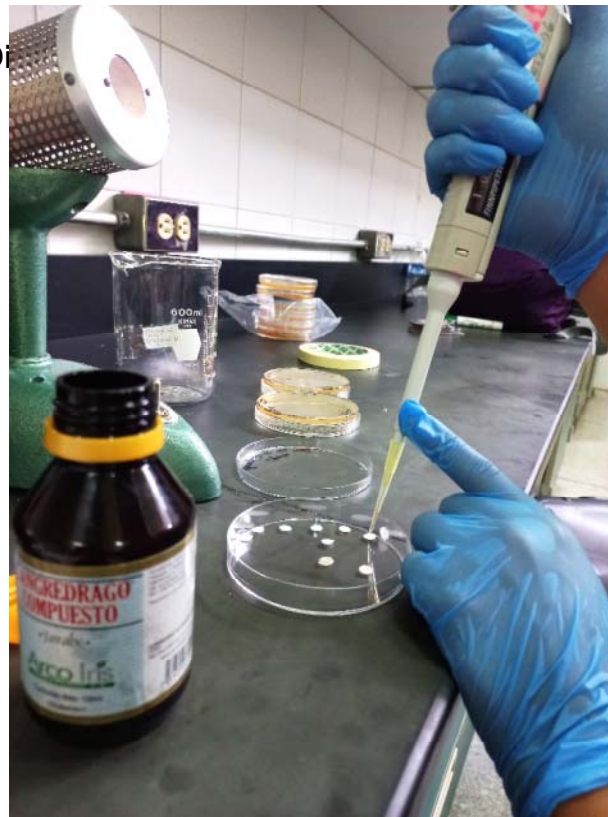
CULTIVO DE LAS CEPAS BACTERIANAS

Se emplearon cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, las cuales fueron reconstituidas en Agar Sangre y posteriormente sembradas en Agar Manitol Salado. Las placas fueron incubadas a 37°C, por un periodo mínimo de 48 horas. Las colonias obtenidas fueron identificadas mediante un extendido coloreado con tinción de Gram, prueba de coagulasa y prueba de catalasa.

PREPARACIÓN DE DISCOS DE SENSIBILIDAD Y DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS FITOFÁRMACOS

Para preparar los discos de sensibilidad, se utilizó papel de filtro Whatman N°1 de tamaño estándar, los cuales se recortaron con un sacabocado en círculos de 6 mm, se esterilizaron en el autoclave y luego se dividieron en cuatro partes. Para el primer grupo en cada disco se añadió 10 µL del fitofármaco Sangredrigo Compuesto a base de las plantas *Croton lechleri* 2,63 mL, *Nasturtium officinale* 1,55 mL y *Melia azedarach* 0,45 mL en 15 mL de jarabe y se dejaron secar los discos (Ver figura 2).

Figura 2. Dispositivo de aplicación de fitofármaco Sangredrago



Compuesto.

En el segundo grupo de discos se usó el fitofármaco de la planta *Moringa oleífera* en presentación de cápsulas de 300 mg. Se realizó un cocimiento con 50 mL de Solución Salina Fisiológica al 0.9% y 4 gramos del producto interno de la cápsula (hojas secas y trituradas de la planta) se llevó a hervor y se dejó en reposo durante 30 minutos. Una vez alcanzada la temperatura ambiente se procedió a filtrar la suspensión con papel Whatman N°2 estéril (Martínez y cols., 2014). Fue filtrado dos veces con la finalidad de obtener un producto libre de material para que pudiera difundir de manera uniforme en los discos de papel filtro (Ver figura 3), posteriormente se añadieron 10 μ L a cada disco y se dejaron secar.



Figura 3. Cocimiento de la planta *Moringa oleífera*. a) Cocimiento con un único filtrado, b) Cocimiento con doble filtrado.

Se procedió a determinar la actividad antimicrobiana de los fitofármacos mediante el método Kirby-Bauer o método de difusión en disco. Por lo tanto, se elaboró una suspensión de turbidez equivalente al tubo N° 0.5 de la escala de MacFarland que corresponde a un aproximado de 1.5×10^8 UFC/mL, para lo cual se utilizó un tubo de ensayo con 2 mL de Solución Salina Fisiológica estéril y colonias de la cepa bacteriana de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) reconstituida en agar sangre hasta alcanzar la turbidez requerida. En las placas de Petri con agar Müeller-Hinton se inoculó la bacteria suspendida con un hisopo de manera uniforme en la superficie del medio. Estas placas se dividieron en cuatro grupos, para el primer grupo se usaron los discos secos que contenían el fitofármaco de la planta *Moringa oleífera* y para el segundo grupo se colocaron discos que no contenían el fitofármaco sobre la superficie del agar y se les añadió un

volumen de 10 μ L del cocimiento preparado con 4 gramos del fitofármaco de la planta *Moringa oleifera* contenida en las cápsulas y 50 mL de Solución Salina Fisiológica al 0.9%.

En el tercer grupo de placas se colocaron los discos secos que contenían el fitofármaco Sangre drago compuesto y finalmente en el cuarto grupo se colocaron discos que no contenían el fitofármaco, una vez ubicados en la superficie del agar se les añadió un volumen de 10 μ L del fitofármaco Sangre drago compuesto. En una quinta placa inoculada con la bacteria se colocó un disco de Cefoxitin 30 μ g como control positivo y un disco de papel filtro con 10 μ L de Solución Salina Fisiológica al 0.9% como control negativo.

Los discos se colocaron con pinzas estériles distribuidos uniformemente sobre la superficie del agar, presionando los discos ligeramente con las pinzas para asegurar el contacto con el agar. Las placas fueron incubadas a 37°C en un lapso de tiempo de 3 - 4 días, transcurrido el tiempo se midieron los halos de inhibición producidos (Ver figura 4).

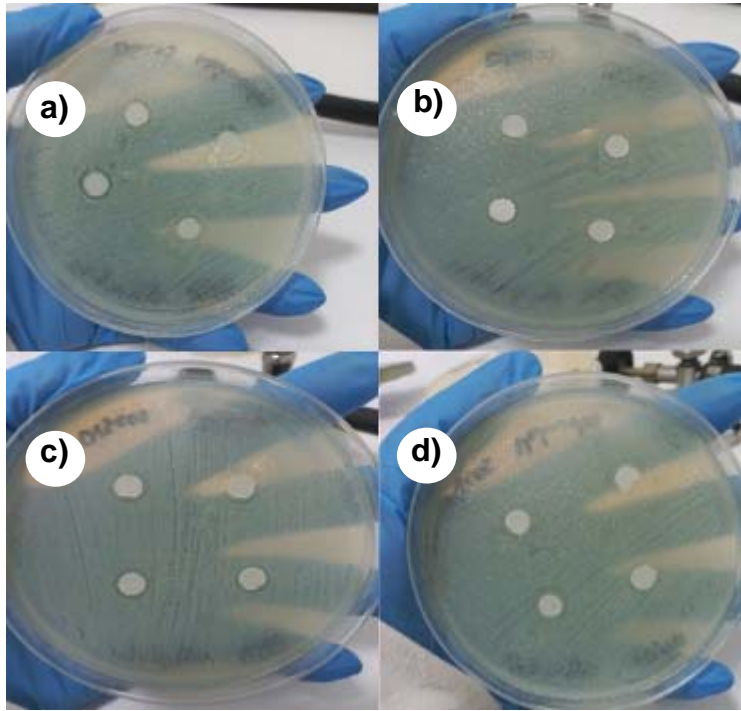


Figura 4. Placas incubadas a las 48 horas sin halos de inhibición.

a) Discos secos impregnados con el fitofármaco Sangredrigo Compuesto. b) Discos húmedos impregnados con el fitofármaco Sangregrado Compuesto. c) Discos secos impregnados con el cocimiento de la planta *Moringa oleífera*. d) Discos húmedos impregnados con el cocimiento de la planta *Moringa oleífera*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación trato de determinar la actividad bactericida de los fitofármacos de la planta *Moringa oleífera* y el fitofármaco Sangredrigo Compuesto que contiene las plantas *Croton lechleri*, *Nasturtium officinale* y *Melia azedarach* sobre cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*.

Al recuperar la cepa bacteriana se sembró en Agar Manitol Salado, evidenciándose el crecimiento de colonias en el medio, el cual cambio de color de rojo a amarillo por la capacidad de la bacteria de fermentar el manitol. En la tinción de Gram, se observó al microscopio cocos Grampositivos y las pruebas coagulasa y catalasa resultaron positivas, confirmando la identificación de la bacteria *Staphylococcus aureus*.

Para determinar la actividad antimicrobiana se aplicó el método de difusión en disco (también conocido como prueba de Kirby-Bauer), se realizaron cuatro repeticiones por determinación de cada uno de los fitofármacos con la cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*. El crecimiento de la bacteria *S. aureus* fue uniforme en la superficie de las placas de agar Müeller-Hinton y no hubo contaminación de otros microorganismos. Transcurridos 3 días de incubación, en las condiciones en que se realizaron las pruebas, se pudo observar que no hubo halos de inhibición que demostraran actividad antimicrobiana de los fitofármacos utilizados contra *S. aureus*. El ensayo fue validado, ya que el control interno positivo, constituido por el disco de Cefoxitin, demostró inhibición sobre la

cepa de *S. aureus* con un halo de inhibición de 25 mm y, por otro lado, el control negativo, el disco impregnado con Solución Salina Fisiológica estéril, no mostró ninguna inhibición.

Tabla 1. Evaluación de la actividad bactericida de fitofármacos contra *S. aureus*.

Fitofármaco	Vehículo	Componentes	Concentración	Cepa ATCC 25923
Moringa	Solución acuosa	<i>Moringa oleífera</i>	Solución stock al 100 %	Inactivo
		<i>Croton lechleri</i>	2,63 % v/v	
Sangre drago compuesto	Solución acuosa	<i>Nasturtium officinale</i>	1,55 % v/v	Inactivo
		<i>Melia azedarach</i>	0,45 % v/v	

Este trabajo de investigación al igual que la investigación realizada por Yaguana, C., (2015), quien trabajó con el extracto acuoso de la planta *Coriandrum sativum* (culantro), sobre cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, sin presentar halos de inhibición contra esta bacteria.

Gallegos y cols., (2017), también trabajaron con el extracto acuoso de la planta *Origanum spp*, orégano, obtenidos por medio de cocción e infusión, produciendo halos de inhibición nulos, por lo que no inhiben el crecimiento de las bacterias estudiadas, entre ellas *Staphylococcus aureus*. Esto pudiera

explicarse que al realizar estudios con extractos acuosos de diferentes plantas los metabolitos bioactivos no se extraigan en su totalidad.

Por el contrario, Cáceres y cols, (1991), demostraron que el jugo fresco de las hojas y el extracto acuoso de las semillas de la planta *Moringa oleífera* por el método de difusión en disco, método utilizado en esta investigación, inhiben el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, pudiendo encontrarse mayor concentración de metabolitos bioactivos en las hojas frescas y semillas de la planta.

Trabajos anteriores (Dzotam y cols., 2015; Farshbaf y cols., 2016; Chero, 2018; Espinoza y cols., 2018; Guevara, 2019; Calderón, 2020; Martínez, 2020) evaluaron la actividad bactericida por medio de extractos etanólicos y aceites esenciales provenientes de partes de las plantas en estudio como hojas, tallos y raíces, que en su mayoría han demostrado producir un efecto antimicrobiano frente a las diferentes cepas bacterianas estudiadas. Es importante mencionar que en los trabajos de investigación en los cuales se comprobó la actividad antimicrobiana de las plantas en estudio, en ninguno de los casos corresponden a extractos acuosos.

Además existen factores que pueden influir en los resultados de la determinación antimicrobiana como la forma en la que se cultiva y obtiene el material vegetal de las plantas lo que puede afectar la concentración de los metabolitos bioactivos que poseen actividad antimicrobiana, si el método de evaluación posee limitaciones, el tiempo de incubación y en el caso de usar fitofármacos comerciales, la interacción con otros componentes presentes en ellos como los excipientes, los cuales pueden afectar los resultados. Por otro

lado, no existen trabajos de investigación donde se evalué la actividad antimicrobiana de las plantas en estudio en presentación de fitofármacos.

No se pudo realizar la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) debido a que se evidenció la ausencia de actividad antimicrobiana de los fitofármacos en estudio.

CONCLUSIONES

1. El fitofármaco de la planta *Moringa oleífera* en presentación de cápsulas no demostró actividad bactericida ni bacteriostática contra las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*.
2. El fitofármaco Sangredrigo Compuesto en presentación de jarabe a base de las plantas *Croton lechleri*, *Nasturtium officinale* y *Melia azedarach* no demostró actividad bactericida ni bacteriostática contra las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*.

RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de la actividad antimicrobiana de los fitofármacos con otras especies bacterianas.
2. Efectuar la caracterización fitoquímica y determinación de la actividad antimicrobiana con extractos obtenidos directamente de la planta. Es importante tomar en cuenta que la cantidad de metabolitos bioactivos presentes van a estar condicionados por múltiples factores como características agronómicas del suelo, el momento en que se coseche y las partes usadas de las plantas.
3. Aplicar análisis fitoquímico para comprobar la presencia de metabolitos bioactivos de las plantas que se hayan podido perder durante el proceso de preparación del fitofármaco. Las propiedades de los fitofármacos pueden variar entre lotes y según su fabricante, debido a que no se realiza una estandarización de las técnicas de fabricación.
4. Realizar estudios donde se compare la caracterización fitoquímica de los fitofármacos y las plantas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arora, D. & Onsare, J. (2014). Potencial antimicrobiano de la cubierta de la semilla de *Moringa oleifera* y sus fitoconstituyentes bioactivos. *Cartas de Microbiología y Biotecnología*, 42 (2), 152-161.
- Bisht, D., Owais, M., & Venkatesanm K. (2006). Potential of plant-derived products in the treatment of mycobacterial infections. En: Ahmad I, Aqil F, Owais M, editors. *Modern phytomedicine: Turning medicinal plants into drugs*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2006. p. 295-6. <https://doi.org/10.1002/9783527609987.ch14>
- Cáceres, A., Cabrera, O., Morales, O., Mollinedo, P., & Mendia, P. (1991). Propiedades farmacológicas de *Moringa oleifera*. 1: Detección preliminar de actividad antimicrobiana. *Revista de etnofarmacología*, 33 (3), 213-216.
- Calderón, E., (2020). *Actividad antibacteriana del aceite esencial de hojas de Melia azedarach L. (árbol del paraíso) sobre Streptococcus pyogenes Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa*. Trabajo de grado para optar al título profesional de Químico Farmacéutico, Universidad Alas Peruanas, Chiclayo.
- Cerecero, O., Morales, H., Barrio, I., Arellano, A., & Tortoriello, J. (2005). Conocimiento sobre fitofármacos en médicos de atención primaria del estado de Morelos. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 43(4), 281-286.
- Chero, V. (2018). *Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de Moringa oleifera sobre Streptococcus mutans ATCC 35668*. Trabajo de grado para optar al título profesional de Cirujano Dentista, Universidad Señor de Sipán, Pimentel.
- Correa Bazán, A. A., & Noé Zapata, P. J. (2020). *Actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de las hojas de Moringa oleifera (Moringa)*

frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*. Trabajo de grado para optar al título profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico, Universidad INCA Garcilaso de la Vega, Lima.

Coy, C., Gómez, D. & Castiblanco, F. (2016). Importancia medicinal del género *Croton* (*Euphorbiaceae*). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(2). Recuperado de <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/348> (14 de febrero de 2022)

Dioses, E. (2018). *Efecto del extracto hidroalcoholico del Nasturtium officinale "Berro" sobre la concentración de Malondialdehido hepático en Rattus rattus var. Albinus tratados con Paracetamol*. Trabajo de grado para optar al título profesional de Licenciado en Nutrición. Universidad César Vallejo, Perú.

Dzotam, J., Touani, F. y Kuete, V. (2015). Actividades antibacterianas y modificadoras de antibióticos de tres plantas alimenticias (*Xanthosoma mafaffa* Lam., *Moringa oleifera* (L.) Schott y *Passiflora edulis* Sims) contra bacterias gramnegativas multirresistentes (MDR). *BMC medicina complementaria y alternativa*, 16 (1), 1-8.

Espinoza, C. y Serna, Z. (2018). *Efecto antibacteriano in vitro del látex de Croton lechleri Müll. Arg. (sangre de grado) frente a Staphylococcus aureus*. Trabajo de grado para optar al título profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico, Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Lima.

Fahey, J. W. (2005). *Moringa oleifera*: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. *Trees for life Journal*, 1(5), 1-15.

Farshbaf S, Ghiami M, Mahmoudi R. (2016) Evaluation of Antibacterial Effects of Aqueous and Alcoholic Extracts of *Nasturtium Officinale* on Some Pathogenic. *Mljgoums*. 2016; 10(6): 49-53. *Medical Laboratory Journal*, Nov, Dec 2016; Vol 10: No 6

- Fresquet, G., Blanquer, M., Galindo, F., Gallego, R., García, J.A. & López A. (2001). Inventario de las plantas medicinales de uso popular en la ciudad de Valencia. *Medicina y Ciencias Sociales*, nº13. (Mayo, 2001). ISSN: 1576-5377. <http://www.uv.es/medciensoc>
- Gallegos, P., Delgadillo, L., Esparza, E., y Bañuelos, R. (2017). Actividad antibacteriana de extractos de orégano (*Origanum spp.*) en bacterias gram negativas y positivas. Unidad Académica de Ciencias Biológicas-UAZ1. Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UAZ2. Universidad Autónoma de Zacatecas, México. <https://revistas.uaz.edu.mx/index.php/JCQ/article/view/550>
- González, F. (2018). Un estudio transversal de *Moringa oleífera Lam.* (*Moringaceae*). Departamento de Biología Vegetal y Ecología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. 34(1), 5-25.
- Guevara, K. (2019). *Efecto antibacteriano de tres concentraciones de látex de Sangre de Grado (Croton lechleri) sobre cepas de Streptococcus Mutans ATCC 25175.* Trabajo de grado para optar al título profesional de Cirujano Dentista, Universidad Señor de Sipán, Pimentel.
- La Rosa Rivera, F., & Zarate Ccanto, M. (2021). *Elaboración de un jarabe del extracto hidroalcohólico de las hojas de Moringa oleífera (moringa) para evaluar su actividad antibacteriana frente a cepas clínicas de Escherichia coli.* Trabajo de grado para optar al título profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico, Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Lima.
- Macias Chávez, J. A. (2014). *Identificación de compuestos bioactivos de un extracto de hoja de Moringa oleífera.* Tesis para obtener el grado Maestría en Ciencias, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., Hermosillo.
- Martínez, N., Gil, A., Celis, L., Rodríguez, L., Romero, F., Espino, C., Requena, D. (2014). Efecto hipoglicemiante de un fitofármaco (DIAMET). *Comunidad y Salud*. Vol12, Nº 2.

- Martínez, V. (2020). *Efecto antibacteriano y antifúngico in vitro del extracto etanólico de Nasturtium officinale (berro) sobre Enterococcus faecalis y Cándida albicans*. Trabajo de grado para optar al título profesional de Cirujano Dentista. Universidad Privada Antenor Orrego, Perú.
- Nogales, S. (2019). *Actualidad de Moringa oleífera en terapéutica*. Trabajo fin de grado, Universidad Complutense.
- Onsare, JG y Arora, DS (2015). Potencial antibiopelícula de los flavonoides extraídos de la cubierta de la semilla de *Moringa oleifera* contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. *Revista de microbiología aplicada*, 118 (2), 313-325.
- Pazos, G., & Candelaria, V. (2008). Calidad de la madera de los árboles de sombra. *Biodiversidad, Manejo Y Conservación*, 235.
- Rojas Sierra, JN, Pérez Cordero, AF, Martínez Avilez, JG, & Mieles Galindo, JU (2012). Actividad antibacteriana de extracto de hojas de *Melia azedarach* L. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14 (1), 224-232.
- Ruiz, J.A. & Melo, E. (2010). Guía de plantas medicinales del Magreb: Establecimiento de una conexión intercultural. Cuadernos de la fundación Dr. Antonio Esteve N °18. <http://www.esteve.org>
- Saavedra del R., G. & González Y., M. (2012). Seminario: Avances y Desafíos para la Agroindustria Hortícola de Exportación Chilena, Santiago 19 -21 Jun., 2012. 64 p. Serie Actas N° 49. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación La Platina, Santiago, Chile
- Siñañi, L. (2017). *Evaluación agronómica de dos variedades de Berro (Nasturtium officinale R. Br. Y Lepidium sativum) en cultivo sin suelo en el centro experimental de Cota-Cota*. Trabajo de grado para optar al título profesional de Ingeniero Agrónomo. Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia.

Suárez, M., Entenza, J., Doerries, C., Meyer, E., Bourquin, L., Sutherland, J. & Mermod, N. (2003). Expresión de un péptido derivado de plantas que alberga actividades antimicrobianas y de limpieza del agua. *Biotecnología y Bioingeniería*, 81 (1), 13-20.

Verdesoto, G. (2021). *Beneficios de la Moringa (Moringa oleífera) como planta medicinal*. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Agrónomo, Universidad Técnica de Babahoyo, Los Ríos.

Villarreal Gómez, A., & Ortega Angulo, K. J. (2014). Review of characteristics and uses of the plant *Moringa oleífera*. *Investigación y Desarrollo*, 22(2), 309-330.

Yaguana, C., (2015). "Evaluación del efecto antibiótico de los extractos acuosos de *Allium sativum* (ajo) y de *Coriandrum sativum* (culantro) mediante el método de sensibilidad por difusión en agar KirbyBauer, sobre cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella entérica serovar typhi* y *Salmonella entérica serovar choleraesuis*; en comparación con los antibióticos gentamicina y ampicilina". Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en Microbiología Clínica y Aplicada. Escuela de Bioanálisis, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
<http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/10160>