

**INVESTIGACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y FITOQUÍMICA DE  
EXTRACTOS DE PLANTAS MEDICINALES FRENTE A LOS MICROORGANISMOS  
PATÓGENOS *Escherichia coli* y *Candida albicans***

**Gabriela I. Yáñez A.<sup>1</sup> y J. Ramiro Velasteguí S.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Tesis Ing. Bioq., Carrera de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. 2014. e-mail: yanez.gabriela.i@gmail.com

<sup>2</sup> Profesor, Ing. Agr., MSc, PhD, Carrera de Ingeniería Bioquímica, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. e-mail: rvelasteguis@yahoo.com

Universidad Técnica de Ambato, Campus Huachi: Av. Los Chasquis y Río Payamino, Ambato – Ecuador, Telf:593-32400989, Fax 593-32400998.

**RESUMEN**

A fin de investigar la actividad antimicrobiana sobre los microorganismos patógenos *Escherichia coli* y *Candida albicans* se emplearon 4 metodologías de obtención de extractos de 8 especies vegetales. Las metodologías de extracción involucraron solventes de diferente polaridad tales como: agua, etanol y hexano. Las plantas medicinales estudiadas fueron: albahaca (*Ocimum basilicum*), ambo (*Nicandra physalodes*), guayaba (*Psidium guajava*), hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), matico (*Aristeguietia glutinosa*), ortiga negra (*Urtica dioica*), paico (*Chenopodium ambrosioides*), tomillo (*Thymus vulgaris*).

Los extractos que demostraron los mejores porcentajes de inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* fueron: la maceración en etanol de tomillo, con una media del 100% de inhibición del crecimiento; el macerado en etanol de paico, con una media del 100% de inhibición del crecimiento; la decocción de tomillo, con una media del 75% de inhibición del crecimiento.

Para *Candida albicans* fueron: la maceración en etanol de paico, con una media del 100% de inhibición del crecimiento; el macerado en etanol de tomillo, con una media del 100% de inhibición del crecimiento; la maceración en etanol de matico, con una media del 75% de inhibición del crecimiento.

En el caso del extracto etanólico de paico este demostró que inhibe en un 100% el crecimiento de *Escherichia coli* a una concentración de 2500 mg/l. En cambio, el extracto etanólico de tomillo inhibe su crecimiento a una concentración de 5000 mg/l. El extracto etanólico de paico y

el extracto etanólico de tomillo demostraron que inhiben el crecimiento de *Candida albicans* a una concentración de 2500 mg/l.

El análisis fitoquímico determinó que las hojas de paico y tomillo contienen metabolitos secundarios tales como: aceites esenciales, taninos, flavonoides y triterpenos, esteroides. Además, las hojas de paico contienen alcaloides y las de tomillo saponinas.

### **ABSTRACT**

In order to investigate the antimicrobial activity against the pathogenic microorganisms *Escherichia coli* and *Candida albicans* four methodologies were used to get the extracts from 8 medicinal plants. The extraction methodologies used different polarity solvents like: water, ethanol and hexane. The medicinal plants studied were: basil (*Ocimum basilicum*), ambo (*Nicandra physalodes*), guava (*Psidium guajava*), lemongrass (*Cymbopogon citratus*), matico (*Aristeguietia glutinosa*), black nettle (*Urtica dioica*), paico (*Chenopodium ambrosioides*), and thyme (*Thymus vulgaris*).

The extracts that showed the best percentage inhibition of *Escherichia coli* growth were: thyme ethanol maceration with a mean percentage inhibition of 100%, paico ethanol maceration with a mean percentage inhibition of 100% and thymus decoction with a mean percentage inhibition of 75%.

For *Candida albicans* the best extract were: paico ethanol maceration with a mean percentage inhibition of 100%, thymus ethanol maceration with a mean percentage inhibition of 100% and matico ethanol maceration with a mean percentage inhibition of 75%.

A mean percentage inhibition of 100% of *Escherichia coli* growth can be reached by the paico ethanol maceration extract at a concentration of 2500 ml/l. Thyme ethanol maceration extract can reach the same percentage inhibition of the bacteria growth at a concentration of 5000 mg/l. On the other hand, to inhibit *Candida albicans* growth at a percentage of 100% thyme ethanol maceration extract needs a concentration of 2500 ml/l, as well as the paico ethanol maceration extract.

Finally, the phytochemical analysis determined that thyme and paico leaves contain secondary metabolites such as: essential oils, tannins, flavonoids and triterpenes, steroids. Also, paico leaves contain alkaloids and thyme leaves contain saponins.

### **INTRODUCCIÓN**

Por tiempos remotos la humanidad ha usado plantas en su intento por curar enfermedades y aliviar el sufrimiento físico. El conocimiento de la existencia de plantas medicinales se deriva de los intentos y de los errores de los primeros humanos que intentaron usar plantas (Kumar, 2010).

El consumo de plantas medicinales se está incrementando considerablemente alrededor del mundo (Arora y colaboradores, 2011). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que alrededor del 80% de personas que viven en países en vías de desarrollo emplea exclusivamente plantas medicinales tradicionales para necesidades primarias de salud. En general, la diversidad de fauna y flora del Ecuador representa un alto porcentaje de la biodiversidad mundial. Ecuador cuenta con centenares de plantas aromáticas y medicinales. Por lo tanto en el país el uso de plantas medicinales está inmerso en la cotidianidad de sus habitantes. La medicina popular se practica principalmente por habitantes de zonas rurales, pero también por ciudadanos de toda clase social. Se pueden encontrar gran variedad de plantas con usos medicinales que se expenden en mercados de la Sierra, Costa y Amazonía (De la Torre y colaboradores, 2008). Sin embargo, estas prácticas se basan solamente en el conocimiento empírico y en la experiencia de los pueblos puesto que las características antimicrobianas de las plantas no han sido validadas científicamente ya que mediante una exhaustiva búsqueda de información la investigación sobre actividad antimicrobiana y fitoquímica de plantas medicinales frente a los patógenos *Escherichia coli* y *Candida albicans* es escasa e inexistente en la provincia de Tungurahua.

Se han utilizado diversas técnicas microbiológicas para demostrar la actividad antimicrobiana de plantas frente a microorganismos patógenos para el hombre. Entre ellas la utilización de extractos (Roopashree y colaboradores, 2008). El extracto de plantas es una mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo de la tecnología (Ortuño, 2006). En general, los extractos son soluciones diluidas de metabolitos secundarios (Ortuño, 2006). Estos antimicrobianos de origen vegetal tienen un potencial terapéutico enorme. Son eficaces en el tratamiento de enfermedades infecciosas y al mismo tiempo pueden mitigar muchos de los efectos secundarios que se asocian a menudo con antimicrobianos sintéticos (Joshi y colaboradores, 2009).

En esta investigación el objetivo general es determinar la actividad antimicrobiana y la fitoquímica de extractos de plantas medicinales frente a los microorganismos *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Los objetivos específicos contemplan la identificación de la actividad antimicrobiana de extractos vegetales frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans*, la selección de los extractos vegetales más promisorios, el establecimiento de las concentraciones adecuadas para inhibir la actividad microbiana de los estos microorganismos; y, la identificación de los metabolitos secundarios contenidos en los extractos seleccionados, mediante análisis fitoquímico.

## **METODOLOGÍA Y MATERIALES**

## **Identificación de la actividad antimicrobiana de extractos vegetales frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Estudio Exploratorio tipo Screening**

### **Tratamiento del material vegetal**

Se trabajó con las siguientes plantas albahaca (*Ocimum basilicum*), ambo (*Nicandra physalodes*), guayaba (*Psidium guajava*), hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), matico (*Aristeguietia glutinosa*), ortiga negra (*Urtica dioica*), paico (*Chenopodium ambrosioides*), tomillo (*Thymus vulgaris*) las cuales fueron seleccionadas, lavadas y secadas cuidadosamente.

A continuación, el material vegetal fue deshidratado en una cámara de secado a una temperatura entre 55 - 60°C durante 24 horas.

### **Obtención de los extractos**

La obtención de los extractos de las plantas se realizó por medio de maceración en etanol, maceración en hexano, decocción a fuego lento e infusión y se empleó las hojas de cada una de las plantas.

**Maceración en etanol:** Cada material vegetal triturado se colocó en proporción 1:10 (P/V) en etanol grado reactivo (99% de pureza) en un recipiente cerrado a temperatura ambiente durante 3 días. A continuación se filtró la muestra utilizando papel filtro No. 4. Con el fin de concentrar las muestras estas fueron sometidas a rotoevaporación a presión reducida y a una temperatura de 60°C hasta obtener un volumen del concentrado de aproximadamente 10 ml, a partir de 200ml, como lo describe Vallejo (2010).

**Maceración en hexano:** Cada material vegetal triturado se colocó en proporción 1:10 (P/V) en hexano (99% de pureza) en un recipiente cerrado a temperatura ambiente durante 3 días. A continuación, se filtró la muestra utilizando papel filtro No. 4. Con el fin de concentrar las muestras estas fueron sometidas a rotoevaporación a presión reducida y a una temperatura de 45°C hasta obtener un volumen del concentrado de aproximadamente 10 ml, a partir de 200ml, como lo describe Vallejo (2010).

**Infusión:** El material vegetal triturado se colocó en proporción 1:10 (P/V). La infusión se elaboró con agua potable la cual se sometió hasta ebullición. Una vez que el agua llegó a ebullición se retiró del fuego y se trasvasó a un recipiente de vidrio en el que se encontraba la muestra vegetal. Esto permite que la temperatura del agua disminuya a aproximadamente 60-70°C, lo que evitó que se desnaturalicen los compuestos termolábiles.

**Decocción a fuego lento:** La decocción contrariamente a la infusión se elaboró con agua potable la cual se sometió hasta 80°C. A continuación se agregó el material vegetal en proporción de 1:3 (P/V) durante 10 minutos y se tapó.

Finalmente, después de cada metodología, se dejó reposar hasta que el extracto alcance la temperatura ambiente. Los extractos se envasaron en frascos de vidrio color ámbar esterilizados y se conservaron en refrigeración. A continuación los concentrados se esterilizaron en filtros de jeringa de 0,45 µm y se colocaron en envases plásticos estériles.

Para cada extracto se evaluaron los siguientes parámetros: color del extracto con una tabla internacional de colores, pH y conductividad eléctrica, concentración. Para obtener la concentración de los extractos se colocó 1 ml del extracto sobre un vidrio reloj limpio y seco previamente pesado. Se colocó en la estufa a 36° C durante 24 y se pesó la muestra seca sobre el vidrio reloj.

Las cepas empleadas fueron *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Candida albicans* ATCC 10231 las cuales fueron caracterizadas de acuerdo a las especificaciones del proveedor y a continuación fueron caracterizadas morfológica y bioquímicamente. Para *E. coli* se trabajó con el medio de cultivo agar nutritivo y para *C. albicans* con agar Sabouraud.

#### **Evaluación por el método de Mitscher**

Se tomó un volumen de extracto equivalente a una concentración de 5000 mg/l y se colocó en el interior de tubos de tapa rosca estériles y se aforó con medio de cultivo hasta 10ml. A continuación, se agitó vigorosamente para lograr una mezcla homogénea de agar y extracto. Inmediatamente, se colocó la solución de agar y extracto en un compartimiento de las cajas bipetri, igualmente en el otro compartimiento. Este procedimiento se realizó para cada uno de los extractos y para cada medio de cultivo. Con un asa estéril, se tomó una cantidad de cada microorganismo de la suspensión de concentración 1.5X10<sup>8</sup> UFC/ml. El asa con el inóculo microbiano fue rayado en la caja bipetri.

Las lecturas de crecimiento de los microorganismos se realizaron cada 24 y 48h para *Escherichia coli* y cada 48 y 72h para *Candida albicans*; y se registraron en porcentaje de efectividad entre los extractos de acuerdo al método descrito por Cyted (1995), citado por García (2007).

**Tabla N. 1.- Porcentaje de efectividad de los extractos con los que se evaluó la actividad antimicrobiana.**

Porcentaje de Efectividad de actividad antimicrobiana (%)	Crecimiento Microbiano	Especificación Crecimiento
100	-	Nulo
75	+	Escaso
50	++	Leve
25	+++	Moderado

0	++++	Abundante
---	------	-----------

(Fuente: García, 2007)

Elaborado por: Gabriela Yáñez

### **Selección de los extractos vegetales más promisorios con actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli* y *Candida albicans*.**

A partir del estudio exploratorio tipo screening detallado anteriormente, se seleccionaron las metodologías y las especies vegetales que presentaron los mejores resultados para cada microorganismo. Se seleccionaron los 2 mejores tratamientos que presentaron porcentajes de efectividad y mortalidad iguales o superiores al 50%.

### **Establecimiento de las concentraciones adecuadas para inhibir la actividad microbiana de los microorganismos *Escherichia coli* y *Candida albicans*.**

En este ensayo se empleó los extractos más promisorios para cada microorganismo y se probó cada uno a diferentes concentraciones siendo las siguientes: 100, 250, 500, 1000, 2500 y 5000 mg/l. Los resultados se evaluaron tal como se describió anteriormente (Evaluación por el método de Mitscher). Además, de cada una de las etapas experimentales se llevó registro fotográfico.

### **Identificación de los metabolitos secundarios contenidos en los extractos seleccionados, mediante análisis fitoquímico.**

Se realizaron análisis fitoquímicos para determinar los metabolitos secundarios de los extractos vegetales más efectivos contra *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Las muestras se enviaron a los laboratorios del Instituto De Ciencias Naturales de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador, Quito.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La identificación de los extractos de plantas medicinales que tienen actividad antimicrobiana se realizó por medio de un estudio exploratorio tipo "screening". Las 4 metodologías de extracción emplearon solventes de diferente polaridad. De tal manera que el agua extrajo metabolitos secundarios polares solubles a diferentes temperaturas, el etanol extrajo moléculas de baja polaridad y el hexano metabolitos secundarios apolares (Vallejo, 2010).

### **Identificación de la actividad antimicrobiana de extractos vegetales frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Estudio Exploratorio tipo Screening**

De los extractos vegetales preparados se determinaron características como pH, conductividad eléctrica, color y concentración. Los valores de pH de los extractos de las plantas medicinales fluctúan entre 5,00 y 8,91. Generalmente, el crecimiento de bacterias es impedido por

descensos de pH mientras que en el caso de levaduras y hongos un aumento en el pH inhibe su crecimiento; esto se debe a que cada microorganismo tiene un pH definido dentro del cual es posible su crecimiento. El valor de pH óptimo para *Escherichia coli* es de 7.0 mientras que de *Candida albicans* es de 4.0 (Michael y colaboradores, 2004). Los valores de conductividad eléctrica de los extractos fluctúan entre 0,11 y 13450  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . El valor de la conductividad de una solución es un indicador para la medida de su concentración de sales disueltas (Andrés y colaboradores, 2008). La coloración de los extractos varía desde colores amarillos tenues como en el caso de los extractos obtenidos por medio de maceración en hexano, decocción e infusión; mientras que la coloración de los extractos obtenidos por maceración en etanol presentan una coloración verde oscura. Finalmente, la concentración de los extractos se determinó por gravimetría obteniéndose valores de concentración entre 28450 y 76150 mg/l.

Después de la activación de las cepas microbianas se determinó que la bacteria *Escherichia coli* presenta buen crecimiento en agar nutritivo el cual es un medio de cultivo complejo cuyo pH favorece el crecimiento de bacterias. La levadura *Candida albicans* presentó mejor desarrollo en el medio de cultivo Sabouraud. Estos medios son muy útiles, pues un único medio complejo puede ser suficientemente rico para satisfacer las necesidades nutricionales de diversos microorganismos (Prescott y colaboradores, 2004).

Se determinó que el paico, tomillo, matico, ortiga, hierba luisa, albahaca, ambo y guayaba, en su orden ejercen la actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans* a una concentración estándar de 5000 mg/l. Las medias del porcentaje de inhibición de los extractos de estas plantas medicinales oscilan entre 12,5 hasta el 100%.

### **Selección de los extractos vegetales más promisorios con actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli* y *Candida albicans*.**

A continuación, se determinó que los extractos vegetales que presentaron mayor cantidad de metabolitos secundarios capaces de inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* y *Candida albicans* fueron los extractos por maceración en etanol de paico y tomillo ya que sus porcentajes de efectividad de inhibición del crecimiento fueron del 100% a una concentración de 5000 mg/l de extracto. Esto se debe a que el etanol tiende a arrastrar gran cantidad de compuestos polares como saponinas, taninos, flavonoides, esteroides/terpenos; y, de acuerdo a Espinoza (2003), estos compuestos tienen propiedades antimicrobianas, debido a que inhiben la síntesis o dañan la pared celular o inhiben la síntesis de ADN o ARN, ya que la estructura que tienen éstos compuesto es similar a la de las bases púricas y pirimídicas y se pueden intercalar formando puentes de hidrógeno, alterando así la estructura tridimensional de los ácidos nucleicos.

### **Establecimiento de las concentraciones adecuadas para inhibir la actividad microbiana de los microorganismos *Escherichia coli* y *Candida albicans*.**

Una vez determinados los mejores tratamientos para inhibir el crecimiento de ambos microorganismos estudiados se determinó las concentraciones más adecuadas para dicho efecto. En esta etapa se determinó el pH, conductividad y color de los extractos obteniéndose resultados similares a los obtenidos en la primera etapa. De esta manera se determinó si existe una concentración menor a 5000 mg/l (concentración empleada en la primera etapa) capaz de lograr el mismo efecto. En el caso del extracto etanólico de paico este demostró que inhibe en un 100% el crecimiento de *Escherichia coli* a partir de una concentración de 2500 mg/l. En cambio, el extracto etanólico de tomillo inhibe el crecimiento de la bacteria a una concentración de 5000 mg/l. Para la levadura *Candida albicans* el extracto etanólico de paico y el extracto etanólico de tomillo demostraron que inhiben el crecimiento de la levadura a una concentración de 2500 mg/l.

### **Identificación de los metabolitos secundarios contenidos en los extractos seleccionados, mediante análisis fitoquímico.**

Se realizó un análisis fitoquímico de las plantas que demostraron mejores resultado. En el análisis fitoquímico se determinó que las hojas de paico poseen aceites esenciales en mediana cantidad y que posee también alcaloides, taninos, flavonoides y triterpenos y esteroides en poca cantidad. Y, que las hojas de tomillo poseen flavonoides y aceites esenciales en mediana cantidad, además posee taninos, saponinas y triterpenos y esteroides.

Al poseer ambas plantas aceites esenciales en mayor cantidad que los demás metabolitos secundarios es indicativo de que este metabolito secundario es el responsable de la acción bactericida y fungicida de las mismas. Estos compuestos deben su actividad fungicida y/o bactericida a la sobrecarga a la que es sometida la membrana celular de los microorganismos de forma tal que la hace perder el control y la integridad. Los aceites esenciales al igual que la membrana celular son hidrofóbicos por lo cual se introducen a través de la membrana celular alterando su estructura y haciéndola más permeable. Consecuentemente se altera la permeabilidad selectiva y se pierden contenidos celulares (Sánchez y colaboradores, 2009). Por otro lado, la presencia de flavonoides en las hojas de tomillo es indicativo de la acción de estos compuestos sobre los grupos sulfhidrilos de los aminoácidos de cisteína de las enzimas microbianas o por medio de otras reacciones más inespecíficas con proteínas microbianas lo cual impide la reproducción de las células microbianas (Araujo y salas, 2008).

### **CONCLUSIONES**

Se determinó que tanto la planta medicinal como la metodología de obtención del extracto y la interacción de ambos factores influyen significativamente sobre el porcentaje de actividad antimicrobiana frente a los microorganismos *Escherichia coli* y *Candida albicans* siendo las



mejores metodologías de obtención de los extractos la maceración en etanol de paico y la maceración en etanol de tomillo. El subsecuente análisis fitoquímico determinó que las hojas de paico y tomillo contienen metabolitos secundarios tales como: aceites esenciales, taninos, flavonoides y triterpenos, esteroides, alcaloides (paico) y saponinas (tomillo).

Por medio de la obtención de extractos se determinó que el paico, tomillo, matico, ortiga, hierba luisa, albahaca, ambo y guayaba, en su orden ejercen la actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans* a una concentración estándar de 5000 mg/l. Las medias del porcentaje de inhibición de los extractos de estas plantas medicinales oscilan entre 12,5 hasta el 100%.

Los extractos vegetales más promisorios con actividad antimicrobiana frente a los microorganismos *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Los extractos que presentaron mayor diferencia significativa fue el extracto por maceración en etanol de paico (100% de efectividad) y el extracto por maceración en etanol de tomillo (100% de efectividad) a una concentración de 5000 mg/l.

Las concentraciones más adecuadas para inhibir en un 100% la actividad microbiana de *Escherichia coli* con el extracto etanólico de paico es de 2500 mg/l y con el extracto etanólico de tomillo es de 5000 mg/l. En el caso de la *Candida albicans* las concentraciones más adecuadas para inhibir en un 100% la actividad microbiana con el extracto etanólico de paico es de 2500 mg/l y con el extracto etanólico de tomillo es de 2500 mg/l. Sin embargo, se puede lograr una inhibición del 50% del crecimiento de la levadura a una concentración de 1000 mg/l.

Los metabolitos secundarios contenidos en las hojas secas de las plantas medicinales con mayor actividad antimicrobiana fueron los siguientes: las hojas de paico contienen metabolitos secundarios tales como aceites esenciales, alcaloides, taninos, flavonoides y triterpenos y esteroides mientras que las hojas de tomillo contienen flavonoides, aceites esenciales, taninos, saponinas y triterpenos y esteroides.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Andrés, D.; Barrio, J.; Antón, J. 2008. Física y química, 1 Bachillerato. Editex. España. Pp.: 123.

Araujo, J.; Salas, R. 2008. Actividad antimicrobiana de plantas. Revista Científica de la Universidad Científica del Sur. Perú. Consultado en: <http://www.apicoladelalba.cl/actividad-antimicrobiana-de-plantas-sci/> (13/01/2014).

Arora, R. Mathur, A.; Mathur, K. 2011. Emerging Trends in Medicinal Plant Biotechnology. Medicinal Plant Biotechnology. CAB International. Reino Unido. Pp.: 1.

Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (Programa Iberoamericano) (CYTED). 1995. Plantas bajo estudio por los grupos de investigadores. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-1 Búsqueda de Principios Bioactivos en plantas.

De la Torre, L.; Alarcón, D. Kvist, L.P. Salazar, J. 2008. Usos medicinales de las plantas. Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Herbario QCA & Herbario AAU. Ecuador. Pp.: 105–114.

Espinoza, I. 2003. Análisis fitoquímico y actividad antibacteriana de *Tillandsia revurvata*. Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. México. Pp.: 2-30.

García, V. 2007. Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos etanólicos totales de cinco especies del género *Baccharis*. Tesis Ingeniería en Biotecnología. Escuela Politécnica del Ejército. Ecuador. Pp.: ix, 2.

Joshi, B.; Lekhak, S.; Sharma, A. 2009. Antibacterial Property of Different Medicinal Plants: *Ocimum sanctum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Xanthoxylum armatum* and *Origanum majorana*. Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology Vol. 5 (I). Nepal. Pp.: 143- 150.

Kumar, A. 2010. Medicinal Plants. Mittal Publications. India. Pp.: 1.

Michael, T.; Madigan, J.; Martinko, J. Brock. 2004. Biología de los Microorganismos. Decima Edición. Pearson Educación S.A. España. Pp.: 158 – 159.

Ortuño, M. 2006. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. AIYANA ediciones. España. Pp.: 223-224.

Prescott, L.; Harley, J.; Klein, D. 2004. Microbiología. Quinta Edición. McGraw-Hill-Interamericana de España. España. Pp.: 114.

Roopashree, T.; Raman, D.; Shobha, R.; Narendra, C. 2008. Antibacterial activity of antipsoriatic herbs: *Cassia tora*, *Momordica charantia* and *Calendula officinalis*. International Journal of Applied Research in Natural Products Vol. 1(3). India. Pp.: 20-28.

Sánchez, Y.; Pino, O.; Correa, T.; Naranjo, E.; Iglesia, A. 2009. Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de *Piper auritum* kunth (caisimón de anís). Revista de Protección Vegetal. Cuba. Pp.: 39-46.

Vallejo, L. 2010. Determinación de la actividad antibacteriana y antimicótica de los extractos de *Solanum nigrescens* (hierba mora), *Nicandra physalodes* (ambo) y *Sida poeppigiana* (escobillo), plantas registradas en el Chota-Imbabura sobre *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus*

*pneumoniae* y *Candida albicans* causantes de enfermedades bucofaríngeas. Tesis Ingeniería en Biotecnología. Escuela Politécnica del Ejército. Ecuador. Pp.: XXII.