

Evaluación microbiológica preliminar de plantas de la flora cubana en Granma.

Preliminary microbiological assessment of plants of the cuban flora in Granma.

Jorge L. Difurnó López; ¹ Caridad de la Paz Lorente; ² Javier Frías Tamayo; ³ Javian Ocaña Ramírez; ⁴ Rosa Ramírez Castillo. ⁵

¹ Profesor Auxiliar. Máster en Química Biológica. Facultad de Ciencias Medicas "Celias Sánchez Manduley". Manzanillo. Granma.

² Instructor. Máster en Química Biológica. Filial de Ciencias Médicas "Haydee Santamaría Cuadrado". Manzanillo. Granma.

³ Instructor. Máster en Química Biológica. Filial de Ciencias Médicas "Haydee Santamaría Cuadrado". Manzanillo. Granma.

⁴ Instructor. Máster en Química Biológica. Filial de Ciencias Médicas "Haydee Santamaría Cuadrado". Manzanillo. Granma.

⁵ Profesor Auxiliar. Máster en Enfermedades Infecciosas. Facultad de Ciencias Medicas "Celias Sánchez Manduley". Manzanillo. Granma.

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 las tinturas obtenidas a partir de las especies vegetales: *Jatropha aethiopica* Muell Arg., *Pteris vittata* L., *Luffa cilíndrica* L. y *Turnera ulmifolia* L., con el objetivo de establecer los patrones de mínima concentración inhibitoria, mínima concentración microcida y el comportamiento como microcida o microstático de los mismos ante la cepa control *S. aureus* ATCC 25923. Los resultados obtenidos permiten afirmar que las tinturas de hojas de *Pteris vittata* L y la elaborada a partir del fruto de *Luffa cilíndrica* L desarrollaron una mejor actividad inhibitoria frente a dicha cepa. *Pteris vittata* L y *Luffa cilíndrica* L desarrollaron su actividad al 3,125 % de la tintura obtenida. En cambio *Pteris vittata*, desarrolla acción microcida mientras que *Luffa cilíndrica* lo hace de manera microstática.

Descriptores DeCS: PLANTAS MEDICINALES; FITOTERAPIA

Abstract

To obtain that the Cuban population has strictly studied phytopharmaceuticals has been the goal of many researchers. For this reason, the present study evaluated the antimicrobial in Vitro activity of tinctures obtained from plant species: *Jatropha aethiopica* Muell arg., *Pteris vittata* L., L. and cylindrical *Luffa* *Turnera ulmifolia* L., with the aim of establishing patterns of minimum inhibitory concentration, minimum microcid concentration and microcid or microstatic behavior of them towards the *S. aureus* ATCC 25923 control stock. The results obtained evidenced that tinctures from leaves of *Pteris vittata* L and the elaborated from the fruit of *Luffa* cylindrical L

developed a better inhibitory activity against this strain. *Pteris vittata* L and *Luffa cylindrical* L developed its activity to the 3,125% obtained tincture. On the other hand *Pteris vittata*, carried out a microcid action while *Luffa cylindrical* performed a microstatic way.

Subject heading: MEDICINAL PLANTS; PHYTOTHERAPY

Introducción

Hoy en día, a pesar del desarrollo de la Humanidad, las plantas medicinales continúan siendo un arsenal muy valioso tanto de sustancias bio-activas como de sus precursores con fines de producción para medicamentos vegetales o materia prima para la industria farmacéutica, debido a su contenido fitoquímico y escaso efecto tóxico.¹

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 investigaciones en aras de garantizar la obtención de bio-preparados asequibles a toda la población, que cuenten con la suficiente base científica y sean genuina expresión de sus experiencias etnobotánicas.²

En las condiciones de Cuba antes de 1960, la utilización de plantas medicinales era patrimonio popular unido a necesidades no resueltas de la población. Los profundos avances científicos actuales confirman la vigencia del retorno a la tierra, no sólo para 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.³

Para la demostración de actividad antimicrobiana existe una amplia gama de metodologías, pero la opinión más generalizada señala que una de las formas más eficientes, económicas y asequibles, son las técnicas de difusión en agar. 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.⁴

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.

Método

Especies estudiadas:

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

Es un árbol de varios metros de altura, muy ramificado y lechoso. Sus hojas son grandes, alternas, lampiñas, palmeadas y acorazonadas en la base y con pecíolo de

30 cm de longitud. Las plantas de este género son nativas de África, Norteamérica, y el Caribe.

Clasificación taxonómica:

Reino: Plantae. División: Magnoliophyta. Clase: Magnoliopsidae.

Orden: Malpighiales. Familia: Euphorbiaceae. Género: Jatropha.

Especie: *Jatropha aethiopica*. Muell Arg.

Pteris vittata L. (Helecho).

Sus hojas tienen limbo largo y lanceolado. Las pinnas son muy numerosas, no divididas, lineales, agudas, de margen cerrado y auriculadas en la base. Los soros se disponen en forma lineal. Es una especie calcífila y prospera mejor en lugares abiertos sobre rocas, muros, cerca de acequias, riachuelos y paredes calizas.

Clasificación taxonómica:

Reino: Plantae. División: Pteridophyta. Clase: Pteridopsida.

Orden: Pteridales. Familia: Pteridaceae. Género: Pteris.

Especie: *Pteris vittata L.*

Luffa cylindrica L (Roem). (Carolus Linnaeus. (Friegaplatos)

Es una enredadera herbácea, vigorosa y de ciclo anual. Su tallo es delgado, lamiño, de 4 a 6 cm de largo o más, con guías de más de 10 m de largo. Aparece alrededor de poblaciones, sobre los árboles, postes de luz eléctrica y cercas. Sus frutos se usan como esponjas o estropajo y el resto de la planta como medicinal.

Clasificación taxonómica:

Reino: Plantae. División: Magnoliophyta. Clase: Magnoliopsida.

Orden: Violales. Familia: Cucurbitaceae. Género: *Luffa*.

Especie: *Luffa cilíndrica L.*

Turnera ulmifolia L. (Marilope)

Es una planta arbustosa, silvestre, erecta, ramificada, de casi un metro de altura. Hojas lanceoladas, aovado-oblengas, delgadas, de pecíolos cortos, aserradas, agudas o acuminadas en el ápice, y en su mayoría estrechadas en la base. Las flores son axilares, de color amarillo azufre brillante en sus cinco pétalos, de pedúnculos cortos, bractéolas del mismo largo o más que el cáliz, lanceoladas y aserradas en la parte más baja. Es nativa de México y la India Oriental.

Clasificación taxonómica:

Reino: Plantae. División: Magnoliophyta. Clase: Magnoliopsida.

Orden: Malpighiales. Familia: Turneráceae. Género: Turnera.

Especie: *Turnera ulmifolia L.*⁵

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 menstruo 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 Pública, 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.

Aseguramiento de la calidad para los extractos vegetales seleccionados:

Después de realizada la extracción y lograda homogeneidad y transparencia total de las tinturas, fueron embasadas en frascos ámbar para evitar la descomposición de las sustancias activas por acción de la luz, atendiendo a que diversas sustancias activas extraídas de las plantas son fotosensibles. Todas las muestras se dejaron reposar por tres días en refrigeración a 8 °C y luego fueron sometidas a los análisis de calidad.

Tamizaje fitoquímico:

Se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales del 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: Dragendorff y Mayer, de Baljet, de Sudán III, determinación de resinas, de Liebermann-Burchard, determinación de espuma, de Fehling, de Borntrager, de Shinoda, determinación de antocianidinas y mucílagos.

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

Microorganismos seleccionados: Cepa control: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Aseguramiento de la calidad para los microorganismos seleccionados:

Las cepas control ATCC se transportaron refrigeradas e inoculadas en medio agarizado de Müller-Hinton y el día antes de su empleo en la experimentación se inocularon 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: Tamizaje general, determinación de la mínima concentración inhibitoria (MCI) y determinación de la mínima concentración bactericida (MCB).

El método de dilución se emplea para determinar la MCI que se requiere del agente antimicrobiano para inhibir o matar al microorganismo, es decir, la MCI es la concentración más baja en la que no hay crecimiento visible. Las ventajas de este método son su simplicidad, sensibilidad, reproducibilidad, rapidez, facilidad de estandarizar y de procesar una gran cantidad de muestras; además ofrece la posibilidad de usarlo en el estudio de antimicrobianos solubles en agua o muestras insolubles como aceites esenciales.

Se define como MCI a la concentración mínima de una sustancia o antibiótico capaz de inhibir el crecimiento bacteriano. Cuando en esta determinación, por el método de dilución seriada en caldo, se observa que no hay desarrollo de microorganismos,

o sea, ausencia de turbidez, hasta llegar a una dilución a partir de la cual, comienza a haber crecimiento de nuevo; esa cifra inferior o mínima es conocida como MCI.⁶

Si se realizan sub-cultivos en placas de agar a partir de los tubos donde no hay turbidez, puede darse el caso de que la sustancia empleada sea: BACTERIOSTATIC, si se desarrolla crecimiento por debajo de la dilución considerada MCI; ó BACTERICIDA, dilución por debajo de la MCI, en la cual no pueden recuperarse bacterias mediante sub-cultivo, ni tampoco en concentraciones superiores a ella. Esta concentración o dilución es denominada MCB, o mínima concentración bactericida.

El estudio de la actividad antimicrobiana *in vitro* se llevó a cabo mediante la determinación de la MCI teniendo en cuenta el método de las diluciones seriadas dobles en medio líquidos. 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 las adaptaciones siguientes:

Volumen total de 1 ml en tubo de ensayo de 12x75 mm.

Medio Müller-Hinton.

Lectura de resultados en base a turbidimetría para determinar el crecimiento desarrollado. Confirmación de lectura a las 24 y 48 horas de incubación.

Para los cálculos de MCI y MCM, ó mínima concentración microcida se realizan tres replicas para cada dilución, ofreciendo como resultado final el promedio de dichos valores. Durante los experimentos se tuvieron en cuenta las Buenas Prácticas 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 respecto y posibilita la decisión de continuar el flujograma investigativo o desechar el producto como tal.⁷

Resultados

Durante el experimento realizado se empleó un set de diluciones seriadas basado en la proporción de la tintura empleada, expresada en por ciento. La concentración inhibitoria mínima o MCI se refleja en la proporción de tintura empleada, nótese que los intervalos ofrecidos permiten detectar como, el resultado comienza casi siempre a partir del octavo tubo ó el décimo (tabla 1).

Se aprecia en esta tabla 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.

En la tabla 2 se muestra que partiendo del intervalo de mínima contracción inhibitoria es posible obtener la cifra de mínima concentración microcida asumiéndola como el límite inferior del mismo.

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.

En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos en el experimento anterior, con los que se deduce el tipo de efecto farmacológico que el producto ejerce sobre el microorganismo, existiendo en este caso solo dos categorías posibles, microcida ó microstático.

Discusión

El reino vegetal representa una enorme fuente potencial de moléculas por ser descubiertas, ya que más del 90 % de las especies vegetales no han sido aún exhaustivamente estudiadas y cerca del 25 % de las drogas prescritas en casi todo el mundo provienen de las plantas: 121 compuestos bioactivos se han convertido en drogas de uso común. 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., (**Chaya**); *Pteris vittata* L., (**Helecho**); *Luffa cylindrica* L (Roem). (Carolus Linnaeus. (**Friegaplatos**) y *Turnera ulmifolia* L., (**Marilope**) 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.²

Mediante los ensayos *in vitro* para evaluar la susceptibilidad de la cepa bacteriana frente a los extractos ensayados se determinó que la tintura de *Pteris vittata* L., (**Helecho**); *Luffa cylindrica* L (Roem). (Carolus Linnaeus. (**Friegaplatos**) 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 cylindrica* posee un intervalo desde 0,195 - 0,39 hasta 1,562 – 3,125 % de tinturas. 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 donde se produce el fenómeno de que, la sustancia o droga probada durante la experiencia, inhibe el crecimiento microbiano, pero el verdadero MCI reside en el intervalo creado por esta dilución y el valor inmediato superior.^{1, 5}

Las bacterias pertenecientes al género *Staphylococcus* son patógenos humanos y de otros mamíferos. *Staphylococcus aureus* es una bacteria bastante común y causante de diversas infecciones cuya gravedad va desde una intoxicación alimentaria ó infección cutánea de poca importancia, hasta infecciones potencialmente mortales como meningitis. Cuando las infecciones están localizadas en la piel, pueden causar forúnculos, conjuntivitis, heridas infecciosas, pústulas o abscesos profundos, osteomielitis, artritis y meningitis. Con frecuencia poseen resistencia a la penicilina debido a que producen una enzima del tipo β-lactamasa (penicilinasa) que hidroliza el anillo beta-lactámico de la penicilina.⁸⁻¹⁰

En los estafilococos, el surgimiento de cepas resistentes y la capacidad de producir enfermedad están fuertemente relacionados con el amplio uso de los antibióticos, además de su enorme potencial para desarrollar resistencia y multi-resistencia. Debido a la resistencia a multidrogas de las cepas resistentes a meticilina, así como el surgimiento de cepas de *S. aureus* con susceptibilidad intermedia o resistente a vancomicina, las opciones terapéuticas para el tratamiento de las infecciones causadas por *S. aureus* tienden a ser cada vez más limitadas. Por ello, es importante contar con estudios sobre la capacidad de inhibición de extractos naturales, que pueden ser una alternativa a los productos farmacéuticos.¹¹⁻¹³

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 mureína. Por eso es posible una buena respuesta de inhibición contra *S. aureus*. No existen trabajos de referencia sobre actividad antimicrobiana ante este tipo de tinturas, que nos 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 empleados en relación con el efecto inhibidor contra las cepas bacterianas, el cual puede deberse a la estructura y composición de su pared celular.¹⁴

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 las tinturas empleadas, permite asociar

diferentes mecanismos de acción contra la bacteria empleada en aras de lograr la inhibición de su crecimiento ya sea mediante la 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.¹²

Los resultados obtenidos resultan similares en alguna medida con los reportados por varios investigadores que emplean cepas del mismo germe como control microbiológico o como muestra en si para su experimentación. Muchos de ellos no evalúan las tinturas ni los extractos, sino aceites o mezclas químicamente mejor caracterizadas. 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.

Los resultados obtenidos permiten desechar en este caso las tinturas que demuestren menor poder antimicrobiano en cuanto a mínima concentración inhibitoria pues la mezcla no desempeña una acción potente contra el germe

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.*¹⁴

Conclusiones

La experiencia desarrollada con la cepa control de *S. aureus* ATCC 25923 permite afirmar que: La tintura de hojas de *Pteris vittata L* y la elaborada a partir del fruto de *Luffa cilíndrica L* desarrollaron una mejor actividad inhibitoria frente a dicha cepa. La solución de las tinturas 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, Alonso Rojo SE, Rodríguez Martínez R, Martínez Romero A, Ramírez Baca P, Torres Muñoz J, Castro Barraza V. Actividad antibacteriana de extractos de vegetales en cepas hospitalarias de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple. Tercera Reunión Nacional sobre Orégano. [Internet] 2007 [citado 23 mayo 2011]. Disponible en: <HTTP://WWW.GOOGLE.ES/URL?SA=T&RCT=J&Q=ACTIVIDAD+ANTIMICROBIA+NA+DE+EXTRACTOS+VEGETALES+EN+CEPAS+HOSPITALARIAS+DE+STAPHYLOCOCCUS+AUREUS+CON+RESISTENCIA+M%C3%9ALTIPLE.&SOURCE=WEB&CD=2&VED=0CFSQFJAB&URL=HTTP%3A%2F%2FDIALNET.UNIRIOJA.ES%2FSERVLET%2FTESIS%3FCODIGO%3D13743&EI=DGLOT9LZBAYE6QG92OXFDG&USG=AFQJCNG58EDDJWVZC7BBSDSBY8KOYYZACG&CAD=RJA>
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. Rev Cubana Plant Med [Internet] 2008 [citado 24 abril 2011]; 13(4): [aprox. 9p.]. Disponible en: http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=54482&id_seccion=496&id_ejemplar=5520&id_revista=77
5. Lapena EA, Medina Ramírez GE, Diaz L, Aguillón K, Marín H. Actividad bactericida y fungicida de algunas plantas utilizadas en la Medicina Tradicional Venezolana. INHRR. [Internet] 2003 [citado 23 Junio 2009]; 34(1): [aprox. 5p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0798-04772003000100002&script=sci_arttext
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Approved Standard M7-A5. NCCLS, Wayne, USA; 2000.
7. Martínez MJ, Molina N y Boucourt E. Evaluación de la actividad antimicrobiana de Psidium guajava. Rev Cubana Plant Med 1999; 2(1):12-4.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. CLSI. Performance standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-Ninth Edition. M2-A9: National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa; 2006.
9. Ponce A, Roura S, Del Valle C. y 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.
10. 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.
11. Domingo D, Lopez Brea M. Plantas con actividad antimicrobiana. Rev Esp Quimoterap 2003; 16(4): 385-93.
12. Acosta Campusano Y, Fonseca Cabrales L, Almeida Saavedra M, Fonseca García A. y Reytor Rosabal N. Tamizaje Fitoquímico de extractos etéreo, alcohólico y acuoso de hojas de Pteris vittata L. Revista Química Viva [Internet] 2010 [citado 23 Junio 2009]; 19(1): [aprox. 5p.]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=86312852007>

13. Hampshire RJ. Luffa. En: Davidse, G., M. Sousa S., S. Knapp y F. Chiang (eds.). Cucurbitaceae a Polemoniaceae. Flora Mesoamericana. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Missouri Botanical Garden, The Natural History Museum. México, D.F; 2009.
14. 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 [Internet] 2010 [citado 23 Junio 2009]; (1): [aprox. 7p.]. Disponible en: [http://www.researchgate.net/publication/45087572 Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico etéreo y acuoso de hojas y flores de la Turnera Ulmifolia L](http://www.researchgate.net/publication/45087572_Tamizaje_fitoquímico_de_los_extractos_alcohólico_etéreo_y_acuoso_de_hojas_y_flores_de_la_Turnera_Ulmifolia_L)

Anexos

Tabla 1. Intervalos de Mínima Concentración Inhibitoria de las tinturas vegetales estudiadas frente a *S. aureus* ATCC 25923 frente.

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

Fuente: Registro de control del experimento.

Tabla 2. Intervalos de Mínima Concentración Microcida de las tinturas vegetales estudiadas frente a *S. aureus* ATCC 25923.

	Mínima Concentración Microcida
--	--------------------------------

Extractos vegetales	(En % de concentración del extracto)
<i>Jatropha aethiopica Muell Arg.</i> (Chaya)	1,562
<i>Pteris vittata L.</i> (Helecho)	3,125
<i>Lufa cilíndrica L.</i> (Friegaplatos)	3,125
<i>Turnera ulmifolia L.</i> (Marilope)	0,390

Fuente: Registro de control del experimento.

Tabla 3. Efecto farmacológico de las tinturas vegetales estudiadas frente a *S. aureus* ATCC 25923.

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

Fuente: Registro de control del experimento.

Recibido: 22 de febrero 2012.

Aprobado: 27 de marzo 2012.