

Artículo científico

Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos frescos de hojas de *Morus alba* L.

Evaluation of the antimicrobial activity of fresh extracts of *Morus alba* L. leaves

Maykelis Díaz Solares, Yudit Lugo Morales, Leydi Fonte Carballo, Inelvis Castro Cabrera, Onel López Vigoa e Iván L. Montejo Sierra.

Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey. Universidad de Matanzas, Ministerios de Educación Superior. Central España Republicana CP 44280, Matanzas, Cuba
Correo electrónico: maykelis.diaz@ihatuey.cu

Resumen

En el reino vegetal se producen compuestos con propiedades antimicrobianas que pueden ser empleadas en el control de diferentes enfermedades tanto de los animales como de las plantas. Una de las especies atractivas es *Morus alba*, la cual posee una trascendental historia de uso en la medicina tradicional asiática. Por tal motivo, los objetivos de este trabajo fueron determinar cualitativamente la presencia de fenoles y flavonoides y evaluar la capacidad antimicrobiana de diferentes extractos frescos de hojas de morera frente a patógenos bacterianos. Para los ensayos de fitoquímica y de actividad antimicrobiana se utilizaron hojas de 2 variedades (tigreada e indonesia) y 2 híbridos (IZ 15/7 e IZ 64) de *M. alba* en un diseño totalmente aleatorizado con un control positivo y tres negativos (antibióticos). Se utilizaron extractos frescos para la actividad antimicrobiana, la cual se determinó por el método de perforaciones en agar frente a cinco microorganismos que afectan tanto a los animales como al ser humano: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Streptococcus β hemolítico*. De manera general se observó en todos los extractos la presencia abundante de flavonoides y de fenoles activos frente a los microorganismos patógenos evaluados sin diferencias significativas entre ellos. Se sugiere la utilización de *M. alba* como una alternativa saludable para enriquecer la dieta animal y se recomienda el uso de estos extractos con fines farmacéuticos para combatir las enfermedades originadas por los microorganismos que se estudiaron.

Palabras clave: extractos vegetales, fenol, flavonoides, organismos patógenos

Abstract

In the plant kingdom compounds are produced with antimicrobial properties that can be used in the control of different diseases of animals as well as plants. One of the attractive species is *Morus alba*, which has transcendental history of use in Asian traditional medicine. For such reason, the objectives of this work were to determine qualitatively the presence of phenols and flavonoids and to evaluate the antimicrobial capacity of different fresh extracts of mulberry leaves against bacterial pathogens. For the phytochemical and antimicrobial activity essays leaves from 2 varieties (tigreada and indonesia) and 2 hybrids (IZ 15/7 and IZ 64) of *M. alba* were used in a completely randomized design with one positive and three negative controls (antibiotics). Fresh extracts were used for the antimicrobial activity, which was determined by the method of perforations in agar against five microorganisms that affect the animals as well as human beings: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and *Streptococcus β hemolítico*. In general, the abundant presence of flavonoids and active phenols against the evaluated pathogen microorganisms without significant differences among them was observed in all the extracts. The use of *M. alba* is suggested as a healthy alternative to enrich the animal diet and the use of these extracts with pharmaceutical purposes is recommended to fight the diseases originated by the studied microorganisms.

Keywords: plant extracts, phenol, flavonoids, pathogen organisms

Introducción

Las enfermedades infecciosas en los animales constituyen uno de los principales problemas de morbilidad y mortalidad en los países en vías de desarrollo. En la medicina humana y veterinaria los antibióticos sintéticos desempeñan un papel esencial en el tratamiento de diferentes enfermedades.

Sin embargo, la gran diversidad de antibióticos y su uso indiscriminado en el tratamiento y la prevención de infecciones producidas por bacterias, ejercen una inmensa presión de selección en el surgimiento y la diseminación de los mecanismos de resistencia entre diversas poblaciones bacterianas (Madigan *et al.*, 2014). Es por ello que se agudiza

la necesidad de buscar nuevos tratamientos de origen vegetal para combatir diversas enfermedades ocasionadas por patógenos, lo que revoluciona la industria farmacéutica natural.

La morera (*Morus alba*) se caracteriza por ser un excelente y palatable forraje, además constituye una fuente natural de importantes compuestos bioactivos. Los extractos de *M. alba* se recomiendan como terapéuticos para el tratamiento de varias afecciones, debido a sus propiedades antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana, por citar algunas (Huang *et al.*, 2013; Chan *et al.*, 2016).

La emergencia de la resistencia bacteriana ha generado nuevos intereses en la búsqueda de medicamentos con poder antibacteriano y es por ello, que los productos naturales desempeñan un papel fundamental porque constituyen fuentes de moléculas bioactivas. Por tal motivo, los objetivos de este trabajo fueron determinar cualitativamente la presencia de fenoles y flavonoides y evaluar la capacidad antimicrobiana de diferentes extractos frescos de hojas de morera frente a patógenos bacterianos.

Materiales y Métodos

Material vegetal. Para los ensayos de fitoquímica y de actividad antimicrobiana se utilizaron hojas frescas de 2 variedades (tigreada e indonesia) y 2 híbridos (IZ 15/7 e IZ 64) de *M. alba* recolectadas y referenciadas en el herbario de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey. Se utilizaron extractos frescos a una concentración de 1 g/mL. Las hojas fueron previamente maceradas en nitrógeno líquido, disueltas en tampón fosfato de sodio (100 mM) y centrifugadas a 5 000 rpm durante 20 minutos. El sobrenadante se conservó en frío y se utilizó para los experimentos de actividad antimicrobiana.

Determinación cualitativa de fenoles y flavonoides. Los metabolitos se evaluaron según el procedimiento descrito por Díaz-Solares *et al.* (2015) que consiste en un sistema no paramétrico de cruces: ++: presencia cuantiosa; +: presencia notable; +: presencia leve; -: ausencia.

Cepas de microorganismos. Las cepas bacterianas utilizadas fueron: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Streptococcus agalactiae* o *Streptococcus β-hemolítico* suministradas por el Centro Provincial de Higiene y Epidemiología de la provincia de Matanzas y procedentes de aislados clínicos.

Medios de cultivo. Se utilizó el medio Müller-Hinton (líquido y sólido), esterilizado en autoclave a 121°C y una atmósfera de presión durante 20 minutos.

Diseño experimental y tratamientos. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado. Se consideraron como tratamientos los extractos de las diferentes variedades de morera y como control negativo se utilizó una solución de tampón fosfato de sodio 100 mM. En el caso de los controles positivos se empleó azitromicina (10 mg/mL), ciprofloxacino (10 mg/mL) y ceftazidima (10 mg/mL).

Ensayo de actividad antibacteriana. Las bacterias conservadas en glicerol al 30 % se inocularon en el medio líquido Mueller-Hinton y se incubaron a 37°C en agitación (100 rpm) durante 18 h. Posteriormente se preparó una suspensión para cada una de las cepas bacterianas al 0,5 de la escala de Mc Farland. Los microorganismos se inocularon en el medio agarizado, previamente fundido y mantenido a 45°C. El crecimiento en césped fue a una concentración final de 10⁸ células/mL aproximadamente. Después de la solidificación del medio, se hicieron 6 perforaciones de 0,8 cm de diámetro, donde se colocaron 100 µL del extracto de morera, así como de los controles negativos y positivos. Se realizaron 10 repeticiones por tratamiento para cada microorganismo. Las 10 placas Petri por grupo microbiano se incubaron a 37°C durante 24 h. Posteriormente se procedió a la medición del diámetro del halo de inhibición del crecimiento de los microorganismos y al cálculo del porcentaje del efecto inhibitorio relativo respecto al control positivo, como se expresa en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ efecto inhibitorio} = \frac{\text{media del diámetro del halo de inhib. extracto}}{\text{media del diámetro del halo de inhib. control positivo}} \times 100$$

Análisis estadístico. A los datos del diámetro del halo de inhibición se les comprobó el cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianza (prueba de Levene) y de distribución normal (Shapiro Wilks modificado) y al no cumplir con estos requisitos se utilizó un análisis de varianza no paramétrico mediante la prueba de Kruskal-Wallis con un 5 % de significación. Para determinar las diferencias entre los rangos medios de cada tratamiento, se efectuaron comparaciones de a pares mediante la prueba U de Mann-Whitney con ajuste de Bonferroni. Se empleó el paquete estadístico Infostat, versión 1.1 (InfoStat, 2002).

Resultados y Discusión

Los extractos frescos de las 2 variedades y los 2 híbridos tuvieron una presencia cuantiosa de flavonoides. En el caso de los fenoles en tigreada e IZ 64 fueron abundantes y en indonesia e IZ 15/7 notables (tabla 1).

Los metabolitos secundarios se han asociado a importantes funciones fisiológicas en las plantas, específicamente a la defensa frente a herbívoros y patógenos microbianos (Buchanan *et al.*, 2000). Las propiedades farmacológicas de los extractos vegetales se atribuyen al alto contenido de compuestos fenólicos, los cuales a su vez se relacionan con actividades antioxidantes y antimicrobianas (Al-Abd *et al.*, 2015).

Recientemente, Chan *et al.* (2016) reportaron alrededor de 34 diferentes flavonoides y 11 compuestos fenólicos en las hojas de *M. alba*. Las moracinas constituyen una fuente importante de agentes anti-infectivos, pues poseen una marcada actividad antibacteriana y fungicida (Naik *et al.*, 2015).

La actividad antimicrobiana de las variedades e híbridos de *M. alba* contra la bacteria Gram positiva *S. β hemolítico* se muestran en la tabla 2. Los halos de inhibición de las variedades e híbridos no presentaron diferencias significativas entre ellos, pero sí con los controles, excepto con la azitromicina que fue similar a la variedad tigreada y al híbrido IZ 15/7. Sin embargo, la inhibición entre los controles fue significativamente diferente, lo que demostró que los antibióticos no actúan con la misma efectividad. Todos los extractos presentaron

actividad por encima del 50 % de efecto inhibitorio si se comparan con azitromicina y ciprofloxacino, lo que evidencia el potencial bactericida de los extractos de morera para combatir este patógeno.

El flavonoide Kuwanon G, aislado de la corteza de la raíz de *M. alba*, presentó buena actividad frente a bacterias cariogénicas tales como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sanguis* y *Porphyromonas gingivalis* que causan periodontitis (Park *et al.*, 2003); ello demostró la acción que pueden ejercer los metabolitos de la morera sobre las especies de este género patogénico.

En el caso de *S. aureus*. (tabla 3) todos los extractos presentaron actividad inhibitoria y sus halos de inhibición no difirieron significativamente entre sí. Cuando se comparó con la ceftazidima específicamente dicha actividad inhibitoria fue baja (alrededor del 30 %), lo que resultó interesante para una cefalosporina de tercera generación, como es el caso de este antibiótico de amplio espectro. Estos resultados, a simple vista, podrían parecer contradictorios al tratarse de una bacteria Gram positiva. Según Chouna *et al.* (2009), los microorganismos que pertenecen a este grupo tienden a ser más susceptibles ya que su pared celular es menos compleja y carecen de una filtración efectiva contra grandes moléculas y debido al tamaño de los poros en su envoltura celular son menos selectivas. Sin embargo, este hecho se podría explicar tomando como punto de partida lo reportado por Tavares (2000), quien aseveró que existen mecanismos de resistencia por

Tabla 1. Metabolitos presentes en extractos acuosos de hojas de *M. alba*

Metabolito	Tigreada	Indonesia	IZ 15/7	IZ 64
Fenoles	+++	++	++	+++
Flavonoides	+++	+++	+++	+++

Tabla 2. Actividad antimicrobiana frente a *S. β hemolítico*.

Tratamiento	Halo de inhibición(mm) (media ± DE)	Inhibición (%)		
		Control I	Control II	Control III
Tigreada	9,38 ^{cd} ± 0,52	92,00	71,40	37,68
Indonesia	9,06 ^d ± 0,42	88,94	69,02	36,42
IZ 15/7	9,25 ^{cd} ± 0,46	90,78	70,45	37,18
IZ 64	9,13 ^d ± 0,35	89,55	69,50	36,68
Control I (Azitromicina)	10,19 ^c ± 0,66	-	-	-
Control II (Ciprofloxacino)	13,13 ^b ± 1,02	-	-	-
Control III (Ceftazidima)	24,88 ^a ± 1,93	-	-	-

Medias en columna seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$

Tabla 3. Actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*.

Tratamiento	Halo de inhibición (mm) (media ± DE)	Inhibición (%)		
		Control I	Control II	Control III
Tigreada	9,25 ^d ± 0,46	63,53	46,69	32,03
Indonesia	9,25 ^d ± 0,71	63,53	46,69	32,03
IZ 15/7	9,19 ^d ± 0,53	63,10	46,38	31,81
IZ 64	9,50 ^{cd} ± 0,58	65,25	47,96	32,89
Control I (Azitromicina)	14,56 ^{bc} ± 2,25	-	-	-
Control II (Ciprofloxacino)	19,81 ^b ± 1,42	-	-	-
Control III (Ceftazidima)	28,88 ^a ± 3,01	-	-	-

Medias en columna seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

parte de *S. aureus* que están relacionados con la activación de una síntesis de la pared celular, con hiperproducción de proteínas ligadoras de penicilina.

La enzima enoil-ACP reductasa se ha convertido en un referente para el desarrollo de productos antibacterianos porque es esencial para el crecimiento de las bacterias y presenta 4 isoformas (FabI, FabK, FabL y FavV). La chalomoracina presente en los extractos metanólicos de *M. alba* posee un fuerte poder inhibitorio frente a FabI de *S. aureus* mientras que la moracina C muestra un efecto moderado, lo que evidencia la propiedad antibacteriana de la morera (Kim *et al.*, 2012).

Los extractos presentaron actividad antimicrobiana contra la bacteria Gram negativa *K. pneumoniae* próximos al 50 % si se compara con la ceftazidima (tabla 4). A pesar de ser una bacteria que se caracteriza por su marcada resistencia a múltiples antibióticos (Yi *et al.*, 2003), no hubo diferencias significativas entre las variedades e híbridos; los halos de inhibición fueron estadísticamente similares a los antibióticos azitromicina y ciprofloxacino.

K. pneumoniae forma parte de la flora habitual intestinal y de la cavidad oral y es capaz de causar infección del tracto urinario y neumonía en personas sanas. La mayoría de las infecciones causadas por este microorganismo se adquieren en el hospital u ocurren en pacientes debilitados por enfermedades subyacentes. Según Ko *et al.* (2002), la *Klebsiella* ocupa el segundo lugar en la incidencia de aparición de bacteriemia por Gram negativos, superado solamente por *E. coli*.

Las tablas 5 y 6 muestran la actividad antimicrobiana de las variedades y los híbridos de morera contra *E. coli* y *P. aeruginosa*, respectivamente. En el caso de estos patógenos, los porcentajes del efecto inhibitorio de todos los extractos con relación al antibiótico ceftazidima estuvieron por debajo del 50 % y no mostraron diferencias significativas entre ellos. La ceftazidima muestra un alto grado de estabilidad en presencia de betalactamasas (penicilinasas y cefalosporinasas) y por esto tiene una gran actividad contra un amplio número de bacterias Gram-negativas, incluyendo cepas productoras de penicilinasas y un gran número de enterobacteriáceas.

Tabla 4. Actividad antimicrobiana frente a *K. pneumoniae*.

Tratamiento	Halo de inhibición (mm) (media ± DE)	Inhibición (%)		
		Control I	Control II	Control III
Tigreada	15,63 ^b ± 1,30	95,39	93,96	51,98
Indonesia	16,88 ^b ± 1,46	103,02	101,47	56,14
IZ 15/7	15,38 ^b ± 1,69	93,86	92,45	51,15
IZ 64	15,88 ^b ± 1,89	96,92	95,46	52,81
Control I (Azitromicina)	16,38 ^b ± 3,30	-	-	-
Control II (Ciprofloxacino)	16,63 ^b ± 2,50	-	-	-
Control III (Ceftazidima)	30,06 ^a ± 1,29	-	-	-

Medias en columna seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$

Tabla 5. Actividad antimicrobiana frente a *E. coli*.

Tratamiento	Halo de inhibición (mm) (media ± DE)	Inhibición (%)		
		Control I	Control II	Control III
Tigreada	9,25 ^c ± 0,38	99,57	82,44	28,63
Indonesia	8,75 ^c ± 0,46	94,19	77,99	27,08
IZ 15/7	9,38 ^c ± 0,58	100,91	83,56	29,02
IZ 64	9,13 ^c ± 0,38	98,22	81,33	28,24
Control I (Azitromicina)	9,29 ^c ± 0,64	-	-	-
Control II (Ciprofloxacino)	11,22 ^b ± 1,05	-	-	-
Control III (Ceftazidima)	32,31 ^a ± 2,52	-	-	-

Medias en columna seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$

Tabla 6. Actividad antimicrobiana frente a *P. aeruginosa*.

Tratamiento	Halo de inhibición (mm) (media ± DE)	Inhibición (%)		
		Control I	Control II	Control III
Tigreada	8,94 ^c ± 0,32	55,86	46,60	31,04
Indonesia	8,63 ^c ± 0,95	53,91	44,97	29,96
IZ 15/7	9,75 ^{bc} ± 0,29	60,94	50,83	33,87
IZ 64	8,31 ^c ± 0,53	51,95	43,34	28,87
Control I (Azitromicina)	16,00 ^b ± 2,46	-	-	-
Control II (Ciprofloxacino)	19,18 ^b ± 1,94	-	-	-
Control III (Ceftazidima)	28,79 ^a ± 1,81	-	-	-

Medias en columna seguidas de letras diferentes indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$

Además, es la cefalosporina de mayor actividad contra *P. aeruginosa* (Lister *et al.*, 2009; Vila y Marco, 2010). Por tanto, las actividades detectadas de los extractos expuestos a *E. coli*, pueden considerarse como eficaces, pues están por encima del 70 % si se comparan con los otros antibióticos (azitromicina y ciprofloxacino) y los halos de inhibición no difirieron significativamente entre ellos. En el caso de *P. aeruginosa* tampoco se observó diferencias significativas entre los halos de inhibición de todos los extractos pero sí con los controles. El híbrido IZ 15/7 no difirió de los controles I y II (azitromicina y ciprofloxacino) y fue el que presentó la mejor actividad inhibitoria.

Se debe resaltar, que los extractos etanólicos de hojas de morera recolectadas en Brasil mostraron actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* y *Aspergillus flavus* (de Oliveira *et al.*, 2015).

La actividad antimicrobiana de los extractos de la morera puede ser atribuida a la presencia de fenoles y flavonoides, que tienen múltiples efectos biológicos, incluyendo los efectos antioxidante, cicatrizante y

antimicrobiano (Aditya *et al.*, 2012). Los compuestos fenólicos pueden ocasionar disrupción de la membrana celular, unión a proteínas, inhibición de enzimas y de síntesis de nuevas proteínas, así como la formación de puentes de disulfuro e intercalamiento con la pared celular y/o ADN (Niño *et al.*, 2012; Oh *et al.*, 2013).

Conclusiones

En todos los extractos se observó un alto contenido de fenoles y flavonoides. Las variedades e híbridos presentaron actividad antimicrobiana frente a los cinco patógenos de naturaleza bacteriana. En todos los casos la inhibición estuvo próxima o por encima del 30 %. El microorganismo *K. pneumoniae* fue el más sensible a los extractos de morera con un porcentaje inhibitorio del 50 % aproximadamente comparado con el antibiótico de tercera generación ceftazidima.

Recomendaciones

Se recomienda el estudio de estos extractos con fines farmacéuticos para combatir las enfermedades

originadas por microorganismos de relevancia médica, tanto para los animales como para los humanos. Además, se sugiere la utilización de *M. alba* como una alternativa saludable para enriquecer la dieta animal.

Referencias bibliográficas

- Aditya, R. S. J.; Ramesh, C. K.; Riaz, M. & Prabhakar, B. T. Anthelmintic and antimicrobial activities in some species of mulberry. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 4 (5):335-338, 2012.
- Al-Abd, N. M.; Mohamed-Nor, Z.; Mansor, M.; Azhar, F.; Hasan, M. S. & Kassim, M. Antioxidant, antibacterial activity, and phytochemical characterization of *Melaleuca cajuputi* extract. *BMC Complement. Altern. Med.* 15:385-398, 2015.
- Buchanan, B. B.; Gruissem, W. & Jones, R. L. *Biochemistry and molecular biology of plant*. Rockville, USA: American Society of Plant Physiologists, 2000.
- Chan, E. W. C.; Lye, P. Y. & Wong, S. K. Phytochemistry, pharmacology, and clinical trials of *Morus alba*. *Chin. J. Nat. Med.* 14 (1):17-30, 2016.
- Chouna, J. R.; Nkeng-Efouet, P. A.; Lenta, B. N.; Devkota, K. P.; Neumann, B.; Stammler, H. G. *et al.* Antibacterial endiandric acid derivatives from *Beilschmiedia anacardioides*. *Phytochemistry*. 70 (5):684-688, 2009.
- de Oliveira, A. M.; Mesquita, Mda. S.; da Silva, G. C.; de Oliveira Lima, E.; de Medeiros, P. L.; Paiva, P. M. *et al.* Evaluation of toxicity and antimicrobial activity of an ethanolic extract from leaves of *Morus alba* L. (Moraceae). *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2015.
- Díaz-Solares, Maykelis; Cazaña-Martínez, Yanet; Pérez-Hernández, Y.; Valdivia-Ávila, Aymara; Prieto-Abreu, Marlene & Lugo-Morales, Yudit. Evaluación cualitativa de metabolitos secundarios en extractos de variedades e híbridos de *Morus alba* L. (morera). *Rev. Cubana Plant. Med.* 20 (3):358-366, 2015.
- Huang, H. P.; Ou, T. T. & Wang, C. J. Mulberry (sang shèn zǐ) and its bioactive compounds, the chemoprevention effects and molecular mechanisms *in vitro* and *in vivo*. *J. Tradit. Complement. Med.* 3 (1):7-15, 2013.
- InfoStat. *InfoStat. Manual del usuario versión 1.1*. Argentina: Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, 2002.
- Kim, Y. J.; Sohn, M. J. & Kim, W. G. Chalconoracins and moracins C, new inhibitors of *Staphylococcus aureus* enoyl-acyl carrier protein reductase from *Morus alba*. *Biol. Pharm. Bull.* 35 (5):791-795, 2012.
- Ko, W. C.; Paterson, D. L.; Sagnimeni, A. J.; Hansen, D. S.; Von Gottberg, A.; Mohapatra, S. *et al.* Community-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: global difference in clinical patterns. *Emerg. Infect. Dis.* 8:160-166, 2002.
- Lister, P. D.; Wolter, D. J. & Hanson, N. D. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms *Clin. Microbiol. Rev.* 22 (4):582-610, 2009.
- Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Bender, K. S.; Buckley, D. H. & Stahl, D. A. *Brock biology of microorganisms*. United Kingdom: Pearson Education Limited, 2014.
- Naik, R.; Harmalkar, D. S.; Xu, X.; Jang, K. & Lee, K. Bioactive benzofuran derivatives: moracins A-Z in medicinal chemistry. *Eur. J. Med. Chem.* 90:379-393, 2015.
- Niño, J.; Mosquera, O. M. & Correa, Y. M. Antibacterial and antifungal activities of crude plant extracts from colombian biodiversity. *Revista de Biología Tropical*. 60 (4):1535-1542, 2012.
- Oh, J.; Jo, H.; Cho, A. R.; Kim, S. J. & Han, J. Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. *Food Control*. 31 (2):403-409, 2013.
- Park, K. M.; You, J. S.; Lee, H. Y.; Baek, N. I. & Hwang, J. K. Kuwanon G: an antibacterial agent from the root bark of *Morus alba* against oral pathogens. *J. Ethnopharmacol.* 84 (2-3):181-185, 2003.
- Tavares, W. Bacterias gram positivas: resistência do estafilococo do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 33 (3):281-301, 2000.
- Vila, J. & Marco, F. Interpretive reading of the non-fermenting gram-negative bacilli antibiogram. *Enferm. Infec. Microbiol. Clin.* 28 (10):726-736, 2010.
- Yi, Z. M.; Yang, H. & Xiang, X. D. Characteristics of bacteriology and drug sensitivity in patients with COPD combined with pneumonia. *Bulletin of Human Medical University*. 28 (3):272-274, 2003.

Recibido el 29 de septiembre del 2016

Aceptado el 16 de febrero del 2017