

Vol. 8 N° 2 • julio - diciembre 2018



Pseudomonas aeruginosa* SENSIBLE A EXTRACTOS DE HOJAS Y SEMILLAS DE *Moringa oleifera

Pseudomonas aeruginosa* sensitive to extract of leaves and seeds of *Moringa oleifera

María Pérez, Lilibeth Cabrera y Gisela Colina

Laboratorio de Microbiología, Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia.
Maracaibo-Venezuela. perezmartinezmarialorena@gmail.com

RESUMEN

Hoy, la multiresistencia bacteriana a los antibióticos de uso común, cada vez es más frecuente, por lo tanto se ha incrementado el interés por las propiedades antimicrobiana de las plantas, utilizándose como una alternativa terapéutica para el saneamiento de enfermedades infecciosas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la sensibilidad antibacteriana *in vitro* de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de origen urinario y cepa ATCC 9027, frente a extractos acuosos de hojas y semillas de *Moringa oleifera*. Los extractos acuosos se obtuvieron por cocción a 50°C por 30 min, de 25g de hojas y de semilla trituradas en 50mL de agua destilada. Para demostrar el efecto inhibitorio se utilizó la técnica de difusión en placas de Agar Nutritivo, incubadas a 37°C por 24 horas. Los resultados obtenidos muestran mayor efecto en el extracto foliar mostró inhibición entre 8 y 9 mm, mientras que con semillas de 10 y 12 mm. La cepa ATCC 9027 resultó con halos de inhibición de 8 mm con extracto foliar y 10 mm con extracto de semillas. Se concluye que extractos acuosos 50 mg/mL, de hojas y semillas de *M. oleifera* puede considerarse una alternativa natural para el tratamiento de infecciones urinarias por *Pseudomonas aeruginosa*.

Palabras clave: Sensibilidad antibacteriana, *Pseudomonas aeruginosa*, *Moringa oleifera*.

ABSTRACT

Nowadays, the bacterial multiresistance to the antibiotics of common use, is becoming more frequent, therefore the interest for the antimicrobial properties of the plants has increased, being used as a therapeutic alternative for the sanitation of infectious diseases. The aim of this work is to evaluate the *in vitro* antibacterial sensitivity of strains of *Pseudomonas aeruginosa* of urinary origin and strain ATCC 9027, against aqueous extracts of leaves and seeds of *Moringa oleifera*. The aqueous extracts were obtained by cooking at 50 °C for 30 min, 25 g of leaves and seed crushed in 50 mL of distilled water. To demonstrate the inhibitory effect, the diffusion technique was used in plates of nutritive agar, incubated at 37 °C for 24 hours. The obtained results show greater effect in the foliar extract showed inhibition between 8 and 9 mm, while with seeds of 10 and 12 mm. ATCC strain 9027 resulted in inhibition halos of 8 mm with leaf extract and 10 mm with seed extract. It is concluded that aqueous extracts 50 mg/mL, leaves and seeds of *M. oleifera* can be considered a natural alternative for the treatment of urinary infections by *Pseudomonas aeruginosa*.

Keyword: Antibacterial sensitivity, *Pseudomonas aeruginosa*, *Moringa oleifera*.

INTRODUCCION

La creciente diseminación de la resistencia bacteriana ha generado un incremento en la mortalidad, la morbilidad, y en los costos generados (Livermore, 2003:20), por la atención médica de pacientes que padecen infecciones, sobre todo de tipo hospitalario, causadas por bacterias gram negativas multiresistentes a fármacos como es el caso de *Pseudomonas aeruginosa* –MR (Martínez y Calvo, 2010; Woodford *et al.*, 2011; Ho *et al.*, 2010). La Organización Mundial de la Salud ha declarado la resistencia bacteriana, como un problema de Salud Pública en las naciones (OMS, 1998).

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista, responsable de una amplia gama de infecciones, principalmente nosocomiales (Berthelot *et al.*, 2005:466). Resulta resistente a diversas clases de antibióticos (Abadie *et al.*, 2014) por la producción de enzimas que inactivan dichos agentes antibacterianos y por las mutaciones que sufren (Strateva y Yordanov, 2009; Mesaros *et al.*, 2007; Livermore, 2002).

El uso de plantas para mejorar la salud humana ha evolucionado independientemente en diferentes partes del mundo (Schmidt *et al.*, 2008:2), tomando en cuenta que son agentes antimicrobianos utilizados en la terapéutica de las enfermedades infecciosas (Sarasti, 2018; Clemente y Pérez, 2017). Diferentes partes de la planta presentan varios usos tanto medicinales por sus compuestos antimicrobianos, como nutricionales como fuente de proteínas, vitaminas y minerales (Anwar *et al.*, 2007). Como agente antimicrobiano, tiene preferencia en el medio ambiente agrario y ecológico, debido a que todas las partes de la planta son aprovechadas (Akinyeye *et al.*, 2014; Godino *et al.*, 2013).

Estudios bacteriológicos han demostrado dicha actividad antimicrobiana de los extractos de semillas de moringa, que resultan efectivos contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, del mismo modo que lo hacen con los coloides del agua. Su acción inhibitoria consiste en la disrupción de la membrana celular por inhibición de enzimas esenciales (Pérez *et al.*, 2015; Suárez *et al.*, 2003; Martín *et al.*, 2013).

Extractos acuosos tanto de hojas como semillas, se utilizan como alternativa natural en la cura de enfermedades producidas por bacterias patógena como son *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Shigella shinga* y *P. aeruginosa*, así

como contra levaduras, hongos y helmintos (Pérez *et al.*, 2015; Dalei *et al.*, 2016). El efecto antimicrobiano es debido a importantes niveles de compuestos bioactivos, principalmente fenólicos, ácido ascórbico y carotenoides, los cuales presentan propiedades anticancerígena, hipotensiva y antibacteriana (Fahey, 2005), así como ayuda para combatir enfermedades estomacales, asociadas a parásitos (Barojas, 2016), hematológicas y hepato-renales (Alfonso y Méndez, 2018; Sarasti, 2018; Kumar *et al.*, 2010).

Dada la importancia de buscar nuevas alternativas de tratamiento de infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, se plantea como objetivo del presente estudio, evaluar la sensibilidad antibacteriana in vitro de dicha bacteria patógena, aisladas de infecciones urinarias, frente a extractos acuosos de hojas y semillas de *Moringa oleifera*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas de *Pseudomonas aeruginosa*: Se utilizaron dos cepas puras (S1 y S2) confirmadas su identificación (MacFaddin, 2000), procedentes de casos clínicos de infecciones urinarias y obtenidas de un laboratorio clínico de la ciudad de Maracaibo, estado Zulia. Como control positivo se utilizó *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 sensible a antibióticos.

Muestras de hojas y semillas de *Moringa oleifera*: Se colectaron manualmente hojas frescas y semillas fisiológicamente maduras (Parekh y Chanda, 2007; Márquez *et al.*, 2007) en buen estado, en bolsas plásticas limpias tipo Ziploc con cierre hermético, de tres plantas ubicada en el sector Los Cortijos del Municipio San Francisco del Estado Zulia e identificada por el herbario de la Universidad del Zulia “Omar Zambrano” HERZU.

Extractos acuosos: Se prepararon extractos acuosos pesando 25 g de hojas y semillas (por separado) previamente lavadas con agua destilada y secadas con papel absorbente, y colocadas en dos Beaker (250mL de capacidad) con 50 mL de agua destilada cada uno. Las semillas fueron previamente trituradas en un mortero. Luego fueron sometidas a calentamiento (50°C durante 45 min) y se dejó reposar a temperatura ambiente para luego ser filtradas a través de un liencillo, con finalidad de eliminar restos de hojas y semillas; posteriormente se esterilizó el filtrado a través de membranas de acetato celulosa 0,22 µm (Millipore). Los extractos obtenidos representaron una concentración de 50 mg/mL (Pérez *et al.*, 2015).

Actividad Antibacteriana: Fue evaluada utilizando la técnica de difusión en placas, por el método de Kirby-Baüer (Bauer *et al.*, 1966) con agar Nutritivo (AN, Merck, Alemania). Placas (duplicado por cepa bacteriana) fueron inoculadas en forma de césped, a partir de un cultivo joven con una turbidez de 0,5 en la escala de McFarland equivalente a 1×10^8 ufc/mL (Abdallah, 2016) de las cepas *P. aeruginosa*, con la ayuda de un hisopo estéril. A cada placa con el agar solidificado, se le realizaron 3 perforaciones o pozos de 8 mm de diámetro, utilizando un sacabocado estéril N° 4. A estos pozos se les añadió con una micropipeta, 100 μ L del extracto acuoso de 50 mg/mL (Pérez *et al.*, 2015). Luego las placas fueron incubadas a 37°C por 24 horas. Se utilizó como control positivo una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 sensible, así como controles negativos de placas sin inocular con extracto

acuoso foliar o de semillas (100 μ L) de moringa. Los diámetros de los halos de inhibición producidos por los dos tipos de extractos acuosos fueron comparados con un estándar de solución del antibiótico Ciprofloxacina (50mg/mL) y agua estéril. Las zonas de inhibición fueron medidas en milímetros (mm) y se obtuvo seis medidas de halos de inhibición por cepa bacteriana.

RESULTADOS

En la Tabla 1, se observan los resultados de los valores promedios de halos de inhibición (mm) de las cepas de *P. aeruginosa*, provenientes de aislados de infecciones urinarias, por efecto de los extractos acuosos de hojas y semillas de *Moringa oleifera*. Los extractos de semillas mostraron tener mayor efecto inhibitorio que la de hojas, encontrán-

Tabla 1. Valores promedios de halos de inhibición (mm) de extractos acuosos de hojas y semillas de *Moringa oleifera* sobre *Pseudomonas aeruginosa*.

ZONAS DE INHIBICIÓN (MM)			
Extracto acuoso	S1	S2	<i>P. aeruginosa</i> ATCC (9027)
Hojas	9	8	9
Semillas	10	12	10

Fuente: Elaboración propia. (2018)

Tabla 2. Valores promedios de halos de inhibición de los controles.

ZONAS DE INHIBICIÓN (MM)			
Control (antibiótico)	S1	S2	<i>P. aeruginosa</i> ATCC (9027)
Ciprofloxacina	5	6	10

Fuente: Elaboración propia. (2018).

dose valores de 10 mm - 12 mm y 8 mm - 9 mm, respectivamente. La cepa ATCC 9027 también fue afectada en su crecimiento por ambos tipos de extractos.

En la Tabla 2 se presenta los resultados del efecto inhibitorio del antibiótico Ciprofloxacina que se utiliza para el tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa* a la misma concentración que se pre-

paró los extractos de hojas y semillas de *Moringa oleifera*, donde se obtuvieron valores menores de halos de inhibición de las cepas en estudio, mientras que la cepa ATCC si mostró valores de halos similares con los dos tipos de extractos ensayados.

DISCUSIÓN

Los valores de halos inhibición encontrados, evidencia que extractos acuosos de partes de la planta de *Moringa oleifera* presentan efecto inhibitorio, sobre el crecimiento de la bacteria patógena *P. aeruginosa*, así como contra la cepa ATCC 9027 y que a su vez, resultan ser más sensibles a productos naturales que un antibiótico utilizado para su control en humanos, como la ciprofloxacina.

Diversos autores en todo el mundo han confirmado la actividad antibacteriana de extractos de *Moringa oleifera* donde algunos trabajos indican que extractos acuosos son efectivos para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas Gram negativas y Gram positivas (Grosvenor *et al.*, 1995; Awadh *et al.*, 2001; Onsare *et al.*, 2013).

Estudios *in vitro* han comprobado la actividad de diferentes partes de la planta sobre los microorganismos patógenos. La inhibición del crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* por extractos acuosos de las hojas fue demostrada por científicos guatemaltecos (Cáceres *et al.*, 1991:9).

Oliveira *et al.* (2011) indican que la cepa de *P. aeruginosa* (ATCC27853) resultó resistente al tratamiento con extracto acuoso de hojas de moringa. Rahman *et al.* (2009) encontraron actividad antibacteriana del extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleifera*, *in vitro* utilizando el método de disco de difusión en agar contra bacterias patógenas humanas Gram negativas y Gram positivas, resaltándose que *Pseudomonas aeruginosa* mostró halos de inhibición de 15,00 mm, mayores a los encontrados en el presente estudio.

Saadabi y Abu Zaid (2011) encontraron actividad inhibitoria de extractos acuosos de *Moringa oleifera* con valores también mayores, entre 20 y 25 mm contra *P. aeruginosa*. Halos mayores de 10,5 mm y 18,5 mm a concentraciones de 520 mg/mL y 1040 mg/mL, respectivamente, fueron reportados por Akinyeye *et al.* (2012) utilizando la misma especie bacteriana patógena. Abdallah (2016) en su trabajo realizado en Sudan reveló halos de inhibición del crecimiento de 9,6 mm que lograron afectar a la cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853, utilizando extractos acuosos de las hojas de *Moringa oleifera* a una concentración de 200mg/mL, que evidencia similitud con los obtenidos en la presente investigación.

Estudios bacteriológicos demostraron la actividad antimicrobiana de los extractos de semillas de

moringa, los cuales floculan bacterias Gram positivas y Gram negativas del mismo modo que lo hacen con los coloides del agua (Clemente y Pérez, 2017:10). Resultados sobre la actividad inhibitorio de extractos de semillas son reportados por Padla *et al.* (2012), quienes manifestaron la resistencia de *P. aeruginosa* frente al extracto de isocianato de la semilla fresca de *Moringa oleifera* a una concentración de 10 mg/mL. Por su parte, Oluduro *et al.* (2010) reafirman que semillas de dicha planta, mostraron una actividad bactericida (100%) contra algunas cepas patógenas de *P. aeruginosa* así como contra especies patógenas gram negativas como *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Shigella dysenteriae* así como gram positivas como *Streptococcus faecalis*. Onsare *et al.* (2013) encontraron sensibilidad de dicha bacteria gram negativa a extractos de semillas de la misma planta, resultando con valores de halos de inhibición entre 15,00 y 32,3 mm, valores mayores a los encontrados en el presente estudio.

En las infecciones de tracto urinario, *P. aeruginosa* es uno de los agentes etiológicos frecuentemente encontrados (Andreu *et al.*, 2005; Cornejo *et al.*, 2007), además, la mortalidad y morbilidad asociadas a la presencia de ésta bacteria, permanece significativamente alta (Mittal *et al.*, 2009). En particular, la infección ocurre por la colonización de la orina dentro del lumen del catéter y eventualmente entre el espacio entre la uretra y la superficie del catéter en tratamiento con diálisis (Kunin, 2001). En Venezuela un análisis en cepas aisladas de pacientes hospitalizados y comunitarios evidenció un 100% de resistencia a imipenem y meropenem (Salazar *et al.*, 2010).

Pseudomonas aeruginosa se presenta como una bacteria excepcional; la amplia variedad de factores de virulencia, la amplitud de infecciones que ocasiona y sus mecanismos múltiples de resistencia a los antibióticos la destacan entre los microorganismos patógenos para el hombre (Luján, 2014).

La planta comúnmente llamada moringa, puede ser una alternativa natural en la cura de enfermedades producidas por ésta bacteria patógena, así como otras especie (Pérez *et al.*, 2015; Dalei *et al.* (2016). *Moringa oleifera* presentan metabolitos secundarios con propiedades farmacológicas que muestran tener actividades antimicrobianas (Doménech *et al.*, 2017).

Varios trabajos sobre la comprobación de los

efectos tóxicos diferentes partes del árbol o sus extractos, con animales de laboratorio y cultivos celulares, ha revelado seguridad alimentaria respecto al consumo o tratamiento (Stohs y Hartman, 2015). Por otro lado, se ha incrementado las investigaciones con la planta *Moringa oleifera*, con el objeto de estandarizar y caracterizarla, dada la necesidad de utilizarla en la medicina herbaria basada por supuesto, en evidencias científicas (Kumar *et al.*, 2015). Fahey (2005) indicó que dicha planta representa un alimento libre de tóxicos y que carece de efectos secundarios.

CONCLUSIONES

Extractos acuosos de hojas y semillas de *Moringa oleifera* de la región zuliana presentan efecto inhibitorio sobre cepas patógenas de *Pseudomonas aeruginosa*, proveniente de infecciones urinarias.

Los resultados demuestran que extractos de *Moringa oleifera* podría potencialmente servir como una alternativa natural de tratamiento de patógenos con alta multiresistencia y que bien podría a futuro tener aplicaciones en la Industria farmacéutica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abadie, R., Medina, R., Ruiz, L., Tresierra-Ayala, A. (2014). Actividad antibacteriana de los extractos vegetales frente a cepas intrahospitalarias, Iquitos-Perú. *Rev ECIPerú* 11 (1), 31-38.
- Abdallah, E. (2016). Antibacterial properties of leaf extracts of *Moringa oleifera* Lam. growing in Sudan. *J Adv Med Pharm Sci* 5(1), 1-5.
- Andreu, A., Alós, J., Gobernado, M., Marco, F., De la Rosa, M., García-Rodríguez, J. (2005). Etiología y sensibilidad a los antimicrobianos de los uropatógenos causantes de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad. Estudio nacional multicéntrico. *Enf. Infec. Microbio. I Clin.* 23 (1), 4-9.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A.H. (2007). *Moringa oleifera*: una planta de alimentos con múltiples usos medicinales. *Phytother Res* 21,17-25.
- Akinyeye, A., Solanke, E., Adebisi, L. (2014). Phytochemical and antimicrobial evaluation of leaf and seed of *Moringa oleifera* extracts. *Int J Res Med Health Sci* 4(6), 1-10.
- Alfonso A., Méndez R. (2018). Galleta de harina de *Moringa (Oleifera lam)* y Amaranto (*Amaranthus caudatus*). Tesis Profesional. Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, 65p.
- Awadh Ali, N.A., Jülich, W.D., Kusnick, C., Lindequist, U. (2001). Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities. *J Ethnopharmacol* 74(2), 173-179.
- Barojas, L. (2016). Estudiantes y cuerpo académico de la Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos (Unida) del Instituto Tecnológico de Veracruz emprendieron un proyecto encaminando a estudiar los compuestos bioactivos de la hoja de moringa (*Moringa oleifera*). Recuperado de: <http://www.conacytprensa.mx/index.php/tecnologia/biotecnologia/9384-cientificos-de-la-unidad-investigacion-propiedades-de-la-moringa>.
- Bauer, A., Kirby, A., Sherris, J., Turk, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 45, 493-96.
- Berthelot, P., Grattard, F., Mallaval, F.O., Ros, A., Lucht, F., Pozzetto, B. (2005). Épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathol Biol* 53 (6), 341-348.
- Caceres, A., Cebreira, O., Morales, O., Mollinedo, P., Mendia, P. (1991). Pharmacological properties of *M. oleifera*. 1: Preliminary screening for antimicrobial activity. *J Ethnopharm* 33 (3), 213-216.
- Clemente, K. y Pérez, R. (2017). Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de *M. oleifera* en bacterias patógenas. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, 65p.
- Cornejo-Juárez, P., Velásquez-Acosta, C., Sandoval, S., Gordillo, P., Volkow-Fernández, P. (2007). Patrones de resistencia bacteriana en urocultivos en un hospital oncológico. *Salud Publ Mex* 49 (5), 330-336.
- Dalei, J., Madhav, V., Debasish, S., Rukimini, M., Ray, R. (2016). Review on nutritional and pharmacological potencie of *Moringa oleifera*. *Eur J Pharm Med Res* 3 (1), 150-55.

- Doménech, G., Durango, A., Ros, G. (2017). *Moringa oleifera*: Revisión sobre aplicaciones y usos en alimentos. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 67(2), 86-97.
- Fahey, J.W. (2005) *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic and prophylactic properties. Part 1. Trees Life J 1, 5-15.
- Godino, M., Vázquez, T., Izquierdo, M., Pérez, C. (2013). Estudio de la incidencia de los factores ecológicos abióticos (temperatura y humedad) en la germinación y desarrollo de la *Moringa oleifera* Lam. Memorias del VI Congreso Forestal Español, 6CFE01-523. p.p. 2-13.
- Grosvenor, P.W., Supriono, A., Gray, D.O. (1995). Medicinal plants from Riau Province, Sumatra, Indonesia. Part 2: antibacterial and antifungal activity. J Ethnopharmacol 45 (2), 97-111.
- Ho, J., Tambyah, P.A., Paterson, D.L. (2010). Multiresistant Gram-negative infections: A global perspective. Curr Opin Infect Dis 23, 546-553.
- Kumar, P.S., Mishra, D., Ghosh, G., Panda, Ch. (2010). Medicinal uses and pharmacological properties of *Moringa oleifera*. Int J Phytomedicine 2, 210-126.
- Kumar, V., Kumar, A., Sharma, M., Singh, J. (2015). Herbs in dental health care. J Sci 5(8), 646-652.
- Kunin, C.M. (2001). Nosocomial urinary tract infections and the indwelling catheter: what is new and what is true? Chest 120(1), 10-12.
- Livermore, D.M. (2003). Bacterial resistance: Origins, epidemiology, and impact. Clin Infect Dis 15(36 S1), 11-23.
- Livermore, D.M. (2002). Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our worst nightmare? Clin Infect Dis 34 (5), 634-640.
- Luján, D. (2014). *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. Acta Bioquim Clin Latinoam 48(4), 465-474.
- MacFaddin, J. (2000). Biochemical test for identification of medical bacteria. Chaper 19. Third Edition. United State of America. Editorial Lawrence. McGraw, p. 254-272.
- Márquez, R., Torres, C., Mercado, A. (2007). Actividad antifúngica del extracto total en etanol de la hojas frescas de *Pedilanthus tithymaloides* L Poit (ultimorrial). Sci Tech 13 (33), 155-159.
- Martin, C., Martin, G., García, A., Fernández, T., Hernández, G., Puls, J. (2013). Potential applications of *Moringa oleifera*. Pastos Forraj 36(2), 150-158.
- Martínez, L. y Calvo, J. (2010). The growing problem of antibiotic resistance in Clinically relevant Gram-negative bacteria: Current situation. Enferm Infecc Microbiol Clin 28 (Suppl 2), 25-31.
- Mesaros, N., Nordmann, P., Plésiat, P., Roussel-Delvallez, M., Van Eldere, J., Glupczynski, Y., Van Laethem, Y., Jacobs, F., Lebecque, P., Malfroot, A., Tulkens, P.M., Van Bambeke, F. (2007). *Pseudomonas aeruginosa*: résistance et options thérapeutiques à l'aube du deuxième millénaire. Antibiotiques 9 (3), 189-198.
- Mittal, R., Aggarwal, S., Sharma, S., Chhibber, S., Harjai, K. (2009). Urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*: A minireview. J Infect Public Health 2 (3), 101-111.
- Oliveira, J.R., Silva, G.C., Costa, R., De Sousa, J.L., Fernandes, G.H., Fontales, A.A., Silva Dos F., R.H. (2011). In vitro antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. Assian Pacif J Trop Med XX, 201-204.
- Oluduro, O., Aderiye, B., Conolly, J., Akintayo, E., Famurewa, O. (2010). Characterization and Antimicrobial Activity of 4-(D-Glucopyranosyl-14--L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl thiocarboxamide; a Novel Bioactive Compound from *Moringa oleifera* seed extract. Folia Microbiol 55 (5), 422-426.
- Onsare, J.G., Kaur, H. Arora, D.S. (2013). Antimicrobial activity of *Moringa oleifera* from different locations against some human pathogens. Acad J Med Plants 1(5), 080-091.
- Padla, E., Solis, L., Levida, R., Shan, C., Ragasa, C. (2012). Antimicrobial Isothiocyanate from the seeds of *Moringa oleifera* Lam. Naturforsch 67, 557-564.
- Parekh, J. y Chanda, A. (2007). In vitro Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Some Indian Medicinal Plants. Turk J Biol 31, 53-58.

- Pérez, M., Cabrera, L., Colina, G. (2015). Actividad antibacteriana in vitro de extractos acuoso de *Moringa oleifera* sobre especies patógenas intrahospitalarias. Rev Redieluz 5(1 y 2), 141-145.
- Rahman, M., Islam, M., Akhtar, Sh., Rhaman, M., Alam, M. (2009). Antibacterial activity of leaf juice and extracts of *Moringa oleifera* Lam. (2n=28) against some human pathogenic bacteria. CMU J Nat Sci 8(2), 219-227.
- Salazar, P., Araque, M., Mosqueda, N. (2010). Análisis fenotípico y detección del gen *bla*VIM en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* productoras de metalo- β -lactamasas aisladas en Mérida, Venezuela. Rev Fac Farm 52 (1), 12-17.
- Saadabi, A. y Abu Zaid, I. (2011). An in vitro antimicrobial activity of *Moringa oleifera* L. seed extracts against different groups of microorganisms. Aust J Basic Appl Sci 5 (5), 129-134.
- Sarasti, M. (2018). Evaluación de la actividad antimicrobiana mediante la extracción de la fracción activa presente en las hojas de la especie vegetal *Moringa oleifera* frente a microorganismos patógenos. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas. Química Farmacéutica. 84p.
- Schmidt, B., Ribnicky, D., Poulev, A., Logendra, S., Cefalu, W., Raskin, I. (2008). A natural history of botanical therapeutics. Metabolis 57(Suppl.1), 3-9.
- Stohs, S.H. y Hartman, M.J. (2015). Review of safety and efficacy of *Moringa oleifera*. Phytother Res 29(6), 796-804.
- Strateva, T. y Yordanov, D. (2009). *Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance. J Med Microbiol 58 (9), 1133-1148.
- Suárez, M., Entenza, J.M., Doerries, C. (2003). Expression of a plant-derived peptide harboring water-cleaning and antimicrobial activities. Biotechnol Bioeng 81(1), 13-20.
- Woodford, N., Turton, J.F., Livermore, D.M. (2011). Multiresistant Gram-negative bacteria: The role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. FEMS Microbiol Rev 35, 736-755.
- OMS (1998). World Health Organization. Emerging and other communicable diseases: Antimicrobial resistance. Geneva.