Evaluación antimicrobiana y coagulante de extractos de cinco vegetales de interés etnobotánico

Antimicrobial and coagulating evaluation of extracts of five vegetables of ethnobotanical interest

Sonia López-Villarreal¹, D Abelardo Chávez-Montes², D Catalina Leos-Rivas³, Osvelia Rodríguez-Luis⁴, Rocío Castro-Ríos⁵, Raymundo Pérez-Hernández⁶

DOI: 10.19136/hs.a21n3.5001

Artículo Original

• Fecha de recibido: 23 de febrero de 2022 • Fecha de aceptado: 7 de marzo de 2022 • Publicado en línea: 31 de agosto de 2022

Autor de Correspondencia

Sonia López Villarreal. Dirección postal: E. Aguirre Pequeño y Silao s/n Col. Mitras, Monterrey Nuevo León, México. CP 64460.

Correo electrónico: sonia.lopezvl@uanl.edu.mx

Resumen

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos de *Mimosa tenuiflora*, *Equisetum arvense*, *Syzygium aromaticum*, *Lippia graveolens y Aloe vera* contra cepas bacterianas de *S. mutans* (ATCC700611) y *S. sobrinus* (ATCC33478) comparado con clorhexidina a 1200 µg/mL (0.12%) y la actividad coagulante en sangre humana.

Materiales y métodos: Estudio comparativo, abierto, experimental, prospectivo y transversal *in vitro*. Se realizaron diluciones a 500 y 1000 μg/mL de cinco extractos y se probaron por triplicado contra microorganismos orales por medio de técnica de pozo en agar y en la evaluación de la actividad coagulante se probaron los cinco extractos por triplicado en sangre humana evaluando TP (tiempo de protrombina) y TTPa (tiempo de tromboplastina parcial activado) mediante coagulómetro. Resultados: El extracto de *Lippia graveolens* a 500 y 1000 μg/mL mostró un promedio de halos de inhibición sobre *S. mutans* de 26mm con respecto a clorhexidina a 1200 μg/mL que mostró un promedio de 15mm. Contra cepas de *S. sobrinus* mostraron un promedio de 19mm a 500 μg/mL y 23mm a 1000 μg/mL con respecto a 15mm de clorhexidina. El valor de TP (tiempo de protrombina) de la muestra de sangre fue 12.27 segundos, al aplicarle *E. arvense* y *S. aromaticum* ambos a 1000 μg/mL presentaron tiempos de 13.37 segundos. En cuanto al tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) el valor de la muestra sin extracto fue 32.63 segundos, al aplicar *M. tenuiflora* a 500 μg/mL se aumentó el tiempo a 39.17 segundos.

Conclusiones: Se concluye que *Lippia graveolens* tiene mejor efecto antibacteriano contra micrrorganismos orales y *M. tenuiflora* fue el extracto que aumentó por más tiempo el valor de TTPa.

Palabras clave: Evaluación; Antibacteriana; Coagulante; Extractos

Abstract

Objective: To evaluate the antimicrobial and coagulating activity from five vegetables of ethnobotanical interest extracts (Mimosa tenuiflora, Equisetum arvense, Syzygium aromaticum, Lippia graveolens and Aloe vera). Materials and methods: It was a Comparative, open, experimental, prospective and cross-sectional study through antimicrobial evaluation of the five extracts against bacterial strains of S. mutans (ATCC700611) and S. sobrinus (ATCC33478) by means of agar well technique and an evaluation of coagulating activity by measuring TP (prothrombin time) and APTT (activated partial thromboplastin time) using a coagulometer and comparing the results with those of a healthy patient. Results: It was found that the antimicrobial activity of the extracts on S. mutans at 500 and 1000ppm is statistically significant in the extracts of E. arvense and L. graveolens (p= 0.0057) and (p= 0.0000) respectively and on strains of S. sobrinus from the extracts of A. vera (p= 0.0011) and L. graveolens (p= 0.0089) in both concentrations, which show an antimicrobial effect superior to chlorhexidine. The PT patient's (prothrombin time) value was 12.27 seconds, no statistical difference was observed with a value of (p<0.05), however, E. arvense and S. aromaticum, both at 1000ppm, presented times of 13.37 seconds and at the activated partial thromboplastin time (PTPA) the value of the patient was 32.63 seconds, highlighting M. tenuiflora at 500 ppm, which presented times of 39.17 seconds. Conclusions: The extracts described above contain chemical compounds that are valuable alternatives against microorganisms and oral treatments, and it is also very important that research suggests materials and medications that are effective in the treatment of patients and that do not represent a health risk.

Keywords: Evaluation; Antimicrobial; Coagulant; Extracts

L Doctor en Ciencias, Maestría en Ciencias en el área de Odontopediatría, Profesor Investigador, Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León.

² Doctor en Ciencias, Profesor Investigador, Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León.

^{3.} Doctor en Ciencias, Profesor Investigador, Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León.

⁴ Doctor en Ciencias, Profesor Investigador, Departamento de Microbiología, Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León.

⁵ Doctor en Ciencias, Profesor Investigador, Departamento de Investigación, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León.

^{6.} Doctor en Ciencias, Profesor Investigador, Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León.

Introducción

La medicina herbolaria se refiere al uso de extractos de plantas medicinales o sus derivados con fines terapéuticos para la prevención y tratamiento de diversas enfermedades a través de su empleo. El hombre desde el principio de los tiempos, ha hecho lo posible por atenuar sus enfermedades y mejorar su calidad de vida y la medicina herbolaria ha jugado un papel muy importante en esto¹. La medicina herbolaria en odontología ha estado presente a través de la historia y es un recurso accesible para gran parte de la población². Las plantas y los productos naturales han sido empleados por muchos años, algunas veces con resultados terapéuticos favorables, pero también en ocasiones resultados poco esperados, por eso es importante realizar pruebas que permitan evaluar sus propiedades3. Aproximadamente la mitad de los productos farmacéuticos a base de plantas que se fabrican en los Estados Unidos son indicados para su uso como antimicrobianos. Existen aproximadamente entre 250,000 y 500,000 especies de plantas en el mundo, pero sólo entre el 1 al 10% de ellas, son usadas como comida tanto por humanos como por animales. Las plantas contienen químicos como los fenoles, terpenoides, quinonas y taninos que son metabolitos que pueden ser efectivos contra virus, bacterias y hongos⁴. El Tepezcohuite (Mimosa tenuiflora) fue descrita por Wild en 1810, también llamado árbol de la piel es una especie arbustiva localizada abundantemente en la región central de Chiapas e Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México; se le atribuyen cualidades de cicatrización de la piel por quemaduras de sol, exposición accidental al fuego, úlceras estomacales y uso en cosméticos. Se han fabricado productos artesanales e industrializados a partir de su corteza contra heridas y quemaduras de la piel que han sido muy populares desde los años ochenta⁵. Equisetum arvense o cola de caballo fue descrita por Carlos Linneo en 1753. Una de las propiedades que hacen única a esta planta es su alto contenido en sales de sílice, algunas de ellas hidrosolubles. Este mineral es indispensable en la formación de tejido conectivo, uñas y huesos, además se considera que acelera la regeneración del tejido conectivo dañado. El equiseto se encuentra distribuido por las zonas templadas del hemisferio septentrional y se han identificado dos quimiotipos, uno en Europa y otro en Asia y América del Norte que se pueden distinguir químicamente de flavonoides los cuales caracterizan a esta planta⁶. El clavo de olor o Syzygium aromaticum, también conocido como Eugenia caryophyllata fue descrito por L. Merr y L. M. Perry en 1929 y es una especia ampliamente usada y conocida, su aceite esencial y extractos han sido analizados y caracterizados debido a que han demostrado tener amplio espectro de acción contra una gran variedad de microorganismos que causan distintos padecimientos que afectan a los humanos, animales y plantas. El clavo de olor es una especia perteneciente a la familia Myrtaceae, la

cual se caracteriza por habitar en ambientes principalmente tropicales⁷. Otra especia de gran valor es el orégano que fue descrito por Kunth en 1818, es una planta herbácea arbustiva comúnmente utilizada con propósitos culinarios⁸. En el planeta existen diferentes especies conocidas como orégano y las de mayor importancia económica son orégano griego (Origanum migare), orégano español (Coridohymus capitatus), orégano turco (Origanum onites) y orégano mexicano (Lippia graveolens). Una planta de gran interés es el Aloe vera también llamada sábila, ya que posee muchos usos en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética; fue descrita por Carlos Linneo en 1753 y una de las partes más utilizadas de esta planta es el gel debido a sus propiedades funcionales, antioxidantes y terapéuuticas. El A. vera o sábila es una planta la cual presenta alrededor de 360 especies diferentes y pertenece a la familia de las asfodeláceas o liláceas, con hojas perennes en forma de roseta; su tamaño puede alcanzar desde unos cuantos centímetros hasta los 50 cm⁹. Para evaluar las propiedades de una planta, existen diferentes pruebas, algunas determinan la susceptibilidad de un microorganismo frente a éstas o a los fármacos y se realizan a partir de la exposición de una concentración estandarizada del germen a estos fármacos, éstas pruebas se denominan pruebas de sensibilidad, también llamadas antibiogramas. Pueden realizarse para bacterias, hongos o virus. El estudio de susceptibilidad in vitro a antimicrobianos de los microorganismos patógenos puede realizarse a través de diversos métodos, el de uso más común por los laboratorios de microbiología es el de difusión en agar estandarizado para microorganismos de crecimiento rápido. El método estandarizado y recomendado se basa en el descrito originalmente por Bauer, llamado también de sensibilidad en disco, que obtiene resultados cualitativos que se correlacionan bien con los resultados cuantitativos obtenidos mediante determinación de halos de inhibición¹⁰. En cuanto a la bacterias orales de interés odontológico tenemos dos que son las más importantes: el Streptococcus mutans, el cual es uno de los microorganismos cariogénicos asociados a la caries dental y es muy importante el estudio de su participación en la colonización de tejidos dentales, implantación e interacción con otros microrganismos para la comprensión de la dinámica de las biopelículas dentales¹¹; además el Streptococcus sobrinus que es una variedad de S. viridans y que vive en la flora de la boca humana. Tanto S. mutans como S. sobrinus deben considerarse igualmente virulentos con respecto a la caries dental¹². El objetivo de este estudio fue la evaluación antibacteriana y coagulante de los extractos de Mimosa tenuiflora (tepezcohuite), Equisetum arvense (cola de caballo), Syzygium aromaticum (clavo), Lippia graveolens (orégano) y Aloe vera (sábila).

Materiales y métodos

El estudio se realizó previa autorización del Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la UANL Folio 00152. El material vegetal fue obtenido de un lugar reconocido de venta. Una muestra del producto natural elegido fue depositado en el herbario de la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León para su identificación taxonómica correspondiente. M. Tenuiflora 26334, E. Arvense 26468, S. aromaticum 26467, L. graveolens 26469, y A. vera 26332. .Se prepararon extractos etanólicos y liofilizado de aloe vera¹³. Los extractos fueron colocados en frasco ámbar estéril a temperatura de 4ºC para su conservación y posteriormente se fabricaron las concentraciones de 500 y 1000 µg/mL con las diferentes plantas y en cada ensayo se respetó el siguiente orden metodológico M. Tenuiflora (1), E. Arvense (2), S. aromaticum (3), L. graveolens (4), y A. vera (5).

Actividad antibacteriana

Primeramente se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos contra los microorganismos orales. La evaluación de la actividad antibacteriana se realizó mediante prueba de técnica de pozo en agar^{14,15}. Se preparó inicialmente una suspensión de microorganismos a 0.05 de la escala de Mc Farland, lo cual representa 1x10⁶ UFC/mL y se evaluaron concentraciones de 500 y 1000 μg/mL de cada extracto. Se inocularon y sembraron 100μL de cada cepa sobre medio de cultivo Muller Hinton empleando la técnica de pozo en agar para probar si los extractos presentaban actividad antibacteriana. Se realizaron cinco pozos en el agar y se adicionaron 20μL de cada extracto a evaluar y como control positivo clorhexidina al 0.12% (1200 μg/mL). Las cajas fueron incubadas a 37°C durante 24 horas para evaluar posteriormente la actividad.

Actividad coagulante

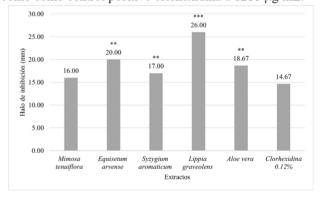
La actividad coagulante de los extractos de M. tenuiflora, E. arvense, S. aromaticum, L. graveolens y A. vera se analizó en el laboratorio certificado PROMEDIC midiendo mediante coagulómetro los tiempos TP (tiempo de protrombina) y TTPa (tiempo de tromboplastina parcial activado) de cada extracto aplicado a muestra de sangre humana y comparando con la sangre sin extracto (control) 16 . Los resultados se expresan en segundos y el instrumento marca exactamente el momento en el que se produce el coágulo, para todas las concentraciones se procede de la misma manera verificando por triplicado. Para el análisis estadístico se empleó el programa estadístico IBM SPSS (Statistical Program for Social Sciences) versión 26.0. Los datos se analizaron por medio de una prueba t de student con diferencia de medias con 95% de Intervalo de Confianza (IC) y un valor p < 0.05.

Resultados

Las siguientes figuras muestran la media de los halos de inhibición de los diferentes extractos en concentraciones de 500 y 1000 μg/mL contra *S. mutans* y *S. sobrinus* comparando con el control positivo que fue clorhexidina a 1200 μg/mL la cual se eligió por ser el antimicrobiano más utilizado odontología. Se consideró significación estadística una *p*<0.05.

La figura 1 muestra la actividad antibacteriana de los extractos de las plantas de *M. tenuiflora, E. arvense, S. aromaticum, L. graveolens* y *A. vera* sobre cepas de *S. mutans* a 500 μg/mL en donde se observa una diferencia estadística altamente significativa de los extractos de *E. arvense* y *L. graveolens* (p= 0.0057) y (p= 0.0000) respectivamente, los cuales mostraron un efecto antimicrobiano superior a clorhexidina.

Figura 1. Actividad antibacteriana de los extractos de las plantas de M. tenuiflora, E. arvense, S. aromaticum, L. graveolens, y A. vera sobre cepas de S. mutans. Concentración 500 μg/mL. Las barras representan el promedio del triplicado de tres ensayos totalmente independientes. Los datos representan las medias ± DE de los halos tomando como como control positivo clorhexidina a 1200 μg/mL.

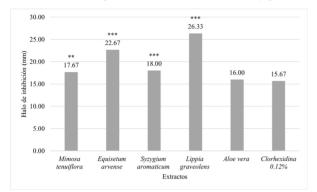


Fuente: Elaboración propia

La figura 2 muestra la actividad antibacteriana de los extractos de las plantas de *M. tenuiflora, E. arvense, S. aromaticum, L. graveolens* y *A. vera* sobre cepas de *S. mutans* a 1000 μg/mL en donde se observa una diferencia estadística altamente significativa de los extractos de *E. arvense* y *L. graveolens* (p= 0.0001) los cuales mostraron un efecto antimicrobiano superior a clorhexidina.

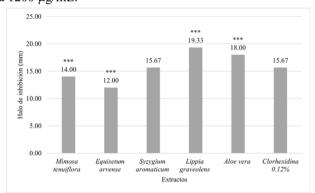
La figura 3 muestra la actividad antibacteriana de los extractos de las plantas de *M. tenuiflora*, *E. arvense*, *S. aromaticum*, *L. graveolens* y *A. vera* sobre cepas de *S. sobrinus* a 500 μg/mL en donde se observa una diferencia estadística altamente significativa de los extractos de *A. vera* (p= 0.0011) y *L. graveolens* (p= 0.0089), los cuales mostraron un efecto antimicrobiano superior a clorhexidina.

Figura 2. Actividad antibacteriana de los extractos de las plantas de M. tenuiflora, E. arvense, S. aromaticum, L. graveolens, yA. vera sobre cepas de S. mutans. Concentración 1000 µg/mL. Las barras representan el promedio del triplicado de tres ensayos totalmente independientes. Los datos representan las medias \pm DE de los halos tomando como como control positivo clorhexidina a 1200 µg/mL.



Fuente: Elaboración propia

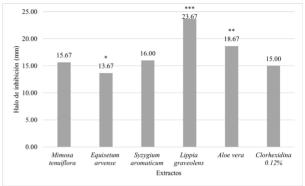
Figura 3. Actividad antibacteriana de los extractos de las plantas de *M. tenuiflora*, *E. arvense*, *S. aromaticum*, *L. graveolens*, *y A. vera* sobre cepas de *S. sobrinus*. Concentración 500 μ g/mL. Las barras representan el promedio del triplicado de tres ensayos totalmente independientes. Los datos representan las medias \pm DE de los halos tomando como como control positivo clorhexidina a 1200 μ g/mL.



Fuente: Elaboración propia

La figura 4 muestra la actividad antibacteriana de los extractos de las plantas de M. tenuiflora, E. arvense, S. aromaticum, L. graveolens y A. vera sobre cepas de S. sobrinus a 1000 $\mu g/mL$ en donde se observa una diferencia estadística altamente significativa de los extractos de A. vera (p= 0.0127) y L. graveolens (p= 0.0006), los cuales mostraron un efecto antimicrobiano superior a clorhexidina.

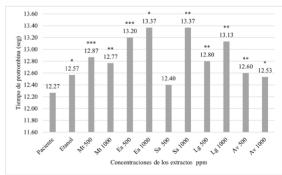
Figura 4. Actividad antibacteriana de los extractos de las plantas de *M. tenuiflora*, *E. arvense*, *S. aromaticum*, *L. graveolens*, *y A. vera* sobre cepas de *S. sobrinus*. Concentración 1000 μg/mL. Las barras representan el promedio del triplicado de tres ensayos totalmente independientes. Los datos representan las medias \pm DE de los halos tomando como como control positivo clorhexidina a 1200 μg/mL.



Fuente: Elaboración propia

En cuanto a los resultados de las pruebas de coagulación la figura 5 muestra la evaluación *in vitro* del tiempo de protrombina (TP) de los extractos de *M. tenuiflora, E. arvense, A. vera, S. aromaticum y L.* graveolens en concentraciones de 1000 y 500 μg/mL. Observamos que el valor de TP al medir en el coagulómetro la sangre sin extracto es 12.27 segundos mientras que *E. arvense* y *S. aromaticum* ambos a 1000 μg/mL presentaron tiempos de 13.37 segundos.

Figura 5. Evaluación *in vitro* del tiempo de protrombina (TP) de los extractos de *M. tenuiflora* (*Mt*), *E. arvense* (*Ea*), *A. vera* (*Av*), *S. aromaticum* (*Sa*) y *L. graveolens* (*Lg*) a 500 y 1000 μg/mL. Los datos representan las medias en segundos tomando como control positivo una muestra de sangre humana.

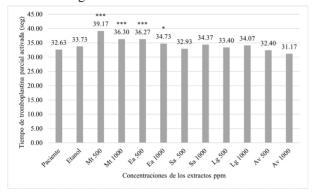


Fuente: Elaboración propia

La figura 6 muestra la evaluación *in vitro* del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) de los extractos de *M. tenuiflora, E. arvense, A. vera, S. aromaticum y L. graveolens.* Los datos representan las medias en segundos

tomando como control positivo la muestra de sangre sin extracto observando que el valor es de 32.63 segundos (p<0.05) sin embargo, *M. tenuiflora* a 500 μg/mL aumentó los tiempos a 39.17 segundos.

Figura 6. Evaluación *in vitro* del tiempo de tromboplastina parcial activada (TPPa) de los extractos de *M. tenuiflora* (*Mt*), *E. arvense* (*Ea*), *A. vera* (*Av*), *S. aromaticum* (*Sa*) y *L. graveolens* (*Lg*) a 500 y 1000 μg/mL. Los datos representan las medias en segundos tomando como control positivo una muestra de sangre humana.



Fuente: Elaboración propia

Discusión

Los extractos de E. arvense y L. graveolens presentaron mejor efecto contra S. mutans y S. sobrinus en concentraciones de 1000 µg/mL, además L. graveolens mantuvo su efecto a 500 µg/mL (p=0.0001). Erazo et al. (2017) mencionan actividad antibacteriana en los extractos de S. aromaticum y L. graveolens sin encontrar diferencias significativas (p> 0,05) en comparación con clorhexidina a 1200 μg/ mL tanto a la 24 como 48 horas¹⁵. Schovelin et al. (2018) hablan del efecto antibacteriano de L. graveolens sobre el crecimiento de Streptococcus mutans en infusiones sobre el 20% de concentración¹⁷. En este estudio obtuvimos efecto inhibitorio contra S. mutans y S. sobrinus a las 24 horas similar o superior al obtenido con clorhexidina al 0.12% (1200 µg/mL) con una diferencia estadística altamente significativa en las diferentes concentraciones. Con respecto a la evaluación de la actividad coagulante el estudio de Nayal et al. (2015) mostró resultados con algunas plantas. Los resultados de la determinación del TP muestran que Alchemilla vulgaris, Equisetum arvense y Potentilla erecta disminuyeron el TP en diferentes porcentajes pero sin significancia estadística p>0,05. Los resultados de la determinación de TTPa mostraron que *Plantago lanceolata*, Alchemilla vulgaris, Artemisia absinthium y Potentilla erecta aumentaron el TTPa en comparación con el control sin significación estadística p>0,05. Solo Equisetum arvense disminuyó el tiempo en comparación con el control pero sin significancia estadística p>0.0518. En este estudio se

determinó que ninguno de los extractos prolongó de manera estadística significativa los tiempos de TP excepto *E. arvense* a 1000 μg/mL (P= 0.0415) *y S. aromaticum* a 1000 μg/mL (P= 0.048) (p<0,05), los cuales lo elevaron por un segundo pues presentaron ambos tiempos de 13.37 seg. En cuanto al valor de TPPa se observó que *M. tenuiflora* a 500 μg/mL con un valor (P=0.0001) (p<0,05) aumentó los tiempos por 6 segundos a 39.17 segundos.

Conclusiones

E. arvense y L. graveolens son los extractos que muestran el mejor efecto antibacteriano en los resultados sobre cepas de S. mutans en ambas concentraciones. L. graveolens y A. vera muestran el mejor efecto antibacteriano en los resultados sobre cepas de S. sobrinus en ambas concentraciones. En el ensayo de coagulación observamos que el valor de TP del control fue 12.27 segundos, los extractos que aumentaron los tiempos fueron E. arvense y S. aromaticum a 1000 μg/mL que presentaron tiempos de 13.37 segundos. En cuanto al valor TPPa el control fue de 32.63 seg y el extracto que presentó el tiempo más aumentado fue M. tenuiflora a 500 μg/mL que presentó tiempos de 39.17 segundos. Se sugiere plantear estudios y evaluaciones posteriores para considerar su efectividad en tratamientos orales.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en el presente trabajo.

Contribución de los autores

Conceptualización y diseño, S.L.V., A.Ch.M., O.R.L.; Metodología, S.L.V., A.Ch.M., O.R.L., R.C.R.; Adquisición de datos y Software, S.L.V., C.L.R.; Análisis e interpretación de datos, S.L.V., A.Ch.M., R.C.R., O.R.L.; Investigador Principal, S.L.V.; Investigación, S.L.V., A.Ch.M., R.P.H; Redacción del manuscrito, S.L.V; Preparación del borrador original, S.L.V., A.Ch.M., R.C.R; Revisión y edición del manuscrito, S.L.V., A.Ch.M., O.R.L., R.C.R., C.L.R., R.P.H.; Visualización, S.L.V., A.Ch.M., R.C.R., O.R.L.; Supervisión, S.L.V., A.Ch.M.; Adquisición de fondos, S.L.V., A.Ch.M.

Referencias

- 1. Lima LY, Guzmán GV, López LY, Satchwell R. La medicina tradicional herbolaria en los sistemas de salud convencionales. Rev Hum Med. 2019;19(1):201-2017.
- 2. Porwal O, Kala D. A Review on medicinal plants in dentistry, Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2021;11(6):332-340. http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v11i6.5128

- 3. Delgado AJ, Castillo U, Báez JG, Chávez A, López SM, Rodríguez OE. Evaluation of the Essential Oil of *Citrus paradisi* as an Alternative Treatment against *Candida albicans*. Open Journal of Stomatology. 2020;10, 258-270. https://doi.org/10.4236/ojst.2020.109025
- 4. Jaramillo MT, Ocampo DM, Cruz BD, Galvis JH. Actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos de diferente polaridad de Anacardium occidentale. Rev Cubana Plant Med. 2019;24(2):1-18.
- 5. Cadena P. Tepezcohuite (*Mimosa tenuiflora* (L) Willd) el árbol de la piel. Agro Productividad. 2018;7(6).
- 6. León B. La cola de caballo (*Equisetum, Equisetaceae*) comercializada y exportada del Perú. Rev. peru. biol.2012;19(3):345-346.
- 7. Singh J, Baghotia A, Goel SP. *Eugenia caryophyllata* Thunberg (Family *Myrtaceae*): A Review. Internation al Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences. 2012;3(4):1469-1475.
- 8. Carhuallanqui A, Salazar ME, Ramos D. Antimicrobial effect of the essential oil of Oregano against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. Rev. Investig. Altoandin. 2020;22(1):25-33. http://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.530
- 9. Díaz O, Toledo B, Veloz M, Posada I, Navas A. El *Aloe vera* su aplicación terapéutica en la enfermedad periodontal inflamatoria crónica. Rev.Med.Electrón. 2018;40(3):744-754.
- 10. Mederos J, Presedo C, Larrea RR. Fundamentos de la lectura interpretada del antibiograma para médicos de asistencia clínica. Rev haban cienc méd. 2018;17(4):603-619.
- 11. Lin Y, Chen J, Zhou X, Li Y. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by strategies targeting the metabolism of exopolysaccharides. Crit Rev Microbiol. 2021;47(5):667-677.

doi: 10.1080/1040841X.2021.1915959.

- 12. Waizel J, Waizel S, Revilla F. Los productos herbolarios, la coagulación sanguínea y la cirugía otorrinolaringológica. An Orl Mex. 2017;62(2):115-142.
- 13. Pastrana YI, Durango AM, Acevedo D. Efecto antimicrobiano del clavo y la canela sobre patógenos. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 2017;15(1):56-65. doi:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(15)56-65

- 14. Standards NCCL. Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests; Approved Standards M2-A12. 12th ed. Wayne, Pa: NCCLS; 2015.
- 15. Erazo MJ, Arroyo FA, Arroyo DA, Castro MR, Santacruz SG, Armas AC. Antimicrobial effect of cinnamaldehyde, thymol, eugenol and chitosan on *Streptococcus mutans* strains. Rev Cubana Estomatol. 2017;54(4):1-9.
- 16. López N. Pruebas de coagulación. Acta Pediatr Mex. 2016;37(4):241-245.
- 17. Schovelin A, Muñoz M. Efecto Antibacteriano de la Infusión de Orégano (Origanum vulgare) sobre el Crecimiento in vitro de Streptococcus mutans. Int. J. Odontostomat. 2018;12(4):337-342.
- 18. Nayal R, Abajy M, Takla S. Investigating *in vitro* the Hemostatic Effect of Some Medicinal Plants. Res. J of Aleppo univ. 2015;100(1):2-15.