

Artículo original

Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray “arrayán” frente a patógenos de origen clínico

Jane Torres-Chatí^a, Jorge León-Quispe^{a,*}, Gloria Tomas-Chota^b

^aLaboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de Ciencias Biológicas. ^bLaboratorio de Productos Naturales, Facultad de Química e Ingeniería Química. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Recibido 1 de noviembre de 2016; aceptado 23 de marzo de 2017

Resumen: En el presente trabajo se evaluó la actividad antimicrobiana de *Luma chequen* “arrayán” frente a cepas de referencia y patógenos bacterianos y levaduras aislados de hemocultivos de un centro hospitalario. Hojas de *Luma chequen* “arrayán”, fueron recolectadas, maceradas y obtenido extractos etanólico y acuoso para ser evaluados por su actividad antimicrobiana frente a cepas de referencia de laboratorio y patógenos bacterianos y levaduras aisladas de hemocultivos de un centro hospitalario. La actividad de los extractos se valoró mediante el método modificado de difusión en pocillos y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) por microdilución. Se determinó que el extracto etanólico de la planta presentó mayor actividad inhibitoria frente a los patógenos, siendo los más sensibles *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *Klebsiella pneumoniae* a una CMI de 3,125 mg/mL y *Candida tropicalis* y *C. parapsilosis* a una CMI de 1,56 mg/mL. Se concluyó que *Luma chequen*, una planta etnomedicinal nativa del sur del Perú, posee componentes bioactivos que inhiben a patógenos humanos causantes de bacteremias y fungemias.

Palabras clave: medicina tradicional, fitoterapia, extractos vegetales, *Luma chequen*, actividad antimicrobiana, arrayán.

Antibacterial and antifungal activity from leaf extracts of *Luma chequen* (Molina) A. Gray “myrtle” against pathogens of clinical origin

Abstract: In the present work we evaluated the antimicrobial activity of *Luma chequen* “myrtle” against reference strains, bacterial pathogens and yeasts isolated from blood cultures of a hospital facility. *Luma* leaves were harvested, macerated and obtained ethanol and aqueous extracts to be evaluated for their antimicrobial activity against laboratory of reference strains, bacterial pathogens and yeasts isolated from blood cultures of a hospital laboratory. The activity of the extracts was assessed by the modified method of diffusion in wells and determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) by microdilution. It was determined that the ethanol extract of the plant presented greater inhibitory activity against the pathogens, being the most sensitive *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* and *Klebsiella pneumoniae* at the MIC of 3.125 mg / mL and for *Candida tropicalis* and *C. parapsilosis* with a MIC of 1.56 mg / mL. It was concluded that *Luma chequen*, an ethnomedicinal plant native from Southern Peru, has bioactive components that inhibit human pathogens causing bacteremias and fungemias.

Keywords: traditional medicine, phytotherapy, plant extracts, *Luma chequen*, antimicrobial activity, myrtle.

* Correspondencia:
E-mail: jorgeleonq@yahoo.com

Introducción

A lo largo de la historia, los metabolitos de las plantas han sido utilizados por la humanidad, convirtiéndose en una fuente inagotable de compuestos químicos y complejas sustancias activas, que desde hace muchos años han sido explotadas por el hombre [1]. En los últimos años el uso de productos naturales con fines terapéuticos ha sido cada vez

más frecuente, llegando a alcanzar hasta aproximadamente el 80% de la población en los países en vías de desarrollo [2]. Hoy en día los organismos mundiales, encargados de velar por la salud humana, recomiendan y promueven el uso de productos naturales con fines medicinales, en el marco de terapias tradicionales y alternativas cuando éstas han demostrado su utilidad y representan un riesgo mínimo [3].

En Perú, como en otros países, las plantas medicinales

representan la principal herramienta terapéutica de uso tradicional [4]. Desde la antigüedad la medicina tradicional ha desempeñado un rol importante aliviando las enfermedades y el dolor. Actualmente existe un gran interés por el mejor conocimiento y uso de medicinas alternativas, entre las que destaca la medicina natural [5]. El uso de plantas medicinales muchas veces se realiza en forma empírica y basada solo en la tradición; sin embargo, a la fecha los estudios de fitoterapia son cada vez mayores, permitiendo tener una base científica sólida, por lo que va tomando mayor importancia la búsqueda de nuevas fuentes vegetales de metabolitos con actividad citotóxica, anti-inflamatoria, antitumoral, analgésica, antimalárica, antibacteriana y antifúngica entre otras [6-8]. En la medicina tradicional peruana se dispone de variados agentes antimicrobianos obtenidos de plantas que se han probado tanto *in vitro* como *in vivo* con buenos resultados [7].

Según el informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el tema de la salud pública hay una preocupación global por la aparición de nuevos mecanismos de resistencia de los patógenos a los antimicrobianos convencionales; muchos medicamentos disponibles actualmente se vuelven ineficaces en la prevención y tratamiento de las infecciones, debido principalmente a la aparición cada vez mayor de patógenos oportunistas multirresistentes [9]. Por otra parte, las posibilidades terapéuticas se ven notablemente menguadas por falta de nuevos medicamentos que actúen frente a diversos patógenos, y a pesar de la disponibilidad de fármacos para el tratamiento de estas infecciones, se presentan otros problemas como la restricción en el espectro de acción, costo y efectos adversos en el paciente (hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, fototoxicidad) [10,11]. Debido a estas razones los esfuerzos se orientan a la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos que superen dichas limitaciones.

Luma chequen (Molina) A. Gray “arrayán” es una planta arborecente de 5 a 6 m de altura y aproximadamente 5 m de cobertura, que crece desde los 2.500 a los 4.000 m de altitud en los Andes de Sudamérica central entre Perú, Bolivia y Chile. Su población se ve favorecida en lugares de alta humedad a orillas de los ríos y de los suelos profundos y arenosos. La información etnofarmacológica de esta planta refiere múltiples usos en la medicina popular, resaltando su acción antidiarreica, antiinflamatoria, antiséptica, antimicótica, astringente, expectorante, entre otras [12,13]. Asimismo, se reporta el uso de su follaje como aromatizante y saborizante en la cocina [14].

En el presente trabajo se evaluó la actividad antimicrobiana de *Luma chequen* “arrayán” frente a patógenos aislados de hemocultivos de un Hospital de Nivel IV, Essalud, Lima, Perú.

Materiales y métodos

Material vegetal: Hojas de “arrayán” fueron recolectadas en febrero del 2014 de plantaciones del distrito de Huaccana, Andahuaylas, Apurímac, ubicada a 3.078 m de altitud. Se

identificaron en el Departamento Académico de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Las hojas seleccionadas, limpiadas y pesadas fueron desecadas bajo sombra por 3 días y luego en una estufa a 40 °C por 48 h. El material fue molido hasta obtener la muestra en polvo y luego guardado en frasco oscuro en un lugar fresco y seco hasta su uso posterior.

Microorganismos: Se utilizaron como testigos de actividad antimicrobiana patógenos aislados de hemocultivos del Servicio de Microbiología de un hospital de Nivel IV, Essalud, Lima, Perú, identificados por técnicas convencionales: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*. La utilización de estas cepas contó con la autorización del jefe del Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, y se siguieron las normas expuestas en la Declaración de Helsinki, respetado la confidencialidad del paciente. Otros testigos fueron *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *C. albicans* ATCC 90028 y *C. tropicalis* ATCC 750 de la colección del Laboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Obtención del extracto etanólico: Se realizó siguiendo las recomendaciones de León y col. [15]. El material pulverizado (200 g) se colocó en un frasco oscuro con 500 mL de etanol (Merck) y luego fue sellado herméticamente. Se dejó reposar durante 7 días, con agitación de tres veces por día. Luego de transcurrido el tiempo, la muestra se filtró mediante papel Whatman N° 1 (Whatman International LTD, England), obteniéndose el extracto crudo. El filtrado fue secado en un rotavapor a 40 °C y 110 milibares de presión y conservado a 4 °C hasta su uso.

Obtención del extracto acuoso: El material pulverizado (20 g) fue tratado con 100 mL de agua destilada a 75 °C durante 5 min. Se dejó reposar por 7 días y luego se filtró con papel Whatman N° 1 (Whatman International LTD, England), obteniéndose de esta manera el filtrado libre de residuos; fue secado a 40 °C y conservado en frasco oscuro a 4 °C hasta su uso.

Ensayos de actividad antibacteriana y antifúngica: Las pruebas de actividad antimicrobiana se realizaron según la metodología de León *et al.* y Huamani y Ruíz [15,16]. Se evaluó la capacidad de los extractos para inhibir el crecimiento de microorganismos a través de pruebas de sensibilidad antimicrobiana. El extracto seco se diluyó en dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% (p/v) obteniendo una concentración de 100 mg/mL; luego fue filtrado a través de membranas (Millipore 0,22 µm). Para evaluar la actividad antimicrobiana se utilizó el método modificado de difusión en pocillos en agar Müeller Hinton para bacterias y agar Müeller Hinton con 2% de glucosa para las levaduras. Cada testigo fue adicionado al medio a escala 0,5 de MacFarland.

Los pocillos (6 mm de diámetro) se prepararon con ayuda de un sacabocado estéril, donde se depositó el extracto con carga final de 5 mg/pocillo. Luego de una incubación a 37 °C por 24 h se realizó la lectura de los halos de inhibición. Las pruebas se realizaron por triplicado. Se utilizó como control positivo gentamicina (80 mg/mL) para bacterias y fluconazol (0,2 mg/mL) para levaduras, siendo DMSO al 5% el control negativo. Para la medida de los halos de inhibición (mm) se empleó un vernier.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI): Se realizó siguiendo la metodología según León y col. mediante diluciones en microplacas de 96 pocillos [15]. Se utilizó solo el extracto etanólico resuspendido en DMSO al 5% para obtener una solución stock (50 mg/mL). A partir de esta solución se realizaron 8 diluciones 1:2 hasta 0,39 mg/mL. En cada pocillo se colocaron caldo tripticasa soya (80 µL), extracto etanólico (10 µL) en concentraciones decrecientes e inóculo de los patógenos (10 µL). Las microplacas se incubaron a 37 °C por 18-24 h. Para la lectura se adicionó 40 µL de cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio (TTC; 5 mg/mL) en cada pocillo y se incubó a 37 °C por 20 min. En todos los ensayos se contaron con los controles correspondientes. Las lecturas se realizaron por el viraje del medio a rojo intenso (crecimiento microbiano). Las pruebas se hicieron por triplicado.

Análisis estadístico: Para evaluar el efecto de los factores (variables independientes) que presentó el estudio sobre la variable dependiente cuantitativa (diámetro del halo de inhibición en mm) se utilizó el modelo factorial de Análisis de Varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey, considerándose diferencias estadísticas significativas cuando p fue menor que 0,05. Para el análisis se utilizó el programa estadístico Windows SPSS versión 20.0 (2012).

Resultados

La actividad antimicrobiana de los extractos frente a los patógenos probados se observa en la tabla 1. En general, el extracto etanólico tuvo mayor rendimiento en comparación al extracto acuoso, tanto frente a bacterias como levaduras. *S. aureus* ATCC 25923 (cepa estándar) (Figura 1A) y *E. coli* (de origen hospitalario) resultaron ser los más sensibles (29 y 26 mm de diámetro de halo de inhibición respectivamente). Asimismo, la actividad frente a *C. albicans* fue muy notable (Figura 1B); en tanto, frente a *S. aureus*, *S. epidermidis* y *K. pneumoniae*, la actividad fue moderada. El extracto acuoso, bajo las mismas condiciones logró generar halos de inhibición de menor tamaño frente a *S. aureus* ATCC 25923 (Figura 1C) y *K. pneumoniae* (Figura 1D).

La media del diámetro del halo de inhibición indicó que el halo del extracto etanólico se encontró inclusive por encima del control gentamicina (Figura 2A) y muy cerca al de fluconazol (Figura 2B), no así el halo del extracto acuoso. La figura 3 muestra los valores medios de la actividad del extracto etanólico frente a los patógenos, donde se nota

Tabla 1. Actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* frente a bacterias y levaduras patógenas.

Bacterias	Media del diámetro de halos de inhibición (mm)			
	Extracto etanólico	Extracto acuoso	Gentamicina* (80 mg/mL)	DMSO** (50 µL)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	25	14	23,2	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	29	14	26	-
<i>Escherichia coli</i>	26	8	27	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24	16	27,7	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	12	22,2	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	25	12	25	-

Levaduras	Media del diámetro de halos de inhibición (mm)			
	Extracto etanólico	Extracto acuoso	Fluconazol* (0,2 mg/mL)	DMSO** (50 µL)
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	20	6	22,7	-
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 00750	19	6	23	-
<i>Candida albicans</i>	19	7	22,5	-
<i>Candida tropicalis</i>	18	6	22,7	-
<i>Candida parapsilosis</i>	19	9	24,2	-

*Control positivo. **Control negativo

mayor actividad inhibitoria tanto de bacterias como de levaduras. La media del halo de inhibición según el tipo de extracto señaló que el etanólico generó 19 mm de halo de inhibición, mientras el acuoso tan solo 7 mm (Figura 2). *C. albicans* ATCC 90028 presentó mayor sensibilidad frente a ambos extractos, con una media de 20 mm de diámetro de halo de inhibición (Figura 3).

Los resultados del ensayo de la CMI del extracto etanólico de *Luma chequen* pueden observarse en la tabla 2, donde se indican los valores cuantitativos de su actividad antibacteriana y su actividad antifúngica. En general, los valores obtenidos fueron homogéneos frente a los microorganismos en prueba, con relativa mayor actividad frente a las cepas de origen hospitalario, en especial *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*.

Discusión

Existen varias especies de la familia Myrtaceae que

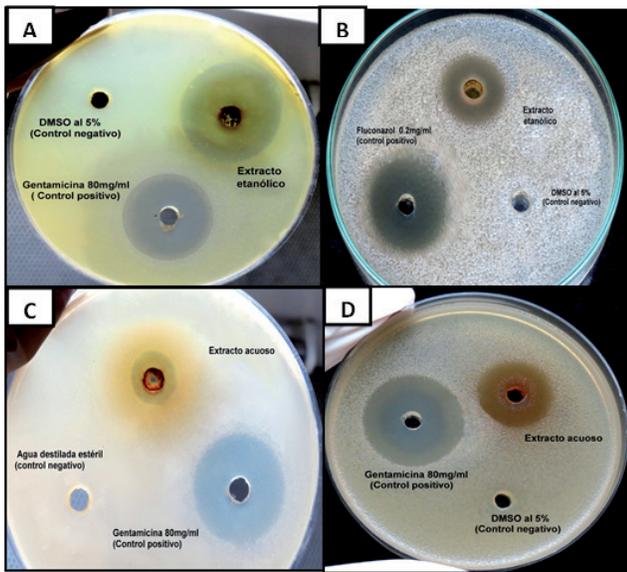


Figura 1. Actividad antimicrobiana (método modificado de difusión en pocillos en agar) del extracto etanólico de *Luma chequen* frente a una cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (A) y *Candida albicans* ATCC 90028 (B), y del extracto acuoso frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (C) y *Klebsiella pneumoniae* de origen hospitalario (D).

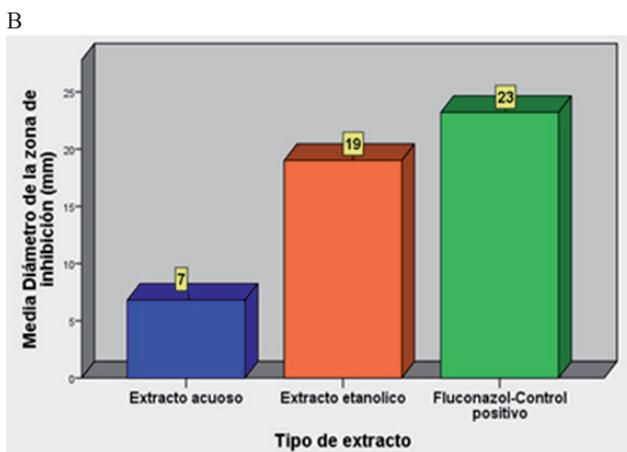
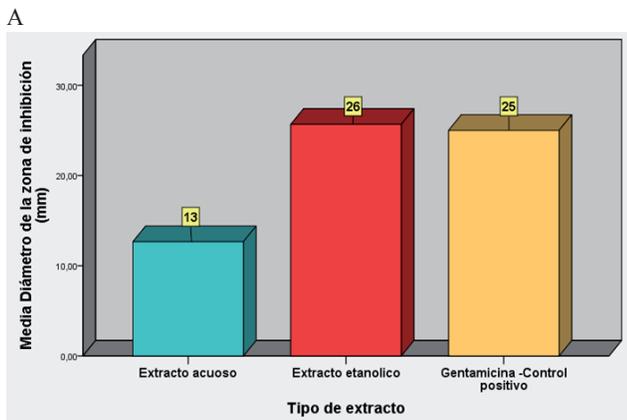


Figura 2. Media del diámetro del halo de inhibición según el tipo de extracto y el control positivo frente a bacterias patógenas (A) y levaduras (B) del género *Candida*.

reciben el nombre de “arrayán” (Ecuador, Chile, Colombia, Bolivia y Venezuela); sin embargo, se trata de especies diferentes a *Luma chequen* “arrayán” de origen peruano. Los

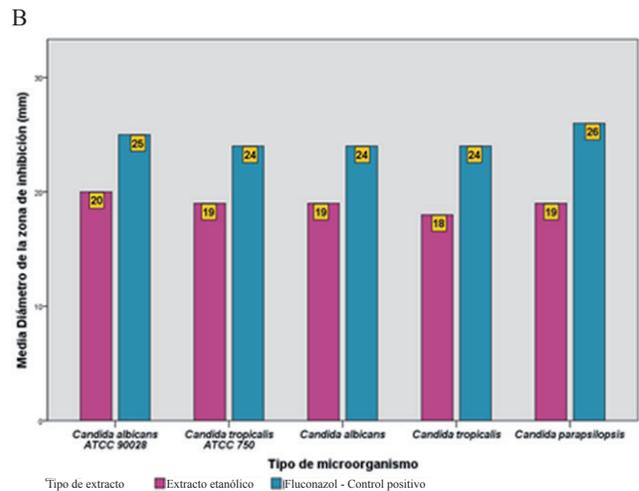
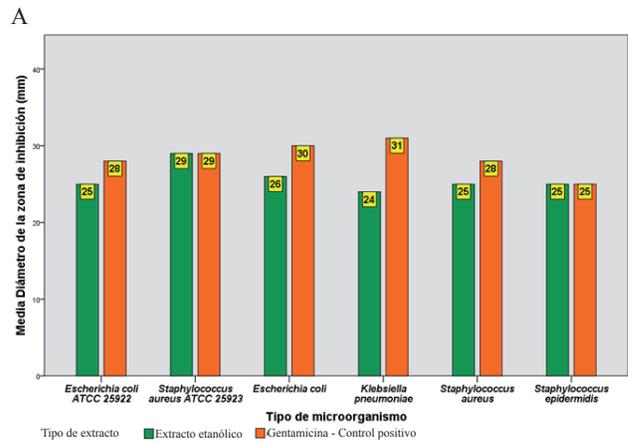


Figura 3. Media del diámetro del halo de inhibición del extracto etanólico comparado con el control positivo frente a bacterias patógenas (A) y especies del género *Candida* (B).

casos descritos fuera de Perú señalan que todas presentan actividad antimicrobiana [17-22], sin embargo, respecto al “arrayán” peruano hay escasas referencias de estudios de este tipo. Se describe la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Luma chequen* frente a *Streptococcus mutans*, un patógeno de importancia odontológica, señalando que con concentraciones de 10, 50 y 100% de este aceite se generaron halos de inhibición promedio de 6,28; 7,88 y 8,66 mm respectivamente [23]. En el presente trabajo se evaluó la actividad de extractos acuoso y etanólico frente a patógenos causantes de bacteriemias, resultando ambos activos contra el género *Staphylococcus*, pero la mayor actividad se obtuvo con el etanólico.

Esta actividad estaría vinculada a la polaridad del solvente en la captación de los metabolitos activos con acción directa sobre la pared celular de los patógenos. El etanol tiende a arrastrar mayor cantidad de compuestos polares como fenoles, taninos, flavonoides y otros metabolitos [24]. Se ha reportado que estos compuestos poseen actividad antimicrobiana, debido a que inhiben la formación de la pared celular y la síntesis de ADN o ARN [25]. En el caso del género *Candida* probablemente inhiban la biosíntesis de ergosterol o de otros esteroides presentes en la pared celular

Tabla 2. Evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *Luma chequen* “arrayán” frente a bacterias y levaduras patógenas.

Bacterias	CMI (mg/mL)
Cepas de referencia	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	6,25
Cepas de origen hospitalario	
<i>Escherichia coli</i>	6,25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,125
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,125
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3,125
Levaduras	
CMI (mg/mL)	
Cepas de referencia	
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	3,125
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750	3,125
Cepas de origen hospitalario	
<i>Candida albicans</i>	3,125
<i>Candida tropicalis</i>	1,56
<i>Candida parapsilosis</i>	1,56

de estas levaduras [26].

Goncalves *et al.* [22] reportaron la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos del aceite esencial de *L. chequen* frente a *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* 25923 y *C. albicans*, cuyos resultados fueron similares a los del presente estudio; sin embargo la procedencia de los vegetales fue distinta al caso peruano. La familia Myrtaceae, a la cual pertenece *L. chequen*, es conocida por su amplia actividad antimicrobiana. Autores como Maldonado [17], Lizcano y Vergara [18] señalaron la actividad inhibitoria del aceite esencial de otras especies de esta familia como *Myrcianthes rhopaloides* “arrayán” frente a *E. coli*, *S. aureus* y *C. albicans*, con resultados concordantes con este trabajo. Gómez reportó que el extracto etanólico de *Myrcianthes hallii* “arrayán” posee actividad inhibitoria frente a *K. pneumoniae* y *C. albicans* [19]. Boderó concluyó que los extractos fluidos contienen principios activos implicados en la actividad frente a *S. aureus* y *E. coli* [27]. En el presente estudio se ratifica que los extractos etanólicos de *L. chequen* presentan mayor actividad frente a estos patógenos tanto grampositivos como gramnegativos, indicando que contienen compuestos de amplio espectro de acción.

Con respecto a la CMI de los extractos de *L. chequen*, el presente estudio es el primer reporte en nuestro medio. La CMI frente a *Staphylococcus* se encontró entre 6,25 y 3,125 mg/mL y frente a *Candida* fue de 1,56 mg/mL. De otros géneros de “arrayán” existen varios reportes, como

el caso del género *Psidium* frente a *Staphylococcus*, con resultados similares al presente estudio [21,28]. Otros autores han reportado la CMI entre 16 y 512 µg/mL frente a *Candida* [20], así como de 100 µg/mL para *Psidium guajava* frente a *C. albicans* [28]. Carhuapoma [13], señala que *L. chequen* es una planta rica en compuestos como flavonoides (quercetina, rutina y quercetin-3-metil éter), taninos, triterpenos y esteroides, leucoantocianidinas, catequinas, fenoles libres y aceites esenciales (1,8-cineol, mirtol). El mismo autor señala que el flavonoide quercetina sería el responsable de la acción antimicrobiana [29].

Conclusiones

Luma chequen “arrayán” posee componentes activos con amplio espectro de acción antimicrobiana, lo cual contribuye al fortalecimiento y credibilidad de los conocimientos ancestrales que se tienen sobre esta planta medicinal; sin embargo, para validar estos hallazgos se deben realizar estudios referidos a la identificación y elucidación de sus compuestos bioactivos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Vicerrectorado de Investigación - UNMSM por el apoyo parcial en el desarrollo del presente estudio (Proyecto CON 2014, código: 141001291). Asimismo, agradecen el apoyo del Laboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de Ciencias Biológicas, UNMSM – Lima – Perú.

Conflictos de Interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés en la publicación del presente artículo.

Referencias

1. Torres CM. Investigación en la transformación secundaria de frutos, tubérculos, flores, hojas o tallos de especies pertenecientes a ecosistemas andinos. Informe Técnico. Bogotá DC: Jardín Botánico José Celestino Mutis – Subdirección Científica; 2004. pp 2-14.
2. Organización Mundial de la Salud (OMS), Informe del taller interregional de la OMS sobre el uso de medicina tradicional en la atención primaria de salud. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2007. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s16202s/s16202s.pdf>. Acceso 14-09-2015.
3. OMS, Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014 – 2023: Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2013. ISBN 978 92 4 350609 8. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>. Acceso: 11-11-2015.
4. Brack A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Cuzco: Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de las Casas; 1999.

5. Bonilla P, Arroyo J, Chávez J. Estudio fitoquímico y efecto antiulceroso del extracto acuoso de hojas *Vallea stipularis* L.f. "chuillur" en ratas. Rev Acad Perú Salud. 2007; 14:102-7.
6. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernández G. Medicina tradicional en el Perú: actividad antimicrobiana *in vitro* de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. Rev Peru Biol. 2001; 62:156-61.
7. Obregón L. Fitoterapia: Importancia de su desarrollo al servicio de la salud. Congreso Internacional de Plantas Medicinales FITO, Lima 2003.
8. Mantilla Holguín J. Pachamama hampi qhoranchiskuna (Las plantas medicinales de nuestra madre tierra). Experiencias sobre cultivo ecológico de plantas medicinales y aromáticas andinas en el valle sagrado de los Incas, Cusco-Perú. Rev Cienc Agrovet. 2006; 5:31-8.
9. Organización Mundial de la Salud (OMS). Resistencia a los antimicrobianos. Nota descriptiva. Septiembre de 2016. Centro de Prensa. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>. Acceso: 14-11-2015
10. Pfaller MA, Diekema D J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Reviews. 2007; 20:133-63.
11. Pemán J, Cantón E, Linares MJ, Roselló EM, Borrell N, Ruiz-Pérez-de-Pipaon MT, *et al.* Epidemiology and antifungal susceptibility of bloodstream fungal isolates in pediatric patients: a Spanish multicenter prospective survey. J Clin Microbiol. 2011; 49:4158-63.
12. Sotta N. Plantas aromáticas y medicinales de Arequipa. Arequipa: Editorial. Akuarella; 2000.
13. Carhuapoma YM. Plantas medicinales aromáticas nativas de la provincia de Huamanga y sus perspectivas económicas. Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico. Perú: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2002.
14. Reynel C, Marcelo J. Árboles de los ecosistemas forestales y andinos. Manual de identificación de especies. Serie investigación y sistematización N° 9. 1era edición. Lima: Programa Regional Ecobona-Intercooperation; 2009.
15. León J, Montero S, Albán J, Tomas G, Aponte J, Noceda M. Actividad antimicrobiana de tres especies vegetales de uso en medicina natural peruana. En: XIX Reunión Científica ICBAR, Lima. 2011; p 120.
16. Huamaní ME, Ruiz JR. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú. Tesis. Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005.
17. Maldonado E. Análisis de la composición del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* (Kunth in HBK) *McVaugh*, *Myrtaceae*, y evaluación de su actividad biológica. La granja. 2007; 6:17-24.
18. Lizcano AJ, Vergara JL. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de especies vegetales de *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. Tesis. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana; 2008.
19. Gómez CD. Evaluación de la actividad antibacteriana y antimicótica de los extractos de *Myrciantes hallii* (Arrayán), *Amaranthus asplundii* (Ataco), *Peperomia peltigera* (Pataku Yuyo), especies reportadas en Peguche – Imbabura, sobre *Streptococcus mutans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, causantes de enfermedades bucofaringeas. Tesis. Sangolquí, Ecuador: Escuela Politécnica del Ejército; 2010.
20. Wen L, Haddad M, Fernández I, Espinoza G, Ruiz C, Neyra E y col. Actividad antifúngica de cuatro plantas usadas en la medicina tradicional peruana: aislamiento de 3'-formil-2',4',6'-trihidroxidihidrochalcona, principio activo de *Psidium acutangulum*. Rev Soc Quím. Perú. 2011; 77:199-204.
21. Pío J, Díaz S, López M, Uribe M, Willms K, López G y col. Actividad antibacteriana de extractos de frutos de nanchi (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth), arrayán (*Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.) y ayale (*Crescentia alata* Kunth). Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. 2013; 12:356–64.
22. Gonçalves M J, Cavaleiro C, Da Cunha A P, Salgueiro L R. Chemical composition and antimicrobial activity of the commercially available oil of *Luma chequen* (Molina) A. Gray. J of Essent Oil Res 2006; 1:108-10.
23. Flores RJ. Determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "arrayan" frente a *Streptococcus mutans*. Tesis para obtener el título de Cirujano Dentista. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
24. Valencia C. Fundamentos de fitoquímica. España: Editorial Trillas S.A.; 1995
25. Bruneton J. Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales. 2° edición. España: Editorial Acribia S.A. 2001.
26. Clancy J, Yu V, Morris A, Snyderman D, Nguyen M. Fluconazole MIC and the fluconazole dose/MIC ratio correlate with therapeutic response among patients with candidemia. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49:3171–7.
27. Boderó MV. Estudio farmacognósico y actividad antimicrobiana (*in vitro*) de los extractos fluidos de arrayán y pumín y su aplicación en una pasta dentífrica. Tesis. Riobamba-Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2010.
28. Miranda E, Espinosa J, Centurión D, Velázquez J, Alor M. Actividad antimicrobiana de extractos de *Psidium friedrichsthalianum* L, *Pterocarpus hayesii* L, *Tynanthus guatemalensis* L. y *Spondias purpurea* L. Bol Latinom Caribe Plan Med Aromat. 2012, 11:354-61.

29. Carhuapoma YM. Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray “arrayán”. Tesis de maestría.

Perú: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2006.