

Artículo Original

INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 Y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 POR ACEITE ESENCIAL DE *Citrus sinensis* (L.) Osbeck

INHIBITION OF GROWTH OF *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 AND *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 BY ESSENTIAL OIL OF *Citrus sinensis* (L.) Osbeck

Lucia Baltodano Bringas¹, Lizeth Velásquez Vidaurre¹, David Zavaleta-Verde², Pedro Mercado Martínez^{2, a, *}

¹ Escuela de Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n Ciudad Universitaria. Trujillo-Perú.

² Laboratorio de Fisiología y Genética Bacteriana, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n Ciudad Universitaria. Trujillo-Perú.

^a Laboratorio Genética, Reproducción Asistida y Biología-Molecular, Universidad Privada Antenor Orrego, Av. América Sur 3145, Trujillo-Perú.

*Autor responsable: peemercado_1@hotmail.com

Lucia Baltodano:  <https://orcid.org/0000-0003-0167-3496>

Lizeth Velásquez:  <https://orcid.org/0000-0003-0821-9368>

David Zavaleta-Verde:  <https://orcid.org/0000-0003-0382-8420>

Pedro Mercado:  <https://orcid.org/0000-0002-0339-2885>

Recibido: 31 de mayo 2020 / Aceptado: 20 de noviembre 2020

RESUMEN

Los Aceites Esenciales (AEs) son sustancias líquidas, volátiles, con propiedades antimicrobianas y se pueden obtener de desechos orgánicos como las cáscaras de frutas cítricas, por ello el objetivo de la investigación fue inhibir el crecimiento de *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 usando el aceite esencial de cáscara de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. *huando*. La extracción del AE se realizó mediante el método de destilación por arrastre con vapor de agua y la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se determinó utilizando la técnica de macrodilución en tubo. Se utilizaron 12 tubos problema más uno de control, conteniendo caldo BHI, el AE a distintas concentraciones, y el inóculo bacteriano en fase exponencial media y estandarizado a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, obteniendo un volumen final de 2 mL, estos fueron incubados a 37 °C por 24 horas. Se encontró que la Concentración Mínima Inhibitoria de *C. sinensis* var. *huando* frente a *L. monocytogenes* fue 20 µg/mL y frente a *P. aeruginosa* de 40 µg/mL. Se concluyó que el AE de cáscara de *C. sinensis* (L.) Osbeck var. *huando* inhibe el crecimiento de *L. monocytogenes* y *P. aeruginosa*; siendo su mejor efecto en bacterias Grampositivas.

Palabras claves: *Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. *huando*, Concentración Mínima Inhibitoria, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRACT

Essential Oils (EOs) are liquid, volatile substances with antimicrobial properties and can be obtained from organic waste such as citrus fruit peels, therefore the objective of the research was to inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 using the essential oil of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. *huando*, the EO extraction was carried out using the steam distillation method and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined using the tube macrodilution technique. Twelve test tubes plus one control tube were used, containing BHI broth, EO at different concentrations, and the bacterial inoculum in medium exponential phase and standardized at 1.5×10^8 CFU / mL, obtaining a final volume of 2 mL, these were incubated at 37°C for 24 hours. The Minimum Inhibitory Concentration of *C. sinensis* var. *huando* on *L. monocytogenes* was 20 µg / mL and on *P. aeruginosa* 40 µg / mL. It was concluded that the shell EO of *C. sinensis* (L.) Osbeck var. *huando* inhibits the growth of *L. monocytogenes* and *P. aeruginosa*; being its best effect on Gram-positive bacteria.

Keywords: *Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. *huando*, Minimum Inhibitory Concentration, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*

DOI: <http://dx.doi.org/10.17268/rebiol.2020.40.02.02>

1. INTRODUCCIÓN

Las bacterias patógenas más frecuentes en Salud Pública están presentes en reservorios como el agua y los animales, y se estima que son causante de 2,2 millones de muertes al año, siendo los niños la población más afectada (Argote et al., 2017). El transporte y almacenamiento de alimentos es fundamental para garantizar su seguridad; sin embargo, estas condiciones a menudo están fuera del control del fabricante, como, por ejemplo, la ruptura en la cadena de frío podría permitir que bacterias como *L. monocytogenes* presentes en estos alimentos alcancen niveles perjudiciales para la salud del consumidor (Carrizo et al., 2014).

De las siete especies del género de *Listeria* que se conocen, solo dos son patógenas: *L. monocytogenes* (en humanos y animales), y *Listeria ivanovii* (solo en animales) (Ocampo et al., 2019; Barrientos et al., 2015). La listeriosis en humanos se manifiesta clínicamente desde una gastroenteritis febril hasta formas invasivas más graves (sepsis, meningitis, rombencefalitis, infecciones perinatales y abortos) y tiene como grupos de riesgo a mujeres embarazadas, neonatos, ancianos y enfermos inmunodeprimidos (Lourenço et al., 2018). El análisis de la fisiología del microorganismo ha demostrado que se une a receptores para sus proteínas de superficie y logra penetrar la célula huésped; ya en citoplasma sintetiza la proteína que induce la formación de la actina que favorece la motilidad y consecuentemente la invasión a otras células. También se ha encontrado que puede crear nichos en vacuolas y permanecer en un estado de no crecimiento y de resistencia, siendo esta una posible explicación del largo periodo de incubación, alta resistencia a antibióticos, e incluso la presencia de portadores asintomáticos (Fan et al., 2019).

P. aeruginosa es una bacteria Gramnegativa ubicua que puede sobrevivir en una amplia gama de entornos, debido a su versatilidad metabólica, variedad de mecanismos de adaptación, resistencia a fármacos y mínimos requerimientos nutricionales. Esta bacteria es reconocida como un patógeno oportunista y comúnmente asociada a infecciones nosocomiales y neumonía por el uso de ventiladores mecánicos (Pang et al., 2019). *P. aeruginosa* ha cobrado importancia por su rol en producir mayoritariamente infecciones respiratorias intrahospitalarias; asimismo, es un importante productor de infecciones en individuos cuya barrera mucocutánea ha perdido su continuidad. Además, este microorganismo puede ser potencialmente mortal (Moradali et al., 2017). La capacidad de formar biopelículas, resistencia natural y adquirida frente a los antibióticos son también características de *P. aeruginosa* que ha hecho a este microorganismo un problema latente para las infecciones intrahospitalarias (Moradali et al., 2017; Correa et al., 2015). Por otro lado, es importante ahondar en el tema de enfermedades intrahospitalarias, ya que la mayoría de los pacientes, generalmente los que están en unidad de cuidados intensivos (UCI), terminan infectándose por *P. aeruginosa* (Lujan, 2014).

Diversos procesos físico químicos, como los tratamientos térmicos, la irradiación UV, el almacenamiento a bajas temperaturas y el uso de conservantes químicos, han sido implementados con el fin de evitar la proliferación microbiana en los alimentos, sin embargo se han investigado el uso de métodos alternativos que ayuden a mejorar la conservación de alimentos, pero sin afectar sus características de sabor, nutrición y seguridad; sin aumentar significativamente los costos de producción, procesamiento y comercialización. Dentro de las alternativas de origen natural se encuentran los aceites esenciales (AEs), los cuales son fracciones líquidas volátiles que son posibles extraerlos de los diversos órganos de las plantas (Pardo et al., 2017) o material vegetal considerados como desperdicios (Pérez et al., 2017). Asimismo, estos muestran actividad antioxidante y poseen actividad antibacteriana y antifúngica, evaluadas como una fuente potencial de nuevos compuestos antimicrobianos (Velásquez et al., 2015).

Según Torrenegra et al. (2017) “el término aceite esencial es utilizado para referirse a sustancias líquidas, volátiles, de carácter lipofílico y con propiedades aromáticas. Estas sustancias son

sintetizadas por las plantas como metabolitos secundarios y pueden ser extraídas mediante métodos físicos como la destilación a vapor o hidrodestilación. Los aceites esenciales tienen un papel importante en la protección de las plantas, pues actúan como agentes antibacterianos, antivirales, antifúngicos e insecticidas. Poseen una composición química compleja que consiste en una mezcla de sustancias orgánicas como hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, etc. Algunos aceites esenciales se extraen de las células localizadas en la parte externa coloreada de la cáscara de los frutos cítricos”.

El género *Citrus* incluye a casi 1700 especies ampliamente consumidas por la población y valoradas por la venta de sus frutos, agrupados bajo el nombre de "cítricos"; destacan especies como, *C. sinensis* (L.) Osbeck (naranja), *C. reticulata* (mandarina), *C. aurantifolia* (limón), *C. paradisi* (pomelo) por su importancia económica (Torrenegra et al., 2017; Murillo et al., 2018), además están recibiendo mucha atención por sus propiedades nutritivas y biológicas debido a que son una fuente de compuestos bioactivos como “vitaminas, carotenoides, fibra y compuestos fenólicos, flavanonas, antocianinas y ácido hidroxicinámico”. Por otro lado, su industrialización genera subproductos como cáscara y semilla (más de la mitad del peso de fruta) que son considerados como desperdicios, los cuales tienen posible uso para la extracción de aceites esenciales (Murillo et al., 2018).

Los AEs de estos frutos son utilizados por su alta disponibilidad, mínimos efectos secundarios, mejor biodegradabilidad comparado con antibióticos y preservantes disponibles (Sultanbawa, 2016; Al-Jabri y Hossain, 2016), además se ha encontrado que la naranja contiene aceites esenciales que poseen características fitoterapéuticas, antifúngicas y antibacterianas (se han realizado estudios frente a “*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter*, *Enterococcus faecalis*, *Vibrio parahemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, y otros” (Perdones et al., 2016; Argote et al., 2017).

La cáscara de *C. sinensis* (L.) Osbeck, considerada como desecho orgánico que tienen como destino final el basurero municipal (Castañeda-Antonio et al., 2018), ha sido reportada como un excelente sustrato para varios productos de valor agregado, tales como aceites esenciales, pectina, antioxidantes naturales, antimicrobiano. Posee componentes bioactivos, beneficiosos para la salud; los compuestos fenólicos y poli fenólicos que exhiben actividades antimicrobianas, antioxidantes, quimiopreventivas y quimioterapéuticas (Yang et al., 2017; Campo et al., 2017). Además, la nueva tendencia en investigación es explorar las propiedades de los residuos generados por las industrias y buscar el manejo de estos residuos como alternativa para el control de microorganismos patógenos y que afecten la seguridad alimentaria.

Considerando que, en la actualidad, el Perú produce grandes cantidades de *C. sinensis* (L.) Osbeck, y que su cáscara es descartada como desecho, pero que es una fuente potencial de productos secundarios con actividad antibacteriana, el objetivo de la investigación fue inhibir el crecimiento de *L. monocytogenes* ATCC 19115 y *P. aeruginosa* ATCC 27853 usando el aceite esencial de cáscara de *C. sinensis* (L.) Osbeck var. *huando*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del aceite esencial

Se utilizó 10 Kg de cáscara de *C. sinensis* (L.) Osbeck var. *huando* procedente de Moche – Perú y certificada por el Herbario de la Universidad Privada Antenor Orrego, a partir de la cual se destiló por arrastre de vapor obteniéndose 10 mL del AE, el cual fue conservado en recipientes esterilizados previamente (121 °C, 1 atm y 15 min), ausencia de luz y temperatura de refrigeración (4 °C), hasta los análisis posteriores (Berka-Zougali et al., 2012; Pumaylle et al., 2012). Se preparó una solución madre del AE a la concentración de 40 mg/mL (se usó como emulsificante Tween 80 estéril), a partir de la cual se hizo diluciones en caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) hasta obtener la concentración de 4 mg/mL, considerada como la solución stock de trabajo.

Reactivación y estandarización de los inóculos bacterianos.

Se utilizaron las cepas de *L. monocytogenes* ATCC 19115 y *P. aeruginosa* ATCC 27853, las cuales fueron reactivadas en ATCC® Medium 44 (Brain Heart Infusion Agar [BHI]) y ATCC® Medium 18 (Trypticase Soy Agar [TSA]) respectivamente. Para la preparación de los inóculos, en el caso de *L. monocytogenes* ATCC 19115 se incubó a 37 °C por 6 horas, tiempo en el cual alcanzó la fase exponencial media, creciendo a una velocidad de 0,835/hr⁻¹; mientras que *P. aeruginosa* ATCC 27853 se incubó a 37 °C por 7 horas creciendo a una velocidad de 0,924/hr⁻¹, luego se procedió a estandarizarlos a una concentración de 1,5x10⁸ UFC/mL (0,5 Mac Farland).

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Se procedió según la técnica de macrodilución en caldo (Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]), 2015). Para ello se usó 13 tubos de ensayo, en los cuales se incorporó 1,6 mL de caldo BHI doble concentrado, luego al primer tubo se adicionó 1,6 mL de la solución stock de trabajo [4 mg/mL] de esa manera se logró alcanzar una concentración de 3200 µg/mL; a partir de este primer tubo se realizaron diluciones seriadas al medio hasta el tubo de ensayo número 12. Seguido, a cada tubo de ensayo se incorporó 0,4 mL del inóculo bacteriano estandarizado [1,5x10⁸ UFC/mL] de manera que las concentraciones finales de aceite esencial fueron 2560; 1280; 640; 320; 160; 80; 40; 20; 10; 5; 2,5; 1,25 µg/mL. El tubo número 13 sirvió como control negativo, y solo contenía caldo BHI y el inóculo bacteriano. Finalmente, los sistemas fueron incubados a 37 °C por 24 horas, tiempo en el cual se realizó la lectura y determinación de la CMI. Se utilizó un diseño experimental clásico con tres repeticiones para determinar la CMI.

Análisis estadístico

Se utilizó la prueba estadística no paramétrica Q de Cochran (p=0,05) para evaluar la efectividad de 12 concentraciones distintas del aceite esencial de *C. sinensis* (L.) Osbeck var. *huando* para inhibir el crecimiento de *L. monocytogenes* y *P. aeruginosa*. Se utilizó el software RStudio-1.2.5033.

3. RESULTADOS

A partir de cáscara de *C. sinensis* (L.) Osbeck var. *huando* se obtuvo 10 mL de aceite esencial, del cual se prepararon 12 concentraciones distintas para determinar la CMI mediante la técnica de macro dilución en caldo. La Tabla 1 muestra las concentraciones mínimas del aceite esencial de *C. sinensis* (L.) Osbeck var. *huando* que se necesita para inhibir el crecimiento visible de *L. monocytogenes* ATCC 19115 y *P. aeruginosa* ATCC 27853 después de 24 horas de incubación a 37 °C.

Tabla 1. Concentraciones del aceite esencial de *C. sinensis* (L.) Osbeck var. *huando* que inhiben el crecimiento de *L. monocytogenes* ATCC 19115 y *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Aceite esencial	Concentración mínima inhibitoria (µg/mL)	
	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19115	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck var. <i>huando</i>	20*	40*

* Q (2) = 33, p<0,05

4. DISCUSIÓN

Los aceites esenciales de las especies del género *Citrus*, tienen diversos mecanismos de acción sobre las bacterias, actúan sobre la membrana celular, pared celular, enzimas metabólicas, cambio del flujo de protones, síntesis de proteínas y el sistema genético (Bassanetti et al., 2017; Ambrosio et al., 2017). Es por ello que en la Tabla 1 se muestran las concentraciones del AE de *C. sinensis* (L.) Osbeck var. *huando* que inhiben a *L. monocytogenes* ATCC 19115 y *P. aeruginosa* ATCC 27853 respectivamente.

Al analizar estadísticamente los resultados de inhibición de cada concentración del AE evaluada, se encontró diferencias entre ellas ($Q(2) = 33$, $p < 0.05$). Además, se determinó que la concentración mínima para inhibir a *L. monocytogenes* ATCC 19115 fue de 20 µg/mL; mientras que para inhibir a *P. aeruginosa* ATCC 27853 fue de 40 µg/mL, entendiéndose que concentraciones superiores a estas, también inhibieron el crecimiento de dichas bacterias (Tabla 1).

Al comparar las CMI para cada bacteria evaluada, los resultados muestran que, el AE de *C. sinensis* (L.) Osbeck var. *huando* tiene mejor actividad antibacteriana frente a Gram positivos que a Gram negativos, estos datos concuerdan con los obtenidos por Campo et al. (2017) quienes reportaron mayor sensibilidad de los Gram positivos, usando extractos de quitasano y de cáscara de *C. sinensis* (L.) Osbeck. Por otro lado, Murillo et al. (2018), realizaron estudios de CMI de diversos cítricos, entre ellos naranja, y revelaron el potencial de los AEs para inhibir el crecimiento de bacterias gramnegativas y grampositivas, demostrando que *P. aeruginosa* y *S. typhimurium* fueron las más resistentes de todo el grupo de bacterias.

Vignola et al. (2020), hicieron una recopilación de estudios sobre la acción antibacteriana de los AEs de cítricos, e informaron que estos tienen acción sobre diversas bacterias patógenas contaminantes de alimentos, como *Escherichia coli* (ATCC 0157:H7), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, *Lactobacillus plantarum* ES147 y ATCC 8014, *Leuconostoc mesenteroides* MS1 y otras; esto se debe a compuestos comunes presentes en los AEs, como el limoneno, terpineno, octanal y mirceno (Bey-Ould et al., 2016; Castañeda-Antonio et al., 2018); también linalol y timol (Argote et al., 2017).

La acción antibacteriana de los aceites esenciales presentes en la cáscara de *C. sinensis* (L.) Osbeck puede deberse también, al contenido de polifenoles (flavonoides, flavonas, isoflavonas), los cuales son abundantes en la cáscara, y cumplen funciones de defensa en la planta, como agentes antimicrobianos, protección contra herbívoros y radiación UV (Geraci et al., 2017). Ordoñez-Gómez et al. (2018) informaron que diversas cáscaras de cítricos, tienen acción inhibitoria contra el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y que esta acción se debe a la presencia de compuestos bioactivos, como los ácidos fenólicos y glucósidos de flavanona, la naringina y la hesperidina, los llamados flavonoides cítricos.

Las dos bacterias estudiadas son de interés en la inocuidad de los alimentos, debido a que son frecuentes las enfermedades bacterianas por su ingesta, en ese sentido se ha encontrado que los AEs de los cítricos, además de los usos antimicrobianos, antioxidantes pueden ser usados como preservantes en los alimentos, por sus altos niveles de polifenoles (Hernández-Carillo et al., 2015).

5. CONCLUSIONES

El aceite esencial de cáscara de *C. sinensis* (L.) Osbeck var. *huando* inhibe el crecimiento de *L. monocytogenes* ATCC 19115 a una concentración mínima de 20 µg/mL, mientras que a 40 µg/mL inhibe a *P. aeruginosa* ATCC 27853; siendo su mejor efecto en bacterias Grampositivas.

6. AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su agradecimiento al Laboratorio de Fisiología y Genética Bacteriana, de la Universidad Nacional de Trujillo, por el uso de sus instalaciones para llevar a cabo el presente trabajo.

7. CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

El presente trabajo formó parte de la tesis para titulación de Biólogo-Microbiólogo de Lucía Baltodano y Lizeth Velásquez. Pedro Mercado y David Zavaleta participaron en la condición de asesor y co-asesor, respectivamente, con las actividades propias reglamentadas.

8. CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

9. FINANCIAMIENTO

El trabajo fue autofinanciado en su totalidad.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Jabri, N. N., y Hossain, M. A. (2016). Chemical composition and antimicrobial potency of locally grown lemon essential oil against selected bacterial strains. *Journal of King Saud University – Science*, 60(30), 1-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2016.08.008>.
- Ambrosio, C. M. S., Alencar, S. M., Sousa, R. L. M., Moreno, A. M., y Da Gloria, E. M. (2017). Antimicrobial activity of several esencial oils on pathogenic and beneficial bacteria. *Industrial Crops and Products*, 97, 128-136. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.11.045>.
- Argote, F. E., Suarez, Z. J., Tobar, M. E., Perez, J. A., Hurtado, A. M., y Delgado, J. (2017). Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 15(2), 52-60. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(15\).593](https://doi.org/10.18684/bsaa(15).593).
- Barrientos H. E. W., Lucas L. J. R., Ramos D. D., Rebatta T. M., y Arbaiza F. T. (2015). Presencia de *Listeria monocytogenes* en Canales Porcinas en Lima, Perú. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 26(1), 135-139. <https://doi.org/10.15381/rivep.v26i1.10907>.
- Bassanetti, I., Carcelli, M., Buschini, A., Montalbano, S., Leonardi, G., Pelagatti, P., Tosi, G., Massi, P., Fiorentini, L., y Rogolino, D. (2017). Investigation of antibacterial activity of new classes of essential oils derivatives. *Food Control*, 73(B), 606-612. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.010>.
- Berka-Zougali, B., Ferhat, M. A., Hassani, A., Chemat, F., y Allaf, K. S. (2012) Comparative study of essential oils extracted from *Algerian Myrtus communis* L. leaves using microwaves and hydrodistillation. *Int J Mol Sci*, 13(4), 4673-95. <https://doi.org/10.3390/ijms13044673>.
- Bey-Ould, Z., Haddadi-Guemghar, H., Boulekbache-Makhlouf, L., Rigou, P., Remini, H., Adjaoud, A., Khoudja, N. K., y Madani, K. (2016). Composición de aceites esenciales, actividad antibacteriana y antioxidante del extracto hidrodestilado de frutos de *Eucalyptus globulus*. *Cultivos y productos industriales*, 89, 167-175. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.05.018>.

- Campo, Y., Delgado, M. A., Roa, Y., y Mora, G. (2017). Efecto antimicrobiano del quitosano y cascara de naranja en el tratamiento de aguas residuales. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 19(4), 381-388. <https://dx.doi.org/10.18271/ria.2017.312>.
- Carrizo, R., Audicio, N., Kurina, M., y Ponzi, M. (2014). Antibacterial activity of lime (*Citrus x aurantifolia*) essential oil against *Listeria monocytogenes* in tyndallised apple juice. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 34(1), 10-14.
- Castañeda-Antonio, D., Rivera-Tapia, A., Choy Flores, E., Munguía-Pérez, R., Portillo-Reyes, R., y Muñoz, J. (2018). Actividad antimicrobiana del aceite de naranja residual. *UNED Research Journal*, 10(2), 469-474. <https://doi.org/10.22458/urj.v10i2.2175>.
- Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]. (2015). Estándares de desempeño para pruebas de susceptibilidad de disco antimicrobiano; estándar aprobado, doceava edición CLSI documento M02-A12. Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, Wayne, PA. EE.UU.
- Correa, K. A., Bravo, M. V., Silva, R. A., y Montiel, M. (2015). Susceptibilidad a antibióticos de *Pseudomonas aeruginosa* aislada de agua de consumo humano de la comunidad Santa Rosa de Agua, Maracaibo, estado Zulia. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 35(2), 83-88.
- Fan, Z., Xie, J., Li, Y., y Wang, H. (2019). Listeriosis in mainland China: A systematic review. *Int J Infect Dis*, 81, 17-24. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.01.007>.
- Geraci, A., Di Stefano, V., Di Martino, E., Schillaci, D., y Schicchi, R. (2017) Componentes de aceite esencial de cáscaras de naranja y actividad antimicrobiana. *Investigación de productos naturales*, 31(6), 653-659, <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1219860>.
- Hernández-Carrillo, J. G., Valdez-Fragoso, A., Welti-Chanes, J., y Mújica-Paz, H. (2015). Tracing phenolic compounds through manufacturing of edible films from orange and grapefruit peels. *Revista mexicana de ingeniería química*, 14(3), 567-578.
- Lourenço, J., Leclercq, A., Lecuit, M., y Charlier, C. (2018). Listeriosis, *EMC - Tratado de Medicina*, 22,1-9. [https://doi.org/10.1016/S1636-5410\(18\)91427-3](https://doi.org/10.1016/S1636-5410(18)91427-3).
- Lujan, D. (2014). *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. *Acta Bioquim Clin Latinoam*, 48(4), 465-474.
- Moradali, M. F., Ghods, S., y Rehm, B. H. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 39. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00039>.
- Murillo, E., Correa, J., Cerquera, C., y Méndez, J. (2018). Potencial antimicrobiano y citotóxico del aceite esencial de *Citrus aurantium* Engl (naranja agria) y *Swinglea glutinosa* Merr (limón de cerco). *Revista Cubana De Plantas Medicinales*, 23(3).
- Ocampo, I. D., González, C., Moreno, S. L., Calderón, C., Flórez-Elvira, L. J., Olaya, M. B., Rivera Sánchez, S. P., y Lesmes, M. C. (2019). Presencia de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos artesanales comercializados en Cali-Colombia. *Acta Agronómica*, 68(2), 108-114. <https://doi.org/10.15446/acag.v68n2.77185>.
- Ordoñez-Gómez, E. S., Reátegui-Díaz, D., y Villanueva-Tiburcio, J. E. (2018). Polifenoles totales y capacidad antioxidante en cáscara y hojas de doce cítricos. *Scientia Agropecuaria*, 9(1), 113-121. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.13>.
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., y Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv*, 37(1), 177-192. <https://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>.
- Pardo, C. G., Monsalve, G. S., Tupaz, H. A., Espinosa, Y., y Jaramillo, G. I. (2017). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Citrus reticulata* sobre *Fusobacterium nucleatum* asociada a enfermedad periodontal. *Revista Colombiana De Biotecnología*, 19(2), 7-14. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n2.57921>.
- Perdones, Á., Escriche, I., Chiralt, A., y Vargas, M. (2016). Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on volatile profile of strawberries during storage. *Food Chem*, 197(A), 979-86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.054>.

- Pérez, A., Vitola, D., Villarreal, J., Noya, B. M., Pérez, P. Y., Ramírez, S. A., y Rangel, P. M. (2017). Actividad antimicrobiana de aceites esenciales de naranja dulce (*Citrus sinensis*) y limón criollo (*Citrus aurantifolia*) como control en el añublo bacterial de la panícula del arroz. *Alimentech ciencia y tecnología alimentaria*, 15(2), 28 – 44. <https://doi.org/10.24054/16927125.v2.n2.2017.2966>.
- Pumaylle, K., Quiroz, L., Bejarano, D., y Silva, R. (2012). Extraction, characterization and evaluation of antibacterial activity of essential oil of *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). *Scientia agropecuaria*, 3, 291-302. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2012.04.03>.
- Sultanbawa, Y. (2016). Aceites esenciales en aplicaciones alimentarias: aspectos australianos en V. Preedy (Ed.), *Aceites esenciales en la conservación, el sabor y la seguridad de los alimentos* (pp. 155–159). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00016-X>.
- Torrenegra, M. E., Pájaro, N. P., y León, G. (2017). Actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales de diferentes especies del género Citrus. *Revista Colombiana De Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 46(2), 160-175. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v46n2.67934>.
- Velásquez, M., Álvarez, R., Tamayo, P., y Carvalho, C. (2015). Evaluación in vitro de la actividad fungistática del aceite esencial de mandarina sobre el crecimiento de *Penicillium* sp. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 15(1), 7-14. https://doi.org/10.21930/rcta.vol15_num1_art:392.
- Vignola, M., Serra, M., y Andreatta, A. (2020). Actividad Antimicrobiana de Diversos Aceites Esenciales en Bacterias Benéficas, Patógenas y Alterantes de Alimentos. *Revista Tecnología Y Ciencia*, (37), 92-100. <https://doi.org/10.33414/rtyc.37.92-100.2020>.
- Yang, C., Chen, H., Chen, H., Zhong, B., Luo, X., y Chun, J. (2017). Antioxidant and anticancer activities of essential oil from gannan navel orange peel. *Molecules*, 22(8),1391. <https://doi.org/10.3390/molecules22081391>.

Citar como:

Baltodano, L.; Velásquez, L.; Zavaleta-Verde, D.; Mercado, P. 2020. Inhibición del crecimiento de *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 por aceite esencial de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. *REBIOL* 40(2): 141-148. DOI: <http://dx.doi.org/10.17268/rebiol.2020.40.02.02>.