

## Actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de las hojas de melissa officinalis frente a proteus spp

In vitro" antimicrobial activity of the hidroalcoholic extract of melissa officinalis leaves against proteus spp

Abdel Bermúdez-del Sol<sup>1</sup>✉, Luis Ramón Bravo-Sánchez<sup>2</sup>, Ariana Michele Pozo-López<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Regional Autónoma de Los Andes. Ambato, Ecuador.

<sup>2</sup>Universidad Estatal Amazónica. Ecuador.

**Recibido:** 07 de noviembre de 2023

**Aceptado:** 23 de noviembre de 2023

**Publicado:** 24 de noviembre de 2023

**Citar como:** Bermúdez-del Sol A, Bravo-Sánchez LR, Pozo-López AM. Actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de las hojas de melissa officinalis frente a proteus spp. Universidad Médica Pinareña [Internet]. 2023 [citado: fecha de acceso]; 19(2023): e1018. Disponible en: <https://revgaleno.sld.cu/index.php/ump/article/view/1018>

### RESUMEN

**Introducción:** los extractos de plantas proveen oportunidades ilimitadas para el desarrollo de nuevos fármacos con potencial terapéutico, los mismos que pueden ser utilizados para el control microbiano.

**Objetivo:** evaluar la actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de las hojas de Mellisa officinalis frente a Proteus spp

**Métodos:** se realizó una investigación aplicada desarrollada en tres etapas su caracterización fisicoquímica y fitoquímica y la evaluación de la actividad antimicrobiana se llevó a cabo las instalaciones de la Universidad Estatal Amazónica.

**Resultados:** todos los parámetros se encuentran en los intervalos indicados, por lo que cumple con los índices recomendados para el control de calidad de extractos de plantas medicinales; en el análisis fitoquímico se identificaron saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, chalconas, auronas, alcaloides y quinonas. El extracto presentó actividad antimicrobiana frente a Proteus spp.

**Conclusiones:** el extracto hidroalcohólico de las hojas de Melissa officinalis presento valores adecuados de parámetros físico - químicos y características organolépticas. El estudio fitoquímico arrojó la presencia de metabolitos con potencial actividad antimicrobiana. La actividad antimicrobiana “In vitro” del extracto hidroalcohólico a partir de las hojas de Melissa officinalis (Toronjil) a las concentraciones de 75 % y 100 %, frente a Proteus spp, resultó comparable con ciprofloxacino.

**Palabras Clave:** Mellisa Officinalis; Proteus Spp; Plantas Medicinales; Actividad Antimicrobiana; Tamizaje Fitoquímico.

## ABSTRACT

**Introduction:** plant extracts provide unlimited opportunities for the development of new drugs with therapeutic potential, which can be used for microbial control.

**Objective:** to evaluate the "in vitro" antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract of *Melissa officinalis* leaves against *Proteus* spp.

**Methods:** an applied research was carried out in three stages, its physicochemical and phytochemical characterization and the evaluation of the antimicrobial activity was carried out at the facilities of the Universidad Estatal Amazónica.

**Results:** all parameters are within the indicated ranges, so it complies with the recommended indexes for quality control of medicinal plant extracts; in the phytochemical analysis, saponins, phenolic compounds, flavonoids, chalcones, auronos, alkaloids and quinones were identified. The extract showed antimicrobial activity against *Proteus* spp.

**Conclusions:** The hydroalcoholic extract of *Melissa officinalis* leaves presented adequate values of physical-chemical parameters and organoleptic characteristics. The phytochemical study showed the presence of metabolites with potential antimicrobial activity. The in vitro antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Melissa officinalis* (Lemon balm) at concentrations of 75 % and 100 %, against *Proteus* spp, was comparable with ciprofloxacin.

**Keywords:** *Melissa Officinalis*; *Proteus* Spp; Medicinal Plants; Antimicrobial Activity; Phytochemical Screening.

## INTRODUCCIÓN

Las plantas son fuentes terapéuticas que pueden ser utilizadas de varias maneras, como té u otros remedios hechos en casa. Pueden también ser usadas como extractos crudos o fracciones concentradas en preparaciones farmacéuticas tales como tinturas, extractos fluidos, polvos, tabletas y cápsulas cuando son consideradas como preparaciones fitofarmacéuticas o medicinas herbolarias. Finalmente, las plantas pueden ser sujetas a extracciones sucesivas y procedimientos de purificación para aislar compuestos de interés, los cuales pueden ser ellos mismos los activos y ser usados directamente como fármaco.<sup>(1)</sup>

Dentro de la investigación de plantas medicinales, la selección de plantas a estudiar se realiza basándose en diferentes estrategias que den como resultado una medicina herbolaria o un compuesto activo aislado. Este estudio se realiza tomando en cuenta su uso en medicina tradicional (preparación, parte de la planta utilizada, forma de administración) reportes de contenido químico y toxicidad.<sup>(2)</sup>

El aprovechamiento por el hombre de las plantas aromático-medicinales hay que buscarlo en la más remota antigüedad, según consta en testimonios históricos pertenecientes a distintas civilizaciones y culturas. El hombre las usó inicialmente, a imitación de los animales, guiado por su instinto, después empíricamente, y más tarde de forma más racional, conociendo sus propiedades terapéuticas de forma progresiva, con los avances tecnológicos.<sup>(3)</sup>

De acuerdo con cifras de la Secretaría de Salud, al menos el 90 % de la población usa las plantas medicinales; de ese 90 %, la mitad usa exclusivamente plantas medicinales para atender sus problemas de salud; el otro 50 %, además de las plantas medicinales, usa la medicina alópata.<sup>(4)</sup>

Existen pruebas empíricas y científicas que avalan los beneficios de diversas plantas medicinales en diversas afecciones crónicas o leves. Los tratamientos con plantas medicinales son la forma más popular de medicina tradicional, prevaleciendo a lo largo del tiempo.<sup>(5)</sup>

Las plantas tienen múltiples propiedades biológicas y dentro de esta se destaca por su importancia la actividad microbiana que ha sido ampliamente estudiada por muchos investigadores, es así como en un estudio publicado en la Revista Ciencia UNEMI, se describe el efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales y entre ellas *Melissa officinalis* L (toronjil) recolectadas al azar en las localidades de Machala y Santa Rosa. En este estudio la parte utilizada fueron las hojas; para determinar la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos obtenidos se utilizó la técnica de difusión en agar, mediante la cual estos se probaron frente a cepas de bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) y Gram negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*), y una cepa del hongo (*Candida albicans*).<sup>(6)</sup>

Todos los extractos analizados, a excepción de los de *L. citriodora* y *A. conyzoides*, exhibieron una acción bactericida contra todas las cepas bacterianas ensayadas, lo cual refleja la importancia de estas especies en la producción de fitofármacos antibacterianos. *T. officinale* y *P. carpunya* presentaron un efecto antibacteriano alto contra *E. coli*; sin embargo, *S. aureus* no presentó sensibilidad frente los extractos de *L. citriodora* y *P. carpunya*.<sup>(7)</sup>

En Latinoamérica es común que sus habitantes consigan antibióticos sin una prescripción médica, debido a la carencia de leyes reguladoras que prohíben su venta libre.<sup>(8)</sup> La Organización Panamericana de la Salud realizó una investigación en cuatro países entre los años 2005 y 2008 donde se constató que la automedicación se encuentra entre el 35 y 40 %, dentro de este porcentaje los antibióticos ocupan entre el 14 y 60 %. La prevalencia de consumo de antibióticos fue del 15 % en Paraguay, 17 % en Honduras, 22 % en Nicaragua y 27 % en Perú”, estas cifras demuestran que el consumo existe, y es bastante elevado, lo cual hace que se incremente la resistencia a los antimicrobianos.<sup>(9)</sup>

El estudio científico de las plantas medicinales es una fuente relevante para el descubrimiento de nuevos fármacos que luego se sintetizan, pero también permite un conocimiento más profundo de los vegetales que conduce a que muchos productos naturales sean reconocidos como fitofármacos, es decir, compuestos que igualan el nivel de los fármacos de síntesis. Actualmente, uno de los problemas más comunes es que existen plantas medicinales que tienen una actividad antimicrobiana conocida por la población, sin embargo, no han sido evaluadas científicamente, para determinar cuáles son sus beneficios.<sup>(10)</sup>

Existe una gran variedad de plantas medicinales que crecen y son recolectadas en Ecuador, entre ellas el toronjil, que contiene metabolitos secundarios con posible actividad antimicrobiana, sin embargo, sin una evaluación farmacológica.<sup>(11)</sup>

Las infecciones microbianas han marcado importantes períodos de la historia humana, por su alta mortalidad, resulta por tal motivo de gran importancia la investigación de nuevos fitofármacos que contribuyan al tratamiento de estas enfermedades.<sup>(9)</sup>

El uso de las plantas medicinales no solo está extendido entre los curanderos e indígenas, sino también entre los habitantes de las grandes ciudades modernas del país que aprecian sus propiedades curativas. En la actualidad el conocimiento ancestral sobre el uso de las plantas medicinales se está perdiendo por la implementación de nuevas tecnologías que facilitan la síntesis química de nuevos fármacos.<sup>(10)</sup> En Ecuador estas plantas son utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas las infecciosas. Con el fin de garantizar la seguridad y eficacia del uso de las plantas nativas se han estado realizando estudios que evalúen sus propiedades y entre ellas la actividad antimicrobiana.<sup>(4)</sup>

Por lo antes expuesto el **objetivo** de la presente investigación es evaluar la actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Melissa officinalis* (Toronjil) sobre *Proteus* spp.

## MÉTODOS

Se realizó una investigación aplicada desarrollada en tres etapas: en la primera etapa se obtuvo el extracto hidroalcohólico de las hojas y se evaluaron parámetros de calidad, seguidamente en una segunda etapa se caracterizó dicho extracto desde el punto de vista fitoquímico y en la tercera etapa se realizó la evaluación del efecto antimicrobiano del extracto. La obtención del extracto hidroalcohólico, su caracterización fisicoquímica y fitoquímica y la evaluación de la actividad antimicrobiana se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Estatal Amazónica (UEA).

### **Etapas 1. Obtención del extracto hidroalcohólico de *Melissa Officinalis* (Toronjil) y evaluación de su calidad.**

Una vez realizada la correcta identificación botánica de la especie se procedió a la obtención de extracto hidroalcohólico de sus hojas, para lo cual se seleccionaron las que se encontraban en buen estado, se lavaron con agua potable corriente, posteriormente se utilizó la técnica de inmersión en agua potable (varias veces), luego se sumergió en disolución desinfectante de hipoclorito de sodio al 2 % por 5 minutos y finalmente se dejó reposar en papel de empaque para eliminar el exceso de agua.

Las hojas fueron troceadas, secadas y trituradas para obtener una cantidad de 5 g de sólido pulverulento, posteriormente se procedió a su extracción mediante el método de maceración con agua: alcohol en una proporción 70:30 por un tiempo de 15 días. Se agitó esporádicamente por un período de 5 días en recipiente cerrado. Finalizado el proceso se decantó el líquido y se filtró a través de un papel de filtro con el uso de una bomba de vacío y un embudo Buchner.

Primeramente, se determinaron las características organolépticas:

**Olor:** Se introdujo un extremo de una tira de papel filtro de 1 x10 cm en el extracto, se percibió y determinó el olor.

**Color:** En tubo de ensayo se colocó extracto hasta cubrir la base de este y se observó el color.

**Aspecto:** En un tubo de ensayo se colocó una alícuota de extracto y a contraluz se determinó el aspecto de este, su transparencia y la presencia o no de partículas o de fases.

A continuación, se realizó la evaluación de la calidad del extracto obtenido mediante los siguientes parámetros físico y físico químicos:

**Densidad Relativa.** Para ello se pesó el picnómetro vacío y lleno con el extracto, se lo mantuvo a temperatura de 25 °C (±1 °C) durante 15 min. La densidad relativa a 25 °C se calculó por la fórmula [1].

$$D = \frac{P_m - P}{V} \quad [1]$$

Donde:

Pm: peso del picnómetro más la muestra (g)

P: peso del picnómetro vacío (g)

V: volumen usado del extracto (mL)

Índice de Refracción. Se ajustó el refractómetro con agua destilada, se colocó una gota de la muestra sobre el prisma de medición, se cerró el termo prisma y se enfocó la luz por medio del espejo de modo tal que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma. Se realizaron tres lecturas y se calculó el promedio de estas.

pH. Se midió a través de un potenciómetro con tres réplicas cada medición.

### Etapa 2. Análisis fitoquímico.

Este análisis permitió identificar la presencia de determinados grupos de compuestos mediante la formación de precipitados, coloraciones, etc. Los ensayos aplicados se mencionan a continuación:

Ensayo de Dragendorff (Alcaloides)

Ensayo de Lieberman-Buchard (Terpenos y/o Esteroides)

Ensayo de Espuma (Saponinas)

Ensayo De Shinoda (Flavonoides)

Ensayo de Hidróxido de sodio (Quinonas)

Ensayo del Cloruro Férrico (Fenoles)

Ensayo del Ácido Sulfúrico (Auronas y Chalconas)

### Etapa 3. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto

Se llevó a cabo mediante el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), para lo cual se prepararon los medios de cultivo con agar Mueller Hinton. Se reactivaron las cepas de *Proteus* spp en caldo cerebro corazón por 24 horas a 37 °C para lo cual se procedió a sembrar la cepa en el medio mencionado a una concentración de 0.5 McFarland. Se utilizó como referencia el ciprofloxacino (control positivo) y agua destilada (control negativo). Se colocaron con una pinza los discos esterilizados del estándar, antibiótico y cuatro discos impregnados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Melissa officinalis* a diferentes concentraciones (25, 50, 75 y 100 %); se incubó a 37 °C por 24 horas. Finalmente se observó la presencia del halo de inhibición y se midieron incluyendo el diámetro de los discos.

## RESULTADOS

### Etapa 1. Obtención del extracto hidroalcohólico de *Melissa Officinalis* (Toronjil) y evaluación de su calidad.

Tabla 1. Características organolépticas y fisicoquímicas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Melissa officinalis* (Toronjil).

Parámetros	Resultados
Color	Verde oscuro
Olor	Aromático
Sabor	Dulce
Aspecto	Pegajoso
Densidad	0,98 g/mL
pH	5,5
Índice de refracción	1,3418

**Etapa 2. Análisis fitoquímico.****Tabla 2.** Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Melissa officinalis* (Toronjil).  
(+++): alta evidencia, (++): evidencia, (+): baja evidencia, (-): sin evidencia

Metabolito secundario	Resultado
Quinonas	(+)
Alcaloides	(++)
Chalconas; Auronas	(+++)
Saponinas	(++)
Compuestos Fenólicos	(+)
Flavonoides	(++)
Compuestos Esteroides	(-)

**Etapa 3. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto****Tabla 3.** Halos de inhibición (mm) a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas *Melissa officinalis* (Toronjil).

Réplicas	25 %	50 %	75 %	100 %	Ciprofloxacino
1	13	15	18	20	20
2	13	14	17	21	21
3	12	15	18	20	21
Media ( $\bar{X}$ )	13	15	18	20	21

**DISCUSIÓN**

La medicina tradicional según la OMS también llamada "complementaria" o "alternativa" se utilizan para "referirse a un amplio grupo de prácticas sanitarias que no forman parte de la tradición de un propio país, o no están integradas en su sistema sanitario prevaleciente". En este criterio de medicinas alternativas se incluyen dos tipos: la quiropráctica que se basa en tratamientos manuales que incluyen ajustes de huesos, articulaciones y tejidos blandos y la herbolaria que es el uso de plantas medicinales con fines terapéuticos curativos o preventivos.<sup>(12)</sup>

Sharapin en el 2017, menciona que el método más empleado para la elaboración de los extractos de las plantas medicinales es la maceración, utilizado como método de extracción en práctica de campo en productos naturales.<sup>(7)</sup>

Azuero, A et al,<sup>(2)</sup> refleja en su estudio que los ejemplares de las especies vegetales *Lippia citriodora* K (cedrón), *Ambrosia artemisifolia* L (altamisa), *Taraxacum officinale* Weber (diente de león), *Ageratum conyzoides* L (mastrante), *Piper carpunya* Ruiz & Pav (guaviduca), *Borago officinalis* L (borraja), *Coriandrum sativum* L (cilantro), *Melissa officinalis* L (toronjil), *Cymbopogon citratus* S (hierba luisa), *Artemisia absinthium* L (ajenjo), *Momordica charantia* L (achochilla) y *Moringa oleífera* Lam (moringa) se recolectaron al azar en las localidades de Machala y Santa Rosa, Ecuador.

Las hojas fueron lavadas, secadas, molidas y extraídas por maceración con metanol; los filtrados concentrados por evaporación a presión reducida. Para determinar la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos obtenidos, se utilizó la técnica de difusión en agar, mediante la cual éstos se probaron frente a cepas de bacterias Gram positiva (*Staphylococcus aureus*) y Gram negativa (*Escherichia coli* y *P. aeruginosa*), y una cepa del hongo (*Candida albicans*). Todos los extractos analizados, a excepción de los de *L. citriodora* y *A. conyzoides*, exhibieron una acción bactericida contra todas las cepas bacterianas ensayadas, lo cual refleja la importancia de estas especies en la producción de fitofármacos antibióticos.

Villanueva-Solis I,<sup>(1)</sup> aprecia en su estudio que la mayor cantidad de uso de plantas medicinales, está ligado a la distancia en donde se localizan estos sitios de las urbes más cercanas, así Plomosa que se encuentra a 141.6 km de Actopan y a 3 hrs de distancia de esta cabecera municipal, se mencionan 126 especies de plantas medicinales, seguida del municipio de Nicolás Flores localizado a 96.8 km de Actopan y 2:21 hrs de camino con 110 especies medicinales y el municipio de Huasca de Ocampo con 94 especies usadas para padecimientos cuya localidad se encuentra a 73 km de Actopan y 1:30 hrs de recorrido.

El intervalo de pH para extractos de plantas medicinales va desde 5,26 - 6,26; la densidad relativa suele oscilar entre 0,9628 - 1,0689 g/cm<sup>3</sup> y el índice de refracción en el intervalo 1,3340 - 1,3450.<sup>(8)</sup> En el presente trabajo todos los parámetros se encuentran en los intervalos indicados, por lo que cumple con los parámetros recomendados para el control de calidad de extractos de plantas medicinales.

El extracto de las hojas de *Melissa officinalis* tenía la presencia de polifenoles, citaron la presencia de alcaloides y flavonoides, lo cual coincide con los resultados del análisis fitoquímico de esta investigación. El aceite volátil (0,1-0,2 %) de la planta se compone principalmente de neral y geranial, junto con pequeñas cantidades de terpenos y óxido de cariofileno. La planta también contiene flavonoides, incluyendo cimarósido, cosmosiina, ramnocitrina e isoquecitrina, ácidos triterpénicos, incluyendo ácido ursólico, ácido rosmarico y glucósidos de los componentes fenólicos o alcohólicos.<sup>(10)</sup>

Las hojas son la parte de las plantas más utilizadas para contrarrestar diferentes enfermedades, ya que se encuentra la mayor cantidad de metabolitos secundarios con actividad biológica. En ese sentido, los habitantes conocen la parte específica de la planta que tiene que utilizar para tratar una determinada afección y asegurar un buen resultado en el tratamiento; esto es debido a la facilidad que presentan las partes blandas de la planta como las hojas, tallo, flores ya que su utilización es a través de técnicas sencillas que no implican mayores tecnologías ni inversión.<sup>(10)</sup>

Las diferencias encontradas entre los resultados obtenidos y lo reportado en la bibliografía consultada pueden ser consecuencia de una serie de factores que influyen en la composición química de los extractos, así como la edad de la planta, el lugar geográfico y las condiciones ecológicas, entre otras. Es importante señalar que los metabolitos identificados en el extracto hidroalcohólico de la planta en estudio poseen actividad antimicrobiana, según se describe en literatura especializada, lo cual justifica la evaluación de su actividad antimicrobiana.<sup>(9)</sup> Lema Aucacama AP,<sup>(10)</sup> demuestra en su estudio que el *Proteus* spp es sensible a mayores concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Melissa officinalis*.

La actividad bactericida y antifúngica de estas sustancias está estrechamente relacionada con los fenoles y monoterpenos que poseen, debido a que son capaces de tener una interacción directa con el citoplasma del patógeno o bien, gracias a su hidrofobicidad, pueden incorporarse a los lípidos de la membrana celular bacteriana, en donde ocurre una fuga de iones y otros compuestos de la bacteria.<sup>(13)</sup>

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Melissa officinalis* (Toronjil) frente a *Proteus* spp se utilizó el ciprofloxacino como control positivo ya que tiene un espectro amplio de actividad tanto para bacterias Gram positivas y Gram negativas.<sup>(9)</sup> Con los datos obtenidos en esta investigación se puede evidenciar la sensibilidad que *Proteus* spp presenta frente al extracto hidroalcohólico siendo así que a concentraciones de 75 % ( $\bar{X}=18$  mm) y 100% ( $\bar{X}=20$  mm), por tanto, presenta una adecuada sensibilidad con respecto al ciprofloxacino. *Proteus* spp. presentó mayor sensibilidad a mayores concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Melissa officinalis*, lo cual indica que dicho extracto puede convertirse en candidato para el desarrollo de medicamentos antimicrobianos y pueden ser útiles para nuevas bacterias de interés médico.

En un estudio realizado sobre plantas medicinales en el Ecuador y para qué sirven, menciona que las plantas naturales han tomado más importancia en la actualidad. Desde hace siglos, las comunidades y pueblos ancestrales encontraron en la tierra sus "farmacias" naturales. En el Ecuador cada vez son más, las personas que cosechan sus propios ejemplares, ya sea para tratar enfermedades o curar dolencias.<sup>(4)</sup>

## CONCLUSIONES

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Melissa officinalis* presento valores adecuados de parámetros físico - químicos y características organolépticas. El estudio fitoquímico arrojó la presencia de metabolitos con potencial actividad antimicrobiana. La actividad antimicrobiana "In vitro" del extracto hidroalcohólico a partir de las hojas de *Melissa officinalis* (Toronjil) a las concentraciones de 75 % y 100 %, frente a *Proteus* spp, resultó comparable con ciprofloxacino.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Villanueva-Solis I., Arreguín-Sánchez M. L., Quiroz-García D. L., Fernández-Nava R.. Plantas medicinales que se comercializan en el mercado 8 de julio y uno tradicional, ambos localizados en el Centro de Actopan, Hidalgo, México. *Polibotánica* [Internet]. 2020 [citado 2023 Oct 29] ; ( 50 ): 209-243. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-27682020000200209&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682020000200209&lng=es).
2. Azuero, A., Jaramillo Jaramillo, C., San Martin, D., & D'Armas Regnault, H. (2016). Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. *CIENCIA UNEMI*, [Internet]. 2016 [citado 2023 Oct 29] ; 9(20), 11-18. Disponible en: <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol9iss20.2016pp11-18p>
3. Tabakián, G. Etnomedicina y Etnobotánica en el departamento de Tacuarembó, Uruguay. *Rev Uru de Antro y Etnog*, [Internet]. 2017 [citado 2023 Oct 29] ; 2(2), 61-72. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.29112/2.2.4>
4. Morales, F., Padilla, S., & Falconí, F. (2017). Plantas medicinales utilizadas en Medicina Herbaria Tradicional en la provincia de Chimborazo, Ecuador. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 14(1), 10-15.



5. Villanueva-Solis I., Arreguín-Sánchez M. L., Quiroz-García D. L., Fernández-Nava R.. Plantas medicinales que se comercializan en el mercado 8 de julio y uno tradicional, ambos localizados en el Centro de Actopan, Hidalgo, México. Polibotánica [Internet]. 2020 [citado 2023 Oct 29] ; ( 50 ): 209-243. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-27682020000200209&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682020000200209&lng=es).
6. Mosquera Wilmer Giovanni, Criado Libeth Yajaira, Guerra Beatriz Elena. Actividad antimicrobiana de hongos endófitos de las plantas medicinales *Mammea americana* (Calophyllaceae) y *Moringa oleifera* (Moringaceae). Biomédica [Internet]. 2020 Mar [cited 2023 Oct 29] ; 40( 1 ): 55-71. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-41572020000100055&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572020000100055&lng=en).
7. Sharapin, N., Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. hospitales [Internet]. 2017 Marzo. [citado: 2018 Febrero 19]; 30(3): 169-176. Disponible en: <https://shawellnessclinic.com/es/shamagazine/uso-de-las-plantas-medicinales/>
8. Feitosa Alves Vanessa, Dantas Figueiredo Rebeca, Wanderley Cavalcanti Yuri, Nascimento Padilha Wilton Wilney. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais indicadas para uso no Sistema Único de Saúde. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2019 Dic [citado 2023 Oct 29] ; 56( 4 ): e1159. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75072019000400001&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072019000400001&lng=es).
9. Velasco Garcia Wendy Johanna, Pabón Baquero Ludy C., Hernández-Rodríguez Patricia. Potencial antimicrobiano de extractos de plantas medicinales y sus mezclas frente a bacterias asociadas con conjuntivitis. Nova [Internet]. 2021 June [cited 2023 Oct 29] ; 19( 36 ): 95-108. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-24702021000100095&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702021000100095&lng=en).
10. Lema Aucacama AP. Evaluación de la actividad antimicrobiana “In vitro” del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Melissa officinalis* (toronjil) en *Proteus* spp. Uniandes. [Internet]. 2018 . [citado: 2023 Octubre 19]. Disponible en: <https://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/8752/1/PIUAMFCH012-2018.pdf>
11. Michajluk-Barboza B, Bazán D, Mereles L, Degen R, Alvarenga N. Caracterización física, análisis fitoquímico, huella digital cromatográfica, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana de los frutos de *Vitex megapotamica*. Rev Cub de Plan Medi [Internet]. 2019 [citado 29 Oct 2023]; 24 (1) Disponible en: <https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/743>
12. Ochoa-Pacheco A, Chill-Núñez I, Escalona-Arranz J, Dutok-Sánchez C, Molina-Bertrán S, Heredia-Díaz Y, García-Díaz J, González-Fernández R, Matos-Gámez Y. Contribución científica al uso racional de plantas medicinales que crecen en la región oriental de Cuba. **Anales de la Academia de Ciencias de Cuba** [Internet]. [citado 29 Oct 2023]; 9 (3) :[aprox. 672 p.]. Disponible en: <https://revistaccuba.sld.cu/index.php/revacc/article/view/672>
13. Montero-Recalde M, Morocho-Núñez MJ, Avilés-Esquivel D, Carrasco-Cando Á, Erazo-Gutierrez R. Antimicrobial efficacy of eucalyptus essential oil (*Eucalyptus* spp) on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* strains. Rev. investig. vet. Perú [Internet]. 2019 Abr [citado 2023 Oct 29] ; 30(2): 932-938. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172019000200042&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172019000200042&lng=es).