

Actividad antibacteriana del extracto de *Mentha arvensis* L. (menta japonesa), frente a cepas productoras de piodermitis

Antibacterial activity of extract of *Mentha arvensis* L. (field mint) against strains causing pyodermitis

Rosa María González Hernández^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-1758-1043>

Violeta Romero Martínez¹ <https://orcid.org/0000-0003-1171-866X>

Mercedes María Delgado¹ <https://orcid.org/0000-0002-2460-1375>

Yudit Martínez Abreu¹ <https://orcid.org/0000-0003-2386-0911>

Larberto Jorge González Hernández² <https://orcid.org/0000-0002-7327-2029>

¹Universidad de Ciencias Médicas de Matanzas. Cuba.

²Empresa de Laboratorios Biológicos y Farmacéuticos de La Habana (LABIOFAM). Cuba.

*Autor para la correspondencia: rosamgonzalez.mtz@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: Durante miles de años el hombre ha utilizado las plantas para curar enfermedades en su forma natural, para la elaboración de nuevos medicamentos, apoyado en el desarrollo de investigaciones farmacológicas. El incremento de las infecciones de etiología viral y la resistencia a los antimicrobianos convencionales conduce a la búsqueda de alternativas para su tratamiento. A la *Mentha arvensis* L. se le atribuyen propiedades analgésica, antiemética, antirreumática y antiséptica. No obstante, aún no se ha demostrado su actividad *in vitro* sobre cepas clínicas multirresistentes (penicilina, ampicilina, cefocitin, cefalexina), productoras de infecciones bacterianas en la piel.

Objetivo: Evaluar la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida del extracto de *Mentha arvensis* L. (menta japonesa) frente a cepas productoras de infecciones bacterianas de la piel.

Métodos: Se obtuvo el extracto fluido por el método de repercolación. Se determinó la concentración mínima inhibitoria y bactericida frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de lesiones de piel, mediante el método de macrodilución en tubo. Los grupos de metabolitos

secundarios responsables de la actividad antibacteriana se determinaron mediante un Screening fitoquímico cualitativo.

Resultados: El *Screening* fitoquímico indicó presencia de cumarinas, flavonoides, taninos y terpenos (todos metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana). La concentración mínima inhibitoria y la bactericida del extracto de *Mentha arvensis* L. (menta japonesa) frente a *Staphylococcus aureus* se obtuvo a 12,5 µl/ml en ambos casos. En el caso de *Pseudomonas aeruginosa* a 12,5µl/ml y 50 µl/ml, respectivamente.

Conclusiones: Se evidenció la presencia de terpenoides, flavonoides y cumarinas. Mostró actividad antibacteriana sobre cepas salvajes de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Al mismo tiempo se propone la utilización de cepas de referencias como forma comparativa y de profundización en futuras investigaciones.

Palabras clave: antimicrobianos naturales; sensibilidad microbiana; extractos vegetales; *Mentha arvensis* L.; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*; piodermitis; concentración mínima inhibitoria; concentración mínima bactericida.

ABSTRACT

Introduction: Use of plants to cure disease dates back to thousands of years ago. Plants have been used either in their natural form or to develop new drugs with the support of results obtained by pharmacological research. Increase in the incidence of infections of viral etiology and resistance to conventional antimicrobials have led to the search for new treatment alternatives. *Mentha arvensis* L. has been attributed analgesic, antiemetic, antirheumatic and antiseptic properties. However, no evidence is available of its in vitro activity against multiresistant clinical strains (penicillin, ampicillin, cefoxitin, cefalexin) causing bacterial skin infection.

Objective: Evaluate the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of an extract of *Mentha arvensis* L. (field mint) against strains causing bacterial skin infection.

Methods: The fluid extract was obtained by repercolation. Determination was made of the minimum inhibitory and bactericidal concentration against strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from skin lesions, using the tube macrodilution method. The groups of secondary metabolites responsible for antibacterial activity were determined by qualitative phytochemical screening.

Results: Phytochemical screening revealed the presence of coumarins, flavonoids, tannins and terpenes, all of which are secondary metabolites responsible for antibacterial activity. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of *Mentha arvensis* L. (field mint) were 12.5 µl/ml and 12.5 µl/ml, respectively, against *Staphylococcus aureus*, and 12.5 µl/ml and 50 µl/ml, respectively, against *Pseudomonas aeruginosa*.

Conclusions: Evidence was found of the presence of terpenoids, flavonoids and coumarins. The study extract displayed antibacterial activity against wild strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. It is recommended to use ATCC strains for comparison and to gain insight in future research.

Keywords: natural antimicrobials; microbial sensitivity; plant extracts; *Mentha arvensis* L.; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*; pyodermitis.

Recibido: 14/05/2021

Aprobado: 23/08/2021

Introducción

Durante miles de años el hombre ha utilizado las plantas para curar enfermedades en su forma natural o para el desarrollo de nuevos medicamentos apoyado en el avance de investigaciones farmacológicas. En la actualidad un gran grupo de medicamentos y sus derivados provienen de las plantas. Los productos naturales tienen un impacto considerable en la medicina humana, ya que existe un interés creciente en el empleo de aquellos con origen vegetal. Los productos herbolarios tienen menor toxicidad y alta eficacia en comparación con los medicamentos sintéticos.^(1,2)

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en base a las farmacopeas de 91 países, el número de plantas empleadas en medicina es de alrededor de 20 mil especies. El 80 % de las personas en los países en desarrollo utilizan las plantas medicinales con fines curativos y como condimentos.^(3,4)

La familia *Lamiaceae* la componen especies como la *Mentha arvensis* (menta japonesa), la *Ocimum spp.* (albahaca), la *Rosmarinus officinalis* (romero) y la *Thymus spp.* (tomillo). Dentro de sus propiedades se destacan su valor medicinal y su manejo como condimentos culinarios. A esta familia pertenecen 236 géneros y cerca de 7280 especies distribuidas en todo el mundo.⁽⁵⁾ Se caracterizan por su alto contenido en polifenoles, ácido oleanólico, flavonoides, cumarinas, terpenos y aceites esenciales (AE). Este último, de gran interés desde el punto de vista etnobotánico, fitoquímico, farmacológico y terapéutico.

El AE de *Mentha arvensis* L. tiene grandes contenidos de polifenoles, sesquiterpenos, ácido cafeínico, ácido glicocídico, limoneno, eucalipto, ácido cinámico, ácido ferúlico, ácido oleanólico, ácido cafeico y su derivado ácido caftárico.^(6,7,8,9,10,11,12,13,14) Desde el punto de vista etnomédico, se le atribuyen efectos farmacológicos como analgésico, antibacteriano, antioxidante, sedativo, digestivo, carminativa, diurética, diaforética, antiséptica, antiviral,

antiespasmódica, colagoga, tónico, estimulante y excitante. En dosis elevadas, se dice que puede ser afrodisíaca y emenagoga. El té de sus hojas también se usa como antídoto para algunos venenos.^(4,15,16,17)

El creciente aumento de la resistencia de las bacterias frente a los fármacos antimicrobianos constituye un problema para los sistemas de salud. De igual forma, se aprecia su efecto en la economía al aumentar los costos de la atención médica. Las recidivas en las afecciones bacterianas de piel, tan frecuentes en los últimos años, demandan la búsqueda de nuevos bactericidas que contribuyan a la mejora de la calidad de vida de pacientes afectados con este tipo de infecciones.

Durante los últimos años, se estudian las actividades antimicrobianas, antifúngicas, antisépticas y antiparasitarias de los aceites esenciales y extractos de diferentes especies de menta contra bacterias gram-negativas y gram-positivas. También se proponen como aditivo alimentario.⁽¹⁸⁾ Existen evidencias de la susceptibilidad antibacteriana *in vitro* de extractos de esta planta sobre cepas clínicas multirresistentes productoras de infección bacteriana en la piel sobre cepas de referencia. Su acción sobre cepas salvajes se encuentra menos estudiada y la evidencia en este sentido es escasa.

En Cuba las afecciones de la piel son frecuentes, así como la resistencia farmacológica para su tratamiento. El fácil cultivo y la adecuada disponibilidad de *Mentha arvensis* L. la convierten una buena opción terapéutica. Por ello esta investigación se centra en evaluar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto de la menta japonesa frente a las cepas *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, productoras de infecciones bacterianas de la piel.

Métodos

Recolección y secado de la planta

La planta fue suministrada por la UEB “Granja Urbana” de la provincia de Matanzas, empresa destinada al suministro de plantas medicinales para el Sistema de Salud del territorio. Muestras de la planta fueron clasificadas en el Departamento de Botánica y Sistemática de la Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos”, según los textos de Arthur Cronquist (1984). Se utilizó el follaje y se secó a la sombra siguiendo el método tradicional para su procesamiento.

Selección y preparación del material vegetal

El material vegetal se clasificó según la Norma Ramal de Salud Pública 309 del Ministerio de Salud Pública de Cuba y se eliminaron las partes que no cumplieron con las condiciones óptimas para su utilización en el estudio.⁽¹⁹⁾ Posteriormente,

se pulverizó la droga seca con un molino eléctrico (marca IKA basic con cabezal de molienda MF10.1, Alemania), para obtener un tamaño de partícula de 2,0 mm.

Obtención del extracto fluido

Para la obtención del extracto fluido se utilizó el método de reperlación. Se humectaron con menstuo 2 kg de la droga seca molinada la cual se dejó en reposo durante 4 horas. Seguidamente, se vertió menstuo hasta cubrir toda la masa. Se maceró y se extrajo un volumen de 850 mL. Después de cambiar el recipiente colector y con el volumen de menstuo, se realizó una extracción de 1 l. Este último estuvo macerándose por 24 horas y posteriormente se filtró. El proceso de adición y extracción se repitió hasta obtener el volumen deseado.

Microorganismos

Se emplearon cepas salvajes de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*, pertenecientes a lesiones de piel y proporcionadas por el Departamento de Bacteriología del Hospital General Docente “Faustino Pérez” Matanzas, Cuba. Estas se conservaron en agar nutriente (BioCen) y se sembraron en medio agar Mueller Hinton (BioCen), mediante la técnica de agotamiento de la muestra por estría en placas de petri servidas con un espesor de agar de 20 a 25 ml e incubadas durante 18 a 24 h a 37 °C. Después de la incubación, se tomaron de 2 a 5 colonias de formas similares con ayuda de un escobillón estéril y se suspendieron las bacterias en una disolución de NaCl al 0,85 % hasta alcanzar una turbidez cualitativamente comparable con el patrón 0,5 de Mcfarland (10⁶ células/ml).

Screening fitoquímico

Para el estudio fitoquímico del extracto, se determinó la presencia de flavonoides (Ensayo de Shinoda), cumarinas (Ensayo de Baljet) y terpenoides (Ensayo de Liberman-Buchard). Estos análisis se realizaron por triplicado.

Interpretación de resultados: La evaluación se realizó mediante un sistema no paramétrico de cruces en el cual: (+++) significó presencia cuantiosa del metabolito, (++) indicó presencia notable, (+) presencia leve y (-) cuando estuvo ausente.

Evaluación de la actividad antibacteriana

Para la evaluación de la actividad antibacteriana se realizaron diluciones dobles seriadas, mediante el método de macrodilución en tubo según *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*.⁽²⁰⁾ Se aplicaron algunas modificaciones, con medio de cultivo líquido (caldo nutriente), a los cuales se le adicionó el extracto a diferentes concentraciones (100 µl, 50 µl, 25 µl, 12,5 µl, 6,25 µl, 3,1 µl). El control positivo contenía medio de cultivo, extracto y la bacteria, mientras que el control

negativo contenía medio de cultivo más el extracto. Estos tubos se incubaron durante 24 horas a una temperatura de 37 °C. Pasado este tiempo, se observó la presencia de turbidez en cada tubo. Con posterioridad, se hizo un subcultivo con 100 µL de cada tubo en placas que contenía agar Mueller Hilton, utilizando una espátula de grygalky. Estas, se incubaron durante 24 horas a una temperatura de 37 °C. Los análisis se realizaron por triplicado.

Interpretación de los resultados

Concentración mínima inhibitoria (CMI): Se interpreta como la menor concentración que es capaz de inhibir el crecimiento bacteriano en 24 horas de incubación. Se determinó mediante la observación del crecimiento bacteriano en las placas y su comparación con el control positivo.

Concentración mínima bactericida (CMB): Determina la concentración mínima de antimicrobiano que elimina a más del 99,9 % de los microorganismos viables después de 24 h de incubación. Se utilizó un sistema de cruces para determinar de forma visual la actividad bactericida [crecimiento bacteriano de (+) y (++), y no crecimiento bacteriano aparente (-)].

Resultados

Screening fitoquímico

La tabla 1 muestra el resultado del análisis fitoquímico del extracto fluido de *Menta arvensis*.

Tabla 1. Resultado del análisis fitoquímico del extracto fluido de *Menta arvensis*

Metabolitos secundarios	Método	Resultado
Flavonoides	Ensayo de Shinoda	++
Terpenoides	Lieberman-Buchard	+++
Cumarinas	Ensayo de Baljet	+++

Fuente: Procedimiento descrito por Díaz-Solares, *et al.* (2015).⁽²¹⁾

Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana obtenida se muestra a través de la CMI (Tabla 2) y la CMB (Tabla 3).

Tabla 2. Efecto bacteriostático (CMI) del extracto de *Menta arvensis* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* en 24 horas

Efecto bacteriostático	100 µl/ml	50 µl/ml	25 µl/ml	12,5 µl/ml	6,25 µl/ml	3,1 µl/ml	Control +	Control -
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	+	++	+++	+++	-

<i>Pseudomona aeruginosa</i>	-	-	+	+	++	+++	+++	-
------------------------------	---	---	---	---	----	-----	-----	---

Fuente: Resultados propios obtenidos en la investigación

El efecto bacteriostático (CMI) correspondió a la dilución (12,5 µl/ml), frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*.

Tabla 3. Efecto bactericida (CMB) del extracto de *Mentha arvensis* L. frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* en 24 horas

Efecto bactericida	100 µl/ml	50 µl/ml	25 µl/ml	12,5 µl/ml	6,25 µl/ml	3,1 µl/ml	Control +	Control -
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	++	++	++	-
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	-	-	+	+	+	+	++	-

Fuente: Resultados propios obtenidos en la investigación.

El efecto bactericida (CMB) correspondió a la dilución (12,5 µl/ml), para las cepas de *Staphylococcus aureus* y a la dilución (50 µl/ml), frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Discusión

Ensayos realizados por *Feitosa Alves* y otros,⁽²²⁾ constataron que la *Mentha piperita* presenta su actividad antimicrobiana en especial por la presencia de monoterpenos oxigenados en su composición química. Su investigación indica, además, que el extracto de menta es capaz de causar efectividad inhibitoria contra bacterias tales como *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Aspergillus flavus*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton longifusus*, *Microsporium canis* y *Mucor ramamnianus* Zuni.⁽²³⁾ En su estudio, evidencia la actividad antibacteriana en los extractos de agua de hoja y aceite esencial de *Mentha piperita*, frente a bacterias patógenas como *Bacillus subtilis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*.

Resultados obtenidos por *Horvath*⁽²⁴⁾ muestran que el aceite esencial de *Mentha spicata* var. *crispa* inhibió el crecimiento de bacterias, incluso a una concentración del 0,125 %. La *Mentha arvensis* L. tuvo el efecto más fuerte sobre la biopelícula que forma estafilococos también a esta baja concentración. Otros autores exhiben resultados donde los aceites esenciales de diferentes especies de mentas presentan actividad antibacteriana contra bacterias gram-negativas y gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcesens* y *Streptococcus*.^(13,24) Estudios importantes refieren de forma demostrativa que especies de mentas presentan una marcada actividad antibacteriana sobre cepas de *S. aureus*, *S.*

epidermidis, *E. coli*, lo que coincide con los resultados obtenidos sobre la susceptibilidad de la *Mentha arvensis* L.

Se determinó el efecto bacteriostático y bactericida del extracto de *Mentha arvensis* L. (menta japonesa), frente a cepas salvajes de *Staphylococcus aureus* y de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes aisladas de lesiones de piel.

A modo de conclusión podemos decir que los resultados de este estudio indicaron que este extracto puede ser utilizado como una fuente potencial de compuestos antimicrobianos naturales y una herramienta útil para la industria farmacéutica. Al mismo tiempo, se propone la utilización de cepas de referencias (ATCC), como forma comparativa y de profundización en esta temática, limitante que tuvimos en la presente investigación.

Referencias bibliográficas

1. Bouziane Z. Contribución al estudio etnobotánico de plantas medicinales en la región de Azail (Tlemcen-Algeria) [tesis de maestría]. Tlemcen: Departamento de Ecología y Medio Ambiente, Universidad Abou Bekr Belkaid de Tlemcen; 2017 [acceso: 17/05/2020]. Disponible en: <http://dspace.univ-tlemcen.dz/handle/112/12090>
2. Anwar F, Abbas A, Mehmood T, Gilani AH, Rehman N. Mentha: A genus rich in vital nutra-pharmaceuticals a review. *Phytother Res.* 2019;33(10):2548-70. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.6423>
3. Sevindik M. Pharmacological Properties of Mentha Species. *J Tradit Med Clin Natur.* 2018;7(1):259. DOI: <https://doi.org/10.4172/2573-4555.1000259>
4. Baban ST, Amol G, Jawarkar, Priyanka VK, Kirteebala PP, Mohan KK. Phytochemical and Pharmacological review of *Mentha arvensis*. *International Journal of Green Pharmacy.* 2016 [acceso: 17/05/2020];10(2):71-6. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/316256954_Phytochemical_and_pharmacological_review_of_Mentha_arvensis
5. Giovannina Orsini, Stephen Tillett. Delimitación taxonómica de las especies de *Mentha* (Lamiaceae) presentes en herbarios y herbolarios del norte y Andes de Venezuela. *Revista Facultad de Farmacia.* 2019 [acceso: 17/05/2020];82(1-2):11-26. Disponible en: <file:///C:/Users/use/AppData/Local/Temp/17060-144814486343-1-SM.pdf>

6. Cavar Zeljkovic S, Šišková J, Komzánková K, De Diego N, Kaffková K, Tarkowski P. Phenolic Compounds and Biological Activity of Selected *Mentha* Species. *Plants*. 2021;10:550. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10030550>
7. Wenqian Luo, Zhiyun Du, Yating Zheng, Xiaoxin Liang, Guomeng Huang, Qianhua Zhang, *et al.* Phytochemical composition and bioactivities of essential oils from six Lamiaceae species. *Industrial Crops and Products*. 2019 [acceso: 17/05/2020];133:357-64. Disponible en: <https://www.researchwithrutgers.com/en/publications/phytochemical-composition-and-bioactivities-of-essential-oils-fro>
8. Karmen Kapp, Tõnu Püssa, Anne Orav, Mati Roasto, Ain Raal, Pia Vuorela, *et al.* Chemical Composition and Antibacterial Effect of *Mentha* spp. Grown in Estonia *Natural Product Communications*. 2020 [acceso: 17/05/2020];15(12). Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X20977615>
9. Seifshandi M, Mehrafarin A, Khalighi F, Sharifi M, Naghdibadi H. Review on Anatomical, Phytochemical and Pharmacological Properties of Peppermint (*Mentha piperita* L.). *J Med Plants*. 2019 [acceso: 17/05/2020];18(69):16-33. Disponible en: <http://jmp.ir/article-1-2356-en.html>
10. Venditti A, Frezza C, Celona D, Sciubba F, Foddai S, Delfin M, *et al.* Phytochemical comparison with quantitative analysis between two flower phenotypes of *Mentha aquatica* L.: pinkviolet and white. *AIMS Mol Sci*. 2017 [acceso: 17/05/2020];4(3):288-300. Disponible en: <https://www.aimspress.com/fileOther/PDF/Molecular/MolSci-04-00288.pdf>
11. Pérez-González C, Pérez-Ramos J, Méndez-Cuesta C A, Serrano-Vega R, Martell-Mendoza M, Pérez-Gutiérrez S. Cytotoxic Activity of Essential Oils of Some Species from Lamiaceae Family. *Intech Open*. 2019 [acceso: 17/05/2020]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/books/cytotoxicity-definition-identification-and-cytotoxic-compounds/cytotoxic-activity-of-essential-oils-of-some-species-from-lamiaceae-family>
12. Wu Z, Tan B, Liu Y, Dunn J, Guerola PM, Tortajada M, *et al.* Chemical Composition and Antioxidant Properties of Essential Oils from Peppermint, Native Spearmint and Scotch Spearmint. *Molecules*. 2019 [acceso: 17/05/2020];(24):2825. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6696458/pdf/molecules-24-02825.pdf>
13. Alexa E, Danciu C, Radulov I, Obistoiu D, Sumalan RM, Morar A, *et al.* Phytochemical *Screening* and Biological Activity of *Mentha piperita* L. and

Lavandula angustifolia Mill. Extracts. Anal Cell Pathol (Amst). 2018;10:2678924. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/2678924>

14. Tafrihi M, Imran M, Tu-fail T, Gondal TA, Caruso G, Sharma S, *et al.* The Wonderful Activities of the Genus Mentha: Not Only Antioxi-dant Properties. Molecules. 2021;26:1118. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26041118>

15. Sevindik M. Pharmacological Properties of Mentha Species. J Tradit Med Clin Natur. 2018;7:259. DOI: <https://doi.org/10.4172/2573-4555.1000259>

16. Bucay Morocho LC. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de mentha frente a *Candida albicans* [tesis]. 2018. Disponible en: <https://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/8795/1/PIUAMFCH027-2018.pdf>

17. Menta Japonesa: beneficios, usos y sus propiedades. Formulario Nacional de Medicamentos. Directorio Cubano. La Habana: Ecimed. 2021 [acceso: 17/05/2020]. Disponible en: <https://www.directoriocubano.info/plantas-medicinales/menta-japonesa-beneficios-usos-y-sus-propiedades/>

18. Filai FR, Bouldra M, Zekkori B, Bouymaje A, Moukarad N, Benhalla, F, *et al.* Application of menthe suaveolens essential oil as an antimicrobial lagent in fresh turkey sausages. J Appl Biol & Biotechnol. 2018 [acceso: 17/05/2020];6:7-12. Disponible en: https://www.jabonline.in/admin/php/uploads/248_pdf.pdf

19. Ministerio de Salud Pública. NRSP No. 309. Medicamentos de origen vegetal: droga cruda. Métodos de ensayos. MINSAP. 1992 [acceso: 17/05/2020]. Disponible en: <http://repositorio.geotech.cu/jspui/bitstream/1234/2285/9/Plantas%20Medicinal es%20bases%20para%20su%20producci%C3%B3n%20sostenible%20170-192%20Anexos.pdf>

20. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI. 2017 [acceso: 17/05/2020]; Disponible en: <https://file.qums.ac.ir/repository/mmrc/clsi%202017.pdf>

21. Díaz Solares M, Cazaña Martínez Y, Pérez Hernández Y, Valdivia Ávila A, Prieto Abreu M, Lugo Morales Y. Evaluación cualitativa de metabolitos secundarios en extractos de variedades e híbridos de *Morus alba* L. (morera). Rev Cubana Plant Med. 2015 [acceso: 02/08/2020];20(3):[aprox.0p.]. Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/220>

22. Feitosa Alves V, Dantas Figueiredo R, Wanderley Cavalcanti Y. Actividad antimicrobiana de las plantas medicinales en el Sistema Único de Salud. Rev Cubana Estomatología. 2020 [acceso: 17/05/2020];56(4):1-17. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-5072019000400001&lang=pt%0Ahttp://scielo.sld.cu/pdf/est/v56n4/1561-297X-est56-04-e1159.pdf

23. Zuni Jhonny B, Mamani Z. Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de menta al 25, 50 y 100 % frente a las cepas de *porphyromonas gingivalis*. Estudio *in vitro*. [tesis]. Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Biología: Universidad Nacional del Altiplano. 2017 [acceso: 17/05/2020]. Disponible en: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4194/Zuni_Mamani_Jhonny.pdf?sequence=1&isAllowed=y

24. Horváth P, Koščová J. In vitro antibacterial activity of menthe essential oils against *staphylococcus aureus*. Folia Veterinaria. 2017 [acceso: 17/05/2020];(3):71-7. Disponible en: <https://sciendo.com/downloadpdf/journals/fv/61/3/article-p71.pdf>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

Contribución de los autores

Rosa María González Hernández: Diseño y coordinación de los experimentos microbiológicos y escritura del artículo.

Violeta Romero Martínez: Obtención de extractos y ejecución de pruebas.

Mercedes Delgado Sánchez: Recogida y análisis de la información.

Yudit Martínez Abreu: Revisión y ordenamiento de la bibliografía.

Larberto Jorge González Hernández: Revisión y correcciones del artículo.