

Actividad antimicrobiana de *Waltheria indica* y *Acacia farnesiana*.

Nidia M. Rojas Hernández, Senovio Avellaneda Saucedo, Armando Cuéllar Cuéllar,* Beatriz Romeu Álvarez y Daysi Lugo Moya.

Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de la Habana, calle 25 entre calles I y J, El Vedado, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana. Correo electrónico: nidia.rojas@infomed.sld.cu. *Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 30 de abril de 2008.

Aceptado: 27 de noviembre de 2008.

Palabras clave: *Acacia farnesiana* L., *Waltheria indica* L., actividad antimicrobiana, actividad antibacteriana, medicina tradicional.
Key words: *Acacia farnesiana* L., *Waltheria indica* L., antibacterial activity, antimicrobial activity, traditional medicine.

RESUMEN. Entre las plantas medicinales empleadas en Tierra Caliente, estado de Guerrero, México, se encuentran el Güinar (*Waltheria indica* L., Esterculiaceae) y el Huizache (*Acacia farnesiana* L. Willd, Mimosaceae). En ambas, la infusión de la raíz se usa popularmente para las diarreas. Con la finalidad de validar las propiedades que se les atribuyen a estas especies vegetales, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos acuosos y etanólicos preparados con las raíces de ambas plantas. A estos extractos, se les determinó el rendimiento de sólidos solubles totales y se les realizó el análisis fitoquímico general. La actividad antimicrobiana se evaluó frente a 25 cultivos bacterianos, dos cepas de hongos filamentosos y 13 cepas de siete especies de levaduras del género *Candida*. En ambas plantas, los extractos etanólicos tuvieron mayor actividad que los acuosos. Los extractos etanólicos de estas especies vegetales afectaron el crecimiento de siete cepas bacterianas, lo cual correspondió al 28 % de los cultivos evaluados. Esta actividad fue bacteriostática y bactericida para los dos extractos, a los que se les determinaron las Concentraciones Mínimas Inhibitoria (CMI) y Bactericida (CMB) frente a los cultivos sensibles. Solo se detectó actividad antifúngica por el extracto de *W. indica* sobre la cepa de *C. utilis*. La acción sobre bacterias enteropatógenas *in vitro* valida el uso de estas plantas en medicina tradicional y reafirma la necesidad de estudios toxicológicos para asegurar la inocuidad de su uso.

ABSTRACT. Two of the medicinal plants used in Tierra Caliente, Guerrero State, Mexico, are Güinar (*Waltheria indica* L., Esterculiaceae) and Huizache (*Acacia farnesiana* L. Willd, Mimosaceae). The root infusion obtained from these plants has a popular use against gastrointestinal diseases, mainly against diarrheas. The goal of this work was to evaluate the antimicrobial activity *in vitro* of the water and ethanol extracts obtained from the roots of both plants, in order to confirm the traditional use of these species. Total soluble solids and a general phytochemical analysis of the extracts were determined. Furthermore, the antimicrobial activity was evaluated against 25 bacterial isolates, two strains of filamentous fungi and 13 isolates of seven species of *Candida*. For both plants, the ethanol extracts showed higher antimicrobial activity than the water extracts. Bacterial growth of seven strains was affected in ethanol extracts, which represents 28 % of the bacterial isolates evaluated. The ethanolic extract of *W. indica* had inhibitory activity against *C. utilis*. Some other antifungic activity was not found. For the isolates the minimal inhibitory concentration (MIC) and the minimal bactericidal concentration (MBC) of the extracts were determined. The *in vitro* action over enteropathogenic bacteria confirms the use of these plants in traditional medicine and supports the necessity of toxicology studies in screening tests.

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales constituyen una importante fuente en la búsqueda de nuevos compuestos con actividades farmacológicas a partir de productos naturales.^{1,2} Actualmente en el mundo se realizan diversos trabajos destinados a respaldar científicamente el uso empírico de las plantas en medicina natural, incluyendo su utilización con fines antimicrobianos.^{3,4}

México es uno de los países con mayor riqueza florística en el mundo, con una antigua tradición en el uso de plantas medicinales.⁵ El estado de Guerrero se encuen-

tra ubicado en la parte Sur de la República Mexicana y representa el 3,3 % de la superficie del país.⁶ La región Tierra Caliente ocupa el noroeste de este estado. Parte de su abundante y variada vegetación se emplea por sus pobladores para aliviar o curar sus enfermedades comunes, como diarreas, bronquitis, heridas etc.⁷ Sin embargo, existen muy pocos trabajos destinados a validar científicamente las propiedades que se les atribuyen en medicina tradicional a estas plantas. *Waltheria indica* L. (Esterculiaceae), conocida por el nombre común de Güinar, crece abundantemente en las sabanas de

Guerrero y Michoacán. Los pobladores de esas zonas utilizan su raíz para el tratamiento de la diarrea, aunque también suelen beber infusiones preparadas a partir de sus hojas para aliviar la bronquitis.⁸ Las raíces de *esta planta* se emplean en infusión en Tierra Caliente para el tratamiento de las diarreas, al igual que las raíces de *Acacia farnesiana* L. Willd, (Mimosaceae), (Huizache, Güisache y Aroma). Ambas se emplean con el mismo fin, por 3 a 7 d según una encuesta realizada en esta región.⁸ El cocimiento del fruto y la raíz de *A. farnesiana* se emplea contra la disentería en San Luis Potosí.⁵ En otros estados mexicanos como Morelos, Chiapas, Veracruz, Oaxaca y San Luis Potosí, emplean el extracto alcohólico para disminuir el edema,⁷ pero también se prepara un ungüento con sus flores para aliviar el dolor de cabeza. Debido a la carencia de información científica sobre las propiedades antimicrobianas de estas plantas, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar desde el punto de vista fitoquímico los extractos acuosos y etanólicos preparados con las raíces de ambas plantas y evaluar su actividad antimicrobiana *in vitro*, para comprobar la existencia de las propiedades que se les atribuyen en medicina tradicional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material empleado

Las plantas fueron colectadas en los meses de julio y agosto en los municipios de Tierra Caliente donde se recomendaron como medicinales. Se realizaron tres muestreos de forma aleatoria y cada muestra estaba representada por al menos diez plantas. Las partes recolectadas fueron las utilizadas por la población en medicina tradicional, en este caso, correspondieron a la raíz.

Procesamiento del material vegetal y preparación de los extractos

Las muestras vegetales se secaron a la sombra entre 25 y 30 °C y se redujeron a polvo en un molino manual. Con el material vegetal seco y molido se prepararon extractos alcohólicos y acuosos.⁹ El extracto etanólico se preparó por extracción continua con etanol en un equipo Soxhlet durante ocho h con 75 mL de disolvente por cada 10 g de muestra. Se filtró y el primer extracto se concentró a sequedad en un evaporador rotatorio al vacío. El extracto acuoso se elaboró con el residuo vegetal del extracto etanólico de cada planta, después que se secó al aire y se maceró durante 24 h con 35 mL de agua destilada por cada 10 g de muestra, se calentó a ebullición y se filtró. Posteriormente, se concentró a sequedad.

Una alícuota de los extractos acuosos y etanólicos de cada planta, se llevó a sequedad para determinar el contenido de sólidos solubles totales.⁹ También a los extractos se les realizó un análisis fitoquímico general⁹ para detectar los grupos químicos presentes.

Determinación de la actividad antimicrobiana

Los extractos alcohólicos y acuosos de cada planta se enfrentaron a 25 cultivos bacterianos (Tabla 1).

También se emplearon dos cepas de hongos filamentosos y 13 cepas del género *Candida* (Tabla 2). Con posterioridad, se determinaron las Concentraciones Mínimas Inhibitoria (CMI) y Bactericida (CMB) de los extractos activos frente a las cepas microbianas.

La CMI se determinó por el minimétodo de difusión radial¹⁰ con cortes de 6 mm de diámetro en monocapa de medio Agar Müller-Hinton (Oxoid) para las bacterias y

en Agar Sabouraud Glucosa (Oxoid) para las levaduras y hongos filamentosos. Las placas se incubaron a 35 °C durante 24 h. Las concentraciones de los extractos para la CMI y la CMB fueron: 100; 50; 25; 12,5; 6,2; 3,1; 1,5; 0,75 y 0,4 mg · mL⁻¹. Como control uno de los pocillos de cada réplica por cepa microbiana se llenó con etanol. Para la determinación de la CMB se utilizó el método de diluciones dobles seriadas en caldo Müller-Hinton (Oxoid), con pases a medio sólido 24 h después de la inoculación a 35 °C.¹¹ Como control positivo se utilizaron tubos con caldo de cultivo sin extracto inoculados, y como control para el disolvente se usaron tubos con caldo inoculados a los cuales se les adicionó el mismo volumen de etanol que el volumen de extracto empleado. Se realizaron tres réplicas por concentración para cada cultivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis fitoquímico (Tabla 3) del extracto de *W. indica*, mostró reacciones débiles para compuestos reductores, saponinas, quinonas, flavonoides, cardiotónicos y fenoles o taninos o ambos, mientras en los extractos de *A. farnesiana* la reacción de triterpenos y esteroides y de quinonas fue débil, la de fenoles o taninos o ambos fue media y la respuesta a la presencia de compuestos reductores fue fuerte. Rodríguez y cols.¹² revelaron la presencia de cuatro homoterpenos y el flavonoide farnesina II en semillas de esta especie. Estos compuestos se han asociado a actividad antimicrobiana en otras plantas.¹³ La presencia de fenoles se ha demostrado en esta última especie,¹² lo cual confirma los presentes resultados. No hay trabajos anteriores sobre la composición fitoquímica de *W. indica*.

La presencia de saponinas en *W. indica* se pueden relacionar con propiedades antinflamatorias, diuréticas y antimicrobianas.⁹ Las saponinas se pueden presentar en las plantas como glicósidos, con un núcleo triterpenoide o esteroide o ambos.¹⁴ La presencia del alcaloide ciclopéptido en la especie *Walteria douradinha*¹⁵ no parece ser válida para *W. indica* según los resultados. La carencia de otros estudios sobre la composición fitoquímica de esta especie vegetal no permite conocer los compuestos responsables de la débil acción positiva encontrada.

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los mayores grupos de metabolitos secundarios del reino vegetal.⁹ Otros estudios plantean que los extractos de plantas que son positivos a fenoles y taninos poseen actividad antimicrobiana.¹⁴ La presencia de estos compuestos en los extractos de *W. indica* y *A. farnesiana* sugiere que ellos pueden ser responsables de la actividad antibacteriana encontrada en este trabajo en los extractos etanólicos de ambas plantas.

Los compuestos reductores son metabolitos esenciales que suministran energía para el funcionamiento celular de los vegetales, pero no parece haber ninguna evidencia que relacione estos compuestos con la actividad antimicrobiana.

La concentración de sólidos solubles totales presentes en los extractos etanólicos de ambas plantas es mayor a la de los extractos acuosos, con una relación superior a 1,2 en ambas plantas (Tabla 4).

En el análisis de la actividad antimicrobiana de los extractos, se observó que el control de etanol no afectó el crecimiento de ninguno de los microorganismos. Los extractos acuosos son menos activos que los etanólicos para cada planta, (Fig. 1) ya que los primeros inhibieron el crecimiento de dos cultivos con *W. indica* (lo cual corresponde al 8 % de cepas inhibidas) y una sola cepa

Tabla 1. Cultivos empleados en la evaluación de la actividad antibacteriana.

Cepas	Origen	Cepas	Origen
<i>Salmonella enterica</i> (serovar <i>Typhi</i>)	ATCC 7251	<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 23355
<i>Salmonella enterica</i> (serovar <i>Typhimurium</i>)	ATCC 14028	<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048
<i>Salmonella enterica</i> (serovar <i>Enteritidis</i>)	ATCC 13076	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 14056	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 14056	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 33862
<i>Providencia</i> sp.	C -3450	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Alcaligenes faecalis</i>	ATCC 1460	<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	Vegetal PAL-5
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 35150	<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	Vegetal PM-18
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	<i>Micrococcus luteus</i>	ambiental
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090	<i>Bacillus subtilis</i>	ambiental
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 10625		

Tabla 2. Cultivos fúngicos empleados en la evaluación antimicrobiana de los extractos etanólicos.

Especie	Origen	Especie	Origen
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<i>Candida utilis</i> C ₉	Clínico
<i>Candida albicans</i> C ₁ , C ₂ , C ₃ , C ₄	Clínico	<i>Candida glabrata</i> C ₁₀ , C ₁₁	Clínico
<i>Candida tropicalis</i> C ₅ , C ₆	Clínico	<i>Candida krusei</i> C ₁₂	Clínico
<i>Candida parapsilopsis</i> C ₇	Clínico	<i>Aspergillus niger</i> C ₄₉ y C ₅₀	Clínico
<i>Candida kefyr</i> C ₈	Clínico		

Tabla 3. Análisis fitoquímico de las plantas en estudio.

Ensayo	<i>W. indica</i>	<i>A. farnesiana</i>	Ensayo	<i>W. indica</i>	<i>A. farnesiana</i>
Lactonas	–	–	Flavonoides	+	–
Triterpenos y esteroides	–	+	Cardiotónicos	+	–
Compuestos reductores	+	+++	Fenoles o taninos o ambos	+	++
Saponinas	+	–	Alcaloides	+/-	–
Quinonas	+	+	Aminas	–	–

(-) Reacción negativa. (+/-) Reacción dudosa. (+) Reacción positiva débil. (++) Reacción positiva media.
(++) Reacción positiva fuerte.

Tabla 4. Rendimiento de sólidos solubles totales en los extractos acuosos y alcohólicos.

Planta	A		Relación B/A
		%	
<i>W. indica</i>	6,8	12,0	1,7
<i>A. farnesiana</i>	8	10,0	1,2

A Extractos acuosos. B Extractos alcohólicos.

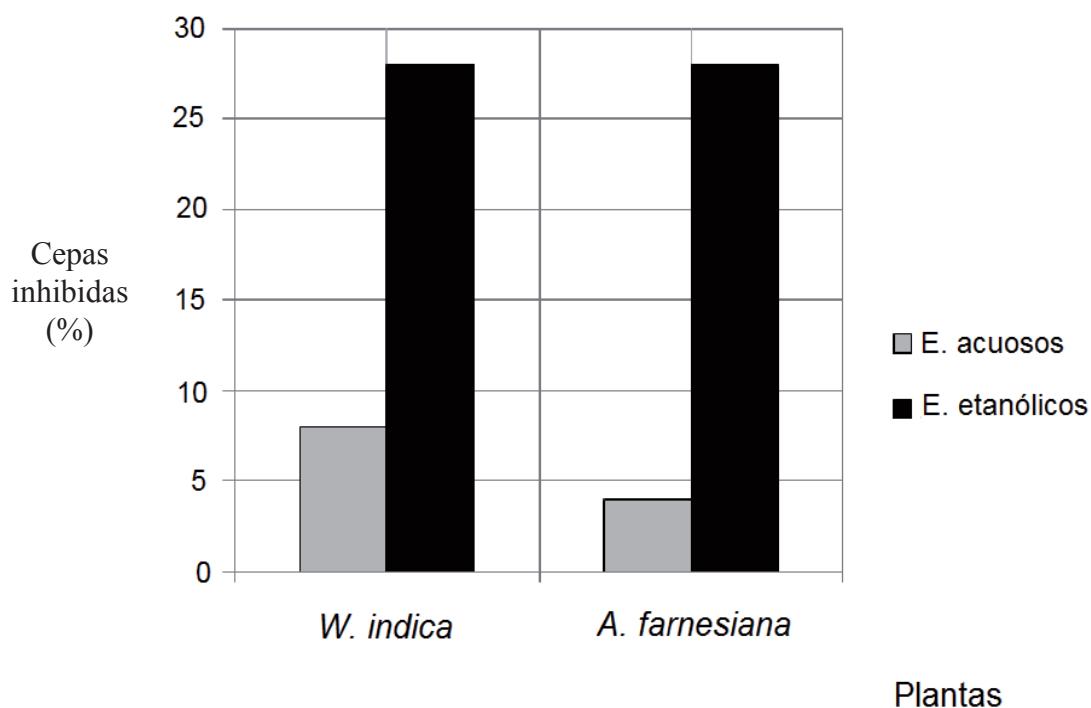


Fig. 1. Porcentaje de cepas inhibidas por extractos acuosos y etanólicos de *W. indica* y *A. farnesiana*.

Tabla 5. Concentraciones Mínimas Inhibitoria (CMI) y Bactericida (CMB) de los extractos etanólicos de *W. indica* y *A. farnesiana*.

Cepas	Origen	<i>W. indica</i>		<i>A. farnesiana</i>	
		CMI	CMB (mg · mL ⁻¹)	CMI	CMB
<i>Salmonella enterica</i> serovar <i>Typhi</i>	ATCC 7251	R	R	100	100
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 14056	50	100	R	R
<i>Providencia</i> sp.	C - 3450	R	R	100	100
<i>Alcaligenes faecalis</i>	ATCC 1460	50	100	R	R
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	50	50	R	R
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 35150	R	R	100	100
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022	12,5	25	100	50
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	50	50	100	50
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	R	R	100	100
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	12,5	25	100	100
<i>Bacillus subtilis</i>	Ambiental	100	100	R	R

con el extracto de *A. farnesiana* (4 % de inhibición). Por su parte, ambos extractos etanólicos inhibieron el 28 % de las cepas bacterianas. Estos resultados motivaron la continuación del estudio de la actividad antimicrobiana con los extractos etanólicos.

Según lo presentado en la tabla 4, los extractos etanólicos de las raíces de ambas plantas contienen una mayor cantidad de compuestos sólidos que los extractos acuosos, lo cual también puede implicar que el contenido de los extractos acuosos, no solo sea menor cuantitativa-

mente, sino que pueden contener menor variedad de los componentes presentes en el material vegetal extraído. Esto puede explicar la mayor actividad antibacteriana encontrada en los extractos alcohólicos con respecto a los extractos acuosos.

Solo el extracto etanólico de *W. indica* a la mayor concentración empleada (100 mg/mL) inhibió el crecimiento de *C. utilis*. Esta especie fúngica puede ocasionar enfermedades infecciosas en pacientes comprometidos o infecciones nosocomiales.¹⁶ Ninguna otra cepa fúngica

fue afectada por efecto de los extractos evaluados.

De las 25 bacterias, solo siete fueron susceptibles frente a cada extracto, (28 %) aunque no fueron los mismos cultivos para ambas plantas (Tabla 5). La menor CMI del extracto de *W. indica* correspondió a *Shigella flexneri* y *Bacillus subtilis* (12,5 mg · mL⁻¹). Las restantes CMI de este extracto fueron de 50 mg · mL⁻¹. En todas las cepas inhibidas con el extracto de *A. farnesiana* la CMI correspondió a la máxima concentración, al igual que la CMB. El extracto de *W. indica* tuvo una CMB entre 50 y 100 mg · mL⁻¹.

Otra especie de este mismo género como *Waltheria douradinha* se utiliza tradicionalmente en Brasil, Uruguay, Paraguay y Argentina como agente antiinflamatorio para las bronquitis, contra la laringitis y como desinfectante para lavar heridas.¹⁵ No se encontraron otros estudios sobre la actividad antimicrobiana de esta especie vegetal. Según la encuesta realizada por Avellaneda y cols.⁸

En Cuba, con las raíces de *A. farnesiana* se preparan infusiones útiles en las inflamaciones tegumentarias, oculares y de garganta.¹⁷ Los campesinos la emplean como infusión en las conjuntivitis, diarreas crónicas y hemorroides. Esta planta presenta una gran cantidad de usos en medicina tradicional, tanto en México, como en otros países¹⁶ algunos de los cuales pueden implicar enfermedades infecciosas. Sin embargo, no se han encontrado otros trabajos que validen las propiedades antimicrobianas que se le atribuyen.

Los resultados de las pruebas realizadas, sugieren la presencia de principios activos con actividad antimicrobiana *in vitro* en las raíces de ambas plantas, lo cual explicaría el uso de estas especies vegetales en medicina tradicional.

La actividad antibacteriana hallada en estas especies vegetales ofrece la posibilidad del empleo conjunto de estos extractos y antibióticos convencionales, lo cual potenciaría el efecto antimicrobiano de acuerdo con una actividad sinérgica, lo cual ha sido planteado por algunos autores¹⁸ al emplear en conjunto otros extractos vegetales y antibióticos frente a cepas bacterianas antibiótico-resistentes.

La propiedad antidiarreica de las plantas medicinales es una acción que farmacológicamente puede deberse a causas diversas, como son la disminución del movimiento peristáltico, la aglutinación del bolo fecal o la actividad antimicrobiana en sí, por lo que son necesarias investigaciones de laboratorio para definir la acción específica de los principios activos presentes en los extractos vegetales.^{19,20}

A pesar del amplio uso de plantas en medicina tradicional en México, existen muy pocos estudios sobre la inocuidad de su empleo, aspecto indispensable para el buen uso de la medicina natural en los tiempos actuales.^{21,22}

CONCLUSIONES

Se detectó la presencia de compuestos reductores, saponinas, quinonas, flavonoides, cardiotónicos y fenoles o taninos o ambos en el extracto de *W. Indica*, mientras en *A. farnesiana* se encontraron triterpenos y esteroides, quinonas, fenoles o taninos o ambos y una reacción fuerte a la presencia de compuestos reductores.

Los extractos etanólicos de la raíz de ambas plantas poseen actividad antibacteriana *in vitro* sobre el 28 % de los cultivos bacterianos evaluados y son más activos que los extractos acuosos. Esta actividad es bacteriostática y bactericida. El extracto de *W. indica*, presenta mayor

actividad que el de *A. farnesiana*. Solo el extracto etanólico de *W. Indica* inhibió el crecimiento de la cepa de *C. utilis*. No se detectó actividad antifúngica sobre los otros cultivos fúngicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guerra M, Vega R, Rivero R., Menéndez R, Gutiérrez A y Guerra I. Actividad Antimicrobiana y toxicidad de un extracto acuoso de *Boerhavia erecta* L. Rev Cubana Plant Med. 2004;9(1):1-8.
2. Luján MC, Pérez Corral C. Cribado para evaluar actividad antibacteriana y antimicótica en plantas utilizadas en medicina popular de Argentina. Consultado: 15 de julio de 2008. En línea: Rev Cubana Farm. 2008;42(2): http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-.
3. Awadh-Ali NA, Jülich WD, Kussnick C and Lindequist U. Screening of Yemen plants for antibacterial and cytotoxic activities. J Ethnopharmacol. 2001;74:173-179.
4. Biradar YS, Jagatap S, Khandelwal KR and Singhania SS. Exploring of antimicrobial activity of *Triphala mashi*, and ayurvedic formulation. eCAM. 2008;5(1):107-113.
5. Martínez M. Las Plantas Medicinales de México. 7ma Reimpresión. Botas S.A. México. 1996 p. 653.
6. Instituto de Estadística Geografía e Informática. Indicadores de Población y Vivienda. XII Censo General de Población y Vivienda de Estados Unidos Mexicanos. 2000:pp.1-200.
7. Meckes M, Villareal L, Tortriello J and Berlin A. Microbiological evaluation of medicinal plants used by the Maya people of southern Mexico. Phytotherapy Res. 1995;9(4):224-250.
8. Avellaneda S, Rojas NM, Cuéllar A, Diego N y Juárez V. Validación de la actividad antimicrobiana de plantas medicinales empleadas en Tierra Caliente (Guerrero) Convención Trópico 2004, La Habana, Cuba, abril, 2004.
9. Miranda M, Cuéllar A. Manual de Prácticas del Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Editorial Universidad de la Habana, 2000:pp.53-66.
10. Rojas NM, Avellaneda S y Romeu B. Evaluación de actividad antimicrobiana en productos naturales: fuente potencial de compuestos bioactivos. Convención Trópico abril, 2004.
11. Baron EJ, Peterson LR and Finegold SM. Bailey/Scott. Diagnostic Microbiology. 9th Edition. Mosby Editors. Washington. 1994:pp.190-210.
12. Rodríguez AT, Ramírez MA, Cárdenas RM, Nápoles MC y Martínez L. Aislamiento de principios activos de *Acacia farnesiana* y su actividad biológica sobre el hongo *Stemphylium solanae* Weber. Rev. Cubana Quím. 2004;34:733-739.
13. Barakat HH, Souleman Ahmed M, Hussein Sahar AM, Ibrahim Ola Aand Nawwar Mahmoud AM. Flavonoid galloyl glucosides from the pods of *Acacia farnesiana*. Phytochemistry 1999;5(1):139-142.
14. Perera WH, González L. and Payo AL. Metabolitos secundarios y actividad antimicrobiana de *Pluchea carolinensis*. Consultado: 18 de septiembre de 2008. Rev Cubana Farm 2006;40(2): En línea: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-.
15. Morel AF, Flach A, Zanatta N, Ethur EM, Mostardeiro MA and Gehrke ITS. A new cyclopeptide alkaloid from the bark of *Waltheria douradinha*. Tetrahedron Letters. 1999;40: 9205-9209.
16. Rojas JJ, Ochoa VJ, Ocampo SA y Muñoz JF. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: a possible alternative in the treatment of non nosocomial infections. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2006;6(2).
17. Roig JT. Plantas medicinales aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana. Editorial Científico Técnica (1), 1989: pp.1114.
18. Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC and Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Brazilian J Microbiol. 2000;31: 247-256.
19. Torres IB y Quintana IJ. Análisis comparativo sobre el

- empleo de plantas medicinales en la medicina tradicional de Cuba e Islas Canarias. Consultado: 23 de septiembre de 2008. Rev Cubana Plant Med. 2004;9(1): En línea: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-.
20. Echavarría M, López R, Ferrer Y, Casado C y Miranda M. El Centro Nacional de Información de Plantas Medicinales y productos Naturales como promotor del uso racional de la medicina natural. Memorias de la 1^{ra} Jornada Científica de Fitoterapia CENSAM, La Habana, Cuba. 2006.
21. De la Paz J, Corral A y Martínez C. Efecto antidiarreico de la tintura al 20 % de *Mentha piperita* Linn en ratas. En línea: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-. Rev Cubana Farm. 2004;38(2). Consultado: 20 septiembre de 2008.
22. Fonseca G, Sánchez A y Cápiro N. Fitoterapia Química: prevención y genotoxicidad. Memorias de la 1^{ra} Jornada Científica de Fitoterapia CENSAM, La Habana, Cuba. 2006.