

Actividad Antibacteriana *in vitro* de Extractos y Fracciones de *Physalis peruviana* L. y *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz*

[*In vitro* antibacterial activity of extracts and fractions of *Physalis peruviana* L. and *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz]

Luis A. FRANCO-OSPINA, Germán E. MATIZ-MELO, Indira B. PÁJARO-BOLÍVAR & Harold A. GÓMEZ-ESTRADA

Grupo Evaluación Biológica de Sustancias Promisorias, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Cartagena,
Código Postal 130015, Cartagena (Bolívar), Colombia

Contactos / Contacts: Luis A. FRANCO-OSPINA - E-mail address: lfrancoo@unicartagena.edu.co

Abstract

We evaluated the *in vitro* antibacterial activity of extracts and fractions of *Physalis peruviana* L. calyces and flowers and leaves of *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz against ATCC strains *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*, determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). We find potent activity with MIC \leq 0,256 mg/mL for the chloroform fraction of *P. peruviana* calyces, the ethanol fraction of flowers of *C. pulcherrima* and ethanol and ether fractions of leaves of *C. pulcherrima*. Based on these results, we conclude that both species are promising and it is recommended to continue exploring them in order to isolate, purify and to elucidate the chemical structure from those compounds responsible for the biological activity of each active fraction.

Keywords: *Physalis peruviana* L., *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz, Minimum Inhibitory Concentration, Minimum Bactericidal Concentration.

Resumen

Se evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* de extractos y fracciones de los cálices de *Physalis peruviana* L. y flores y hojas de *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, determinando la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). Encontramos potente actividad, con valores de CMI \leq 0,256 mg/mL para la fracción en cloroformo de los cálices de *P. peruviana*, la fracción en etanol de las flores de *C. pulcherrima* y las fracciones en etanol y éter de las hojas de *C. pulcherrima*. En función de los resultados obtenidos, concluimos que ambas especies son promisorias y se recomienda continuar su estudio intentando aislar, purificar y dilucidar la estructura química de los compuestos responsables de la actividad biológica en cada fracción activa.

Palabras Clave: *Physalis peruviana* L., *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz, Concentración Mínima Inhibitoria, Concentración Mínima Bactericida.

Recibido | Received: 10 de Julio de 2012

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 26 de Octubre de 2012

Publicado en línea | Published online: 30 de Mayo de 2013

Declaración de intereses | Declaration of interests: Los autores agradecen a la Universidad de Cartagena (Colombia) por el apoyo financiero e institucional recibido.

Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: LA Franco-Ospina, GE Matiz-Melo, IB Pajaro-Bolivar, HA Gómez-Estrada. 2013. Actividad Antibacteriana *in vitro* de Extractos y Fracciones de *Physalis peruviana* L. y *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 12(3): 230 – 237.

*Trabajo presentado en el Tercer Congreso de Química de Productos Naturales Chileno, Argentino e Hispano, Punta Arenas, Chile, Abril de 2012.

INTRODUCCIÓN

Una terapia antimicrobiana, segura y efectiva se enfrenta cada día a más retos que se interponen en el logro de sus objetivos. Pacientes inmunocomprometidos que no alcanzan a contrarrestar cuadros infecciosos, surgen día con día; bacterias, virus, hongos y protozoos presentan mecanismos defensivos que evaden el efecto de los fármacos de elección y aún a los de reserva, e incluso reaparecen más agresivos, lo cual se ha convertido en un problema de consecuencias impredecibles. Además, el desarrollo de nuevos agentes antibióticos como alternativa terapéutica, ha disminuido de forma considerable por el tiempo y costo que implican las etapas de investigación y desarrollo de estos medicamentos (Pessini *et al.*, 2003). En este sentido, la Organización Mundial de la Salud (OMS), constantemente incentiva a la comunidad científica para que continúe la búsqueda de nuevas estrategias, ya sea de origen sintético o natural, que permitan ampliar el arsenal farmacológico disponible. Numerosas investigaciones realizadas en distintas regiones del planeta, demuestran que las plantas medicinales constituyen un importante punto de partida en el descubrimiento de nuevos fármacos, tanto así, que aproximadamente el 25% de los medicamentos prescritos mundialmente son de origen vegetal, y de los restantes, un significativo número son obtenidos por síntesis a partir de precursores naturales (Rates, 2001; Gurib-Fakim, 2006).

La riqueza de la flora Colombiana ofrece incontables posibilidades, es así como *Physalis peruviana* L. y *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz constituyen especies vegetales popularmente reconocidas por sus propiedades medicinales y curativas. *P. peruviana* L., de nombre común uchuva o Cape gooseberry en países de habla inglesa, es apetecida principalmente por su fruto jugoso y carnoso de color amarillo-naranja que crece dentro de un cáliz que lo protege contra insectos, aves, patógenos y condiciones climáticas extremas (Puente *et al.*, 2011). Esta planta es utilizada en la medicina tradicional por sus propiedades anticancerígenas, antimicrobianas, antiinflamatorias, antipiréticas, diuréticas, inmunomoduladoras y para el tratamiento de enfermedades como malaria, asma, artritis, hepatitis y dermatitis, de las cuales algunas han sido validadas experimentalmente (Perry, 1980; Wu *et al.*, 2005; Franco *et al.*, 2007; Chang *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2009). Por su parte *Caesalpinia pulcherrima*, arbusto ornamental conocido como clavellino, es reconocido

especialmente por la variedad de flores en distintos colores que exhibe en tonalidades que van desde blancas, amarillas, naranjas, rosadas, y hasta rojas (Roach *et al.*, 2003). Diferentes partes de esta planta han reportado múltiples usos en la medicina popular como antituberculoso, antiviral, espasmolítico, antimicrobiano, antiinflamatorio y analgésico, los cuales han sido objeto de investigación en muchos países (Chiang *et al.*, 2003; Islam *et al.*, 2003; Promsawan *et al.*, 2003; Rao *et al.*, 2005; Parekh and Chanda, 2007; Chanda and Baravalia, 2011; Hsu *et al.*, 2012; Matiz *et al.*, 2012). En este trabajo se evaluó el potencial efecto antibacteriano *in vitro* de extractos y fracciones obtenidas de los cálices de *P. peruviana* y de las flores y hojas de *C. pulcherrima*, empleando métodos de microdilución en caldo establecidos por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio de los Estados Unidos de América (CLSI), determinando los valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB), frente a cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, siendo este el primer estudio que combina el uso de metodologías y cepas bacterianas de referencia internacional para evaluar la actividad biológica de estas dos promisorias especies vegetales en Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los solventes: éter de petróleo, cloroformo y etanol fueron adquiridos de JT Baker (Phillipsburg, USA), Tween 80 (polioxietilen sorbitan monooleato, BHL = 15), sílica gel Mesh 60, caldo Müeller Hinton (caldo MH) y agar Müeller Hinton (agar MH), de Merck KGaA (Darmstadt, Alemania), Gentamicina sulfato de Biopex SAC (Estándar Secundario Lote: 10C256). Todas las cepas bacterianas fueron adquiridas de la American Type Culture Collection (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Obtención del material vegetal

Los cálices de *P. Peruviana* fueron recolectados en el municipio de La Mesa (Departamento de Cundinamarca; 4°37'42.90"N, 74°27'52.29"O, elevación 1250 msnm), en marzo del 2011, y las flores y hojas de *C. pulcherrima* en el municipio de Agua de Dios (Departamento de Cundinamarca; 4°22'31.09"N, 74°40'14.36"O, elevación 371 msnm), en mayo del 2011. Muestras testigo de ambas plantas fueron enviadas al Herbario Nacional

Colombiano de la Universidad Nacional para su identificación y clasificación (COL 512200 y COL 493856, respectivamente).

Preparación de extractos y fracciones

El material vegetal seco y molido de los órganos en estudio de ambas especies, fue sometido a extracción por maceración con éter de petróleo (p.e. 35 – 65 °C) hasta agotamiento y posteriormente concentrado bajo presión reducida a 40° C, para obtener tres extractos de consistencia semiblanda. Estos extractos fueron fraccionados por Cromatografía Flash, utilizando como fase estacionaria sílica gel 60 y como fase móvil: éter de petróleo, cloroformo y etanol, obteniéndose finalmente nueve (9) fracciones primarias.

Actividad Antibacteriana in vitro

Los inóculos bacterianos se prepararon de acuerdo a las indicaciones establecidas por la CLSI, tomando entre 3 - 4 colonias bien diferenciadas y morfológicamente similares de las bacterias previamente sembradas en placas de Petri con agar MH, suspendiéndolas en tubos de ensayo con caldo MH estéril, e incubándolas a 35 ± 2 °C y verificando constantemente la densidad óptica (DO) a 620 nm en lector de microplacas (Multiscan EX Thermo®), hasta que la suspensión bacteriana alcanzó una DO_{620} entre 0,08 - 0,1 unidades, lo que equivale a 0,5 en la escala de McFarland (1×10^8 UFC/mL), la cual fue diluida a fin de obtener una suspensión de trabajo de 5×10^5 UFC/mL en los ensayos biológicos (Sutton, 2006; Cockerill et al., 2011).

A fin de determinar la fase de crecimiento exponencial de las bacterias y consecuentemente el tiempo de incubación de las mismas, se realizaron curvas de crecimiento de las cepas en estudio. Para ello, 0,1 mL del inóculo diluido fue adicionado a 9,9 mL de caldo MH e incubado a 35 ± 2 °C y verificando, a cada punto de tiempo, la DO_{620} de la suspensión bacteriana en un lector de microplacas (Pérez et al., 2007).

En función de la pobre solubilidad acuosa de los extractos y fracciones de las especies en estudio, se decidió utilizar mezclas de agua:etanol:polisorbato, las cuales se emplean con frecuencia en estudios microbiológicos (López et al., 2005; Ramirez y Castaño, 2009), pero requieren en cada caso ajustes para su refinamiento y poder garantizar su inocuidad evitando de esta manera falsos positivos. En este caso, mezclas de etanol:agua:polisorbato-80, se incubaron

con las cepas bacterianas en estudio, en placas de 96 pocillos a 35 ± 2 °C por el tiempo definido para cada bacteria en las curvas de crecimiento, luego de las cuales se determinaron los porcentajes de viabilidad frente al blanco de máximo crecimiento (caldo con inóculo), con el objeto de seleccionar la mezcla más adecuada.

Para la evaluación de la actividad antibacteriana, se prepararon soluciones a concentración de 1 mg/mL de los extractos y fracciones de *P. peruviana* y *C. pulcherrima*, acorde con el criterio de autores que consideran como promisorios aquellos extractos vegetales que presenten valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) inferior a 1,0 mg/mL (Gibbons, 2005). Estas soluciones se incubaron con las suspensiones bacterianas durante el tiempo definido para cada bacteria en las curvas de crecimiento, a 35 ± 2 °C, utilizando Gentamicina sulfato (0,016 mg/mL) como control positivo de actividad antibacteriana. Transcurrido este tiempo, las placas se agitaron durante 5 min a 100 rpm, se determinó la DO_{620} en lector de microplacas y se estimó la viabilidad por comparación frente al blanco de máximo crecimiento.

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se determinó la CMI a aquellos extractos y fracciones que presentaron porcentajes de inhibición superiores al 90%, siguiendo lo establecido por la CLSI con algunas modificaciones. Brevemente, 50 µL de las suspensiones de las cepas bacterianas en estudio fueron incubadas, por el periodo de tiempo definido para cada bacteria en las curvas de crecimiento bacteriano, a 35 ± 2 °C, en placas de 96 pocillos, con 50 µL de concentraciones seriadas entre 1,024 y $6,250 \times 10^{-5}$ mg/mL de los extractos y fracciones evaluadas. Las placas fueron selladas durante el período de incubación para reducir la evaporación, al finalizar este tiempo, se agitaron a 100 rpm durante 5 min y se determinó la DO_{620} en lector de microplacas. La CMI se calculó como la mínima concentración del extracto o fracción que inhibe completamente el crecimiento bacteriano y se expresó en mg/mL.

Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Para determinar las concentraciones de los extractos y fracciones que mostraron completa inhibición del crecimiento bacteriano, en el ensayo de determinación de la CMI, se tomó un inóculo con un asa estéril y se realizó un subcultivo en placas de Petri con agar MH. Las placas inoculadas se incubaron a 35 ± 2 °C durante

el tiempo adecuado para cada bacteria, luego del cual se evaluó la presencia o no de crecimiento de colonias bacterianas. La CMB se calculó como la mínima concentración del compuesto que no permite el crecimiento visible de colonias en la placa de Petri. En caso de observarse crecimiento, se concluye que esa concentración del extracto o fracción produce un efecto bacteriostático (Russell, 1978; Hall et al., 1995).

Análisis Estadístico

Los resultados correspondientes a tres ensayos independientes se expresaron como el promedio \pm el error estándar de la media (ESM) y se analizaron mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguido de Dunnet o Tukey *post hoc* para comparaciones múltiples. Valores de $P < 0,05$ fueron considerados significativos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actividad antibacteriana in vitro

Las curvas de crecimiento mostraron que todas las cepas bacterianas evaluadas se encuentran en la etapa final de la fase exponencial a las 24 h y por lo tanto se consideró en este trabajo como el tiempo adecuado para ser tomado como punto final de incubación en los bioensayos de actividad antibacteriana (Figura N° 1).

En cuanto a la selección del medio para solubilizar los extractos y fracciones, se demostró que las mezclas que contenían concentraciones de etanol entre 1% - 3% y polisorbato-80 entre 0,5% - 1,5% no inhibían el crecimiento de *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* (Datos no mostrados). En función de estos resultados se optó por utilizar un sistema de solventes agua:etanol:polisorbato-80 en proporción 96:3:1, para solubilizar todos los extractos y fracciones de *P. peruviana* y *C. pulcherrima* evaluados en este trabajo. La Gentamicina sulfato a la concentración evaluada inhibió el 100% del crecimiento de los microorganismos en estudio, corroborando su utilización como agente de amplio espectro y evidenciando la sensibilidad de las cepas bacterianas utilizadas.

Los resultados de la evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos y fracciones obtenidas de los cálices de *P. peruviana* y flores y hojas de *C. pulcherrima*, se presentan en la Tabla N° 1. En función de los resultados obtenidos para la inhibición del crecimiento, se consideraron como: (++++)-Muy sensibles los valores de inhibición de 100 a 90%; (++)-Sensibles entre 90 y 50%; (+)-Poco sensibles entre 50

y 25% y (-)-No sensibles aquellos valores de inhibición menores al 25%. Al analizar los datos se observa un comportamiento diverso en los extractos y fracciones de las especies en estudio frente a las cepas bacterianas.

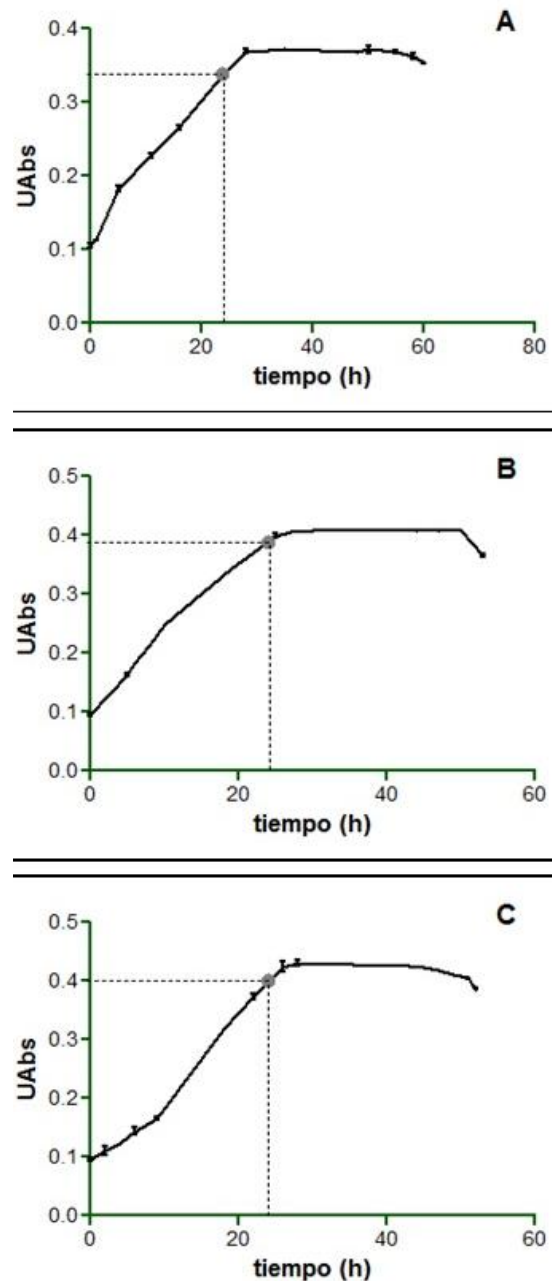


Figura 1

Curvas de crecimiento bacteriano de: (A) *S. aureus*, (B) *K. pneumoniae* y (C) *P. aeruginosa*, en caldo MH e incubadas a 35 ± 2 °C.

Así, con los cálices de *P. peruviana* se obtuvieron valores de inhibición superiores al 90% para *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae*, mientras que

todos los microorganismos evaluados resultaron ser muy sensibles al efecto de extractos y fracciones de las flores y hojas de *C. pulcherrima*.

Tabla N° 1

Actividad antibacteriana de extractos y fracciones obtenidas de los cálices de *P. peruviana* y flores y hojas de *C. pulcherrima*.

Muestras	Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Bacteriano					
	<i>S. aureus</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
<i>P. peruviana</i> (cálices) Extracto etéreo	43,30 ± 2,2		42,16 ± 1,2		99,70 ± 1,3	++
<i>P. peruviana</i> (cálices) Fracción éter	52,58 ± 2,0	+	23,18 ± 0,7		63,75 ± 1,0	+
<i>P. peruviana</i> (cálices) Fracción cloroformo	15,62 ± 1,8		26,36 ± 0,9		98,63 ± 0,6	++
<i>P. peruviana</i> (cálices) Fracción etanol	65,69 ± 0,6	+	99,18 ± 0,2	++	78,32 ± 0,6	+
<i>C. pulcherrima</i> (flores) Extracto Etéreo	99,03 ± 0,3	++	38,33 ± 2,9		52,30 ± 1,5	+
<i>C. pulcherrima</i> (flores) Fracción éter	15,83 ± 0,2		66,02 ± 1,8	+	71,07 ± 1,5	+
<i>C. pulcherrima</i> (flores) Fracción cloroformo	38,38 ± 1,0		66,44 ± 3,4	+	60,73 ± 2,1	+
<i>C. pulcherrima</i> (flores) Fracción etanol	98,48 ± 1,3	++	58,65 ± 2,3	+	97,70 ± 2,4	++
<i>C. pulcherrima</i> (hojas) Extracto etéreo	58,39 ± 2,6	+	58,39 ± 2,8	+	50,56 ± 1,7	+
<i>C. pulcherrima</i> (hojas) Fracción éter	98,87 ± 0,3	++	99,10 ± 0,5	++	43,82 ± 0,6	
<i>C. pulcherrima</i> (hojas) Fracción cloroformo	38,80 ± 0,5		64,04 ± 1,7	+	73,09 ± 1,2	+
<i>C. pulcherrima</i> (hojas) Fracción etanol	12,29 ± 1,5		10,96 ± 2,57		99,46 ± 0,2	++

Los datos representan el promedio ± ESM.

(+++)-Muy sensibles, (++)-sensibles, (+)-Poco sensibles y (-)-No sensibles.

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB)

La prueba de sensibilidad realizada permitió identificar los extractos y fracciones más activos del estudio, a los cuales se les determinó su CMI y CMB. De esta manera, se seleccionaron de los cálices de *P. peruviana*, el extracto etéreo y las fracciones en cloroformo y etanol; de las flores de *C. pulcherrima*, el extracto etéreo y la fracción en etanol, y de las hojas de *C. pulcherrima*, las fracciones en éter y etanol. Los resultados de esta evaluación se presentan en la tabla 2, donde se observan valores de CMI $\leq 0,256$ mg/mL para la fracción en cloroformo de *P. peruviana*, la fracción en etanol de las flores de *C. pulcherrima* y las fracciones en etanol y éter de las hojas de *C.*

pulcherrima, valor que es considerado como un punto de referencia que justifica continuar el estudio de estas fracciones a fin de aislar, purificar y determinar la estructura química de los compuestos responsables del efecto antibacteriano. Por su parte los resultados de la CMB para estas fracciones sugieren que a esas concentraciones su actividad se debe a efectos de tipo bacteriostático y no bactericida (Tabla N° 2).

El hallazgo de nuevos agentes antibióticos, sean de fuentes naturales o sintéticas se ha convertido en una necesidad apremiante para la comunidad médica y científica en general, dado la aparición cada vez más frecuente de cepas resistentes a los ya existentes (Gérvás, 2000; Cabrera et al., 2005; Kunin, 2008). Las especies vegetales que se evaluaron fueron

seleccionadas basándose en el uso como agentes antisépticos tópicos en la medicina tradicional. Con este estudio se validó su actividad sobre bacterias de reconocida patogenicidad como son *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae*. *S. aureus*, coco gram positivo, es un patógeno que puede causar múltiples infecciones en individuos tanto sanos como inmunodeficientes, puede colonizar la piel y las fosas nasales facilitando su transmisión en ambientes hospitalarios con incipiente sanitización. Su resistencia a los antibióticos comunes va en aumento, tanto, que se estima que del 50 al 90% de las cepas aisladas presentan resistencia a oxacilina y meticilina y muchas a vancomicina (Velazco et al., 2002; Mendoza Ticona et al., 2003; Bamberger and Boyd, 2005). Por su parte *P. aeruginosa*, bacilo gram negativo, igualmente relacionado con enfermedades nosocomiales, provoca infecciones en vías respiratorias, urinarias, osteoarticulares, oculares, gastrointestinales entre

otras; presentando también alta resistencia a numerosos antimicrobianos de uso clínico, incluyendo la mayoría de las penicilinas, cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, monobactamas, aminoglicósidos y fluoroquinolonas entre otras (Livermore, 2002; Delgado et al., 2007; Mesaros et al., 2007). Finalmente, *K. pneumoniae*, bacilo gram negativo, se encuentra asociada a infecciones nosocomiales en infantes prematuros y pacientes en cuidados intensivos produciendo neumonías, infecciones urinarias y las que se presentan debido a heridas quirúrgicas (Hernández et al., 2003; Martínez et al., 2009). Es por ello que resulta interesante el hecho de que extractos y fracciones de ambas especies inhibieran el crecimiento de estos microorganismos a concentraciones inferiores a 0,256 mg/mL, lo que las convierte en promisorias fracciones con un amplio espectro de actividad.

Tabla N° 2
Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) para extractos y fracciones de *P. peruviana* y flores y hojas de *C. pulcherrima*

MICROORGANISMO CEPA ATCC	MUESTRA	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)
<i>P. aeruginosa</i> 27853	<i>P. peruviana</i> , cálices extracto etéreo	1,024	> 1,024
	<i>P. peruviana</i> , cálices fracción cloroformo	0,256	> 1,024
	<i>C. pulcherrima</i> , flores fracción etanol	0,512	1,024
	<i>C. pulcherrima</i> , hojas fracción etanol	0,128	1,024
<i>S. aureus</i> 25923	<i>C. pulcherrima</i> , flores extracto etéreo	1,024	> 1,024
	<i>C. pulcherrima</i> , flores fracción etanol	0,128	> 1,024
	<i>C. pulcherrima</i> , hojas fracción éter	0,256	1,024
<i>K. pneumoniae</i> 13883	<i>P. peruviana</i> , cálices fracción etanol	1,024	> 1,024
	<i>C. pulcherrima</i> , hojas fracción éter	0,512	1,024

Los datos representan el promedio \pm ESM.

CONCLUSIÓN

Las fracciones de *P. peruviana* y *C. pulcherrima* presentan a bajas concentraciones actividad inhibitoria sobre bacterias de reconocida patogenicidad como son *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *K. pneumoniae*, lo que las cataloga como punto de partida para la búsqueda de nuevos compuestos con actividad antibacteriana. Se recomienda continuar la exploración del potencial antimicrobiano de estas especies de la flora colombiana a fin de aislar, purificar y determinar la estructura química de los compuestos responsables de

la actividad, evaluándolos a su vez sobre cepas bacterianas con patrones de resistencia conocida, y realizando estudios de expresión génica y proteica que contribuyan a esclarecer los mecanismos de acción involucrados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Cartagena (Colombia) por el apoyo financiero e institucional recibido, sin los cuales el desarrollo de este trabajo no hubiera sido posible. También agradecen la valiosa

colaboración de las Químico Farmacéuticas Claribel Arias Mendoza y Milena Matilde Jiménez Arrieta, de la Universidad de Cartagena.

REFERENCIAS

- Bamberger DM, Boyd SE. 2005. Management of *Staphylococcus aureus* infections. **Am Fam Physician** 72: 2474 - 2481.
- Cabrera Y, Fadragas A, Guerrero L. 2005. Antibióticos naturales: Mito o realidad. **Rev Cubana Med Gen Integr** 21: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252005000300025&Ing=es&nrm=iso (Consultada el 5 de Febrero de 2013).
- Cockerill F, Clinical, Institute LS. 2011. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-first Informational Supplement**, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, USA.
- Chanda S, Baravalia Y. 2011. Brine shrimp cytotoxicity of *Caesalpinia pulcherrima* aerial parts, antimicrobial activity and characterisation of isolated active fractions. **Nat Prod Res** 25: 1955 - 1964.
- Chang J, Lin C, Wu S, Lin D, Wang S, Miaw C, Ng L. 2008. Antioxidative and hepatoprotective effects of *Physalis peruviana* extract against acetaminophen-induced liver injury in rats. **Pharm Biol** 46: 724 - 731.
- Chiang L, Chiang W, Liu M, Lin C. 2003. *In vitro* antiviral activities of *Caesalpinia pulcherrima* and its related flavonoids. **J Antimicrob Chemother** 52: 194 - 198.
- Delgado G, García Mayorgas AD, Rodríguez F, Ibarra A, Casal M. 2007. Sensibilidad y resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los antimicrobianos. **Rev Esp Quimioter** 20: 230 - 233.
- Franco LA, Matiz GE, Calle J, Pinzón R, Ospina LF. 2007. Antiinflammatory activity of extracts and fractions obtained from *Physalis peruviana* L. calyces. **Biomedica** 27: 110 - 115.
- Gérvas J. 2000. La resistencia a los antibióticos, un problema de salud pública. **Aten Primaria** 25: 589 - 596.
- Gibbons S. 2005. Plants as a source of bacterial resistance modulators and anti-infective agents. **Phytochem Rev** 4: 63 - 78.
- Gurib-Fakim A. 2006. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Mol Aspects Med** 27: 1 - 93.
- Hall GS, Pratt-Rippin K, Meisler DM, Washington JA, Roussel TJ, Miller D. 1995. Minimum bactericidal concentrations of *Propionibacterium acnes* isolates from cases of chronic endophthalmitis. **Diagn Microbiol Infect Dis** 21: 187 - 190.
- Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez-Martínez L, Grupo de Estudio de Infección H. 2003. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). **Enferm Infecc Microbiol Clin** 21: 77 - 82.
- Hsu FL, Huang WJ, Wu TH, Lee MH, Chen LC, Lu HJ, Hou WC, Lin MH. 2012. Evaluation of antioxidant and free radical scavenging capacities of polyphenolics from pods of *Caesalpinia Pulcherrima*. **Int J Mol Sci** 13: 6073 - 6088.
- Islam A, Ali MA, Sayeed A, Salam S, Islam A, Rahman M, Khan G, Khatun S. 2003. An antimicrobial terpenoid from *Caesalpinia pulcherrima* Swartz.: Its characterization, antimicrobial and cytotoxic activities. **Asian J Plant Sci** 2: 17 - 24.
- Kunin CM. 2008. Why did it take the Infectious Diseases Society of America so long to address the problem of antibiotic resistance? **Clin Infect Dis** 46: 1791 - 1792.
- Livermore DM. 2002. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? **Clin Infect Dis** 34: 634 - 640.
- López AJ, García AM, Rojas JJ. 2005. Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 4: 28 - 32.
- Martínez P, Mercado M, Máttar S. 2009. Determinación de b-lactamasas de espectro extendido en gérmenes nosocomiales del Hospital San Jerónimo, Montería. **Colombia Médica** 34: 196 - 205.
- Matiz GE, Franco LA, Rincón J. 2012. Actividad antiinflamatoria de flores y hojas de *Caesalpinia pulcherrima* L.(Swartz). **Salud UIS** 43: 281 - 287.

- Mendoza Ticona CA, Velasquez Talavera R, Mercado Diaz L, Ballon Echegaray J, Maguiña Vargas C. 2003. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* sensible, con sensibilidad "BORDERLINE" y resistentes a la meticilina. **Rev Med Hered** 14: 181 - 185.
- Mesaros N, Nordmann P, Plesiat P, Roussel-Delvallez M, Van Eldere J, Glupczynski Y, Van Laethem Y, Jacobs F, Lebecque P, Malfroot A. 2007. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. **Clin Microbiol Infect** 13: 560 - 578.
- Parekh J, Chanda SV. 2007. *In vitro* antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. **Turk J Biol** 31: 53 - 58.
- Pérez JE, Isaza G, Acosta S. 2007. Actividad antibacteriana de extractos de *Phenax rugosus* y *Tabebuia chrysantha*. **Biosalud** 6: 59 - 68.
- Perry LM. 1980. **Medicinal plants of East and Southeast Asia: attributed properties and uses**. Springer, Cambridge, Massachusetts, USA.
- Pessini GL, Dias Filho BP, Nakamura CV, Cortez DAG. 2003. Antibacterial activity of extracts and neolignans from *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 98: 1115 - 1120.
- Promsawan N, Kittakoop P, Boonphong S, Nongkunsarn P. 2003. Antitubercular cassane furanoditerpenoids from the roots of *Caesalpinia pulcherrima*. **Planta Med** 69: 776 - 777.
- Puente LA, Pinto-Muñoz CA, Castro ES, Cortés M. 2011. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. **Food Res Int** 44: 1733 - 1740.
- Ramirez LS, Castaño DM. 2009. Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. **Scientia et Technica** 15: 263 - 268.
- Rao YK, Fang SH, Tzeng YM. 2005. Anti-inflammatory activities of flavonoids isolated from *Caesalpinia pulcherrima*. **J Ethnopharmacol** 100: 249 - 253.
- Rates SMK. 2001. Plants as source of drugs. **Toxicon** 39: 603 - 613.
- Roach JS, McLean S, Reynolds WF, Tinto WF. 2003. Cassane diterpenoids of *Caesalpinia pulcherrima*. **J Nat Prod** 66: 1378 - 1381.
- Russell A. 1978. Minimum bactericidal concentrations. **J Antimicrob Chemother** 4: 91 - 92.
- Sutton S. 2006. Measurement of cell concentration in suspension by optical density. **PMF Newsletter** 12: 3 - 13.
- Velazco E, Nieves B, Araque M, Calderas Z. 2002. Epidemiología de infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en una unidad de alto riesgo neonatal. **Enferm Infecc Microbiol Clin** 20: 321 - 325.
- Wu SJ, Chang SP, Lin DL, Wang SS, Hou FF, Ng LT. 2009. Supercritical carbon dioxide extract of *Physalis peruviana* induced cell cycle arrest and apoptosis in human lung cancer H661 cells. **Food Chem Toxicol** 47: 1132 - 1138.
- Wu SJ, Ng LT, Huang YM, Lin DL, Wang SS, Huang SN, Lin CC. 2005. Antioxidant activities of *Physalis peruviana*. **Biol Pharm Bull** 28: 963 - 966.