

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA A PARTIR DE EXTRACTOS DE HOJAS DE SEIS ESPECIES DEL GÉNERO *Piper* L. (PIPERACEAE)

ANTIBACTERIAL ACTIVITY STARTING FROM EXTRACTS OF LEAVES OF SIX SPECIES OF THE GENUS *Piper* L. (PIPERACEAE)

NAYIVE PINO BENÍTEZ*

RESUMEN

Se evalúan los extractos etanólicos de las especies *Piper tricuspe*, *P. peltatum*, *P. gorgonillense*, *P. multiplinervium*, *P. tuberculatum* y *P. hispidum*, para determinar su actividad antibacteriana *in vitro* contra microorganismos patógenos de interés clínico humano *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella tiphy*, *Klebsiella pneumoniae*, mediante los métodos de dilución en placas de agar descrito por Mitscher y difusión en agar descrito por Bauer *et al.* Los resultados muestran que todas las especies presentan algún tipo de actividad con concentraciones de 40 mg/ml contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*, excepto *P. tuberculatum*. La concentración mínima inhibitoria (MIC) con el método de dilución en agar está entre la menor concentración del extracto etanólico inhibida y la concentración inmediatamente inferior, siendo los mejores resultados para *Piper tricuspe*, *P. gorgonillense*, y *P. hispidum* entre <5mg/ml >2,5 mg/ml, con la cepa de *Bacillus subtilis* y *Piper tricuspe* además con *Staphylococcus aureus*.

Palabras clave: Plantas medicinales; Piper; Actividad antibacteriana; *Bacillus subtilis*; *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The extracts ethanolic of the species *Piper tricuspe*, *P. peltatum*, *P. gorgonillense*, *P. multiplinervium*, *P. tuberculatum* and *P. hispidum*; they are evaluated to determine their antibacterial activity *in vitro* against pathogen microorganisms of human clinical interest *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella tiphy*, *Klebsiella pneumoniae*, by means of two methods dilution in agar badges described by Mitscher and diffusion in agar described by Kirby-Bauer. The results show that all the species show some activity type with concentrations of 40 mg/ml against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*, except *P. tuberculatum*. The inhibitory minimum concentration (MIC) with the dilution method in agar is between the smallest concentration in the extract inhibited ethanolic and the immediately inferior concentration, being the best results for *Piper tricuspe*, *P. gorgonillense*, and *P. hispidum* among <5mg/ml, >2,5 mg/ml, with the stump of *Bacillus subtilis* and *Piper tricuspe* also with *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Medicinal Plant; Piper; Antibacterial activity; *Bacillus subtilis*; *Staphylococcus aureus*.

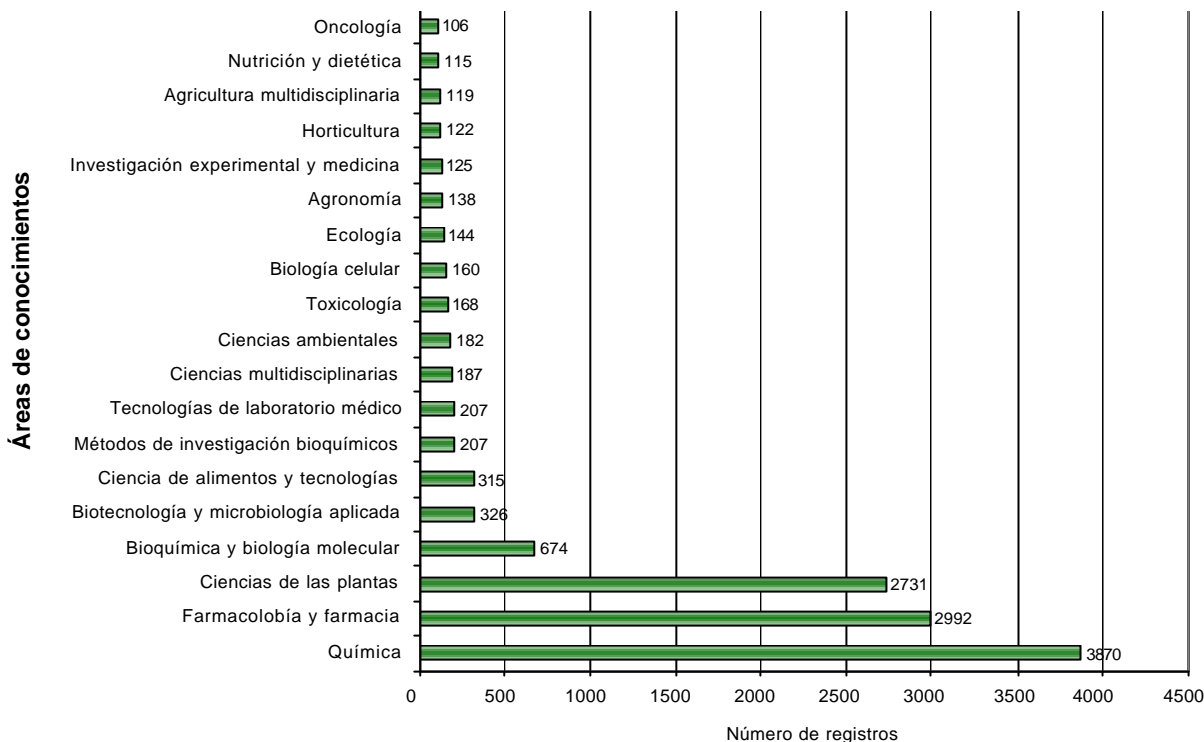
INTRODUCCIÓN

En Colombia y el mundo se han realizado un considerable número de estudios en plantas medicinales como lo registra CENIVAM-PNP (2007) en los cálculos basados en información de la base de datos *ISI WoS*, procesados con MS-Excel (Gráfica 1). Muchos de estos trabajos se han encaminado hacia la evaluación de la actividad antibacteriana de

plantas medicinales y aromáticas donde se registran importantes informaciones ya sean de extractos, fracciones o compuestos puros de plantas medicinales, como también de aceites esenciales de plantas con cualidades aromáticas, que se ven reflejadas en propiedades antisépticas, desinfectantes o bactericidas entre otras. La mayor parte de los trabajos científicos sobre las plantas medicinales se han desarrollado en Asia, Europa y Norte América. Según la mis-

* Universidad Tecnológica del Chocó Diego Luis Córdoba, CENIVAM, Quibdó, Colombia.
e-mail: nayivepino@yahoo.com
Fecha de recibido: Julio 4, 2007

Fecha de aprobación: Abril 9, 2008



Gráfica 1. Distribución de los trabajos científicos sobre plantas medicinales, según el área de conocimiento (registros mayores de 100), período de 1977-2006.

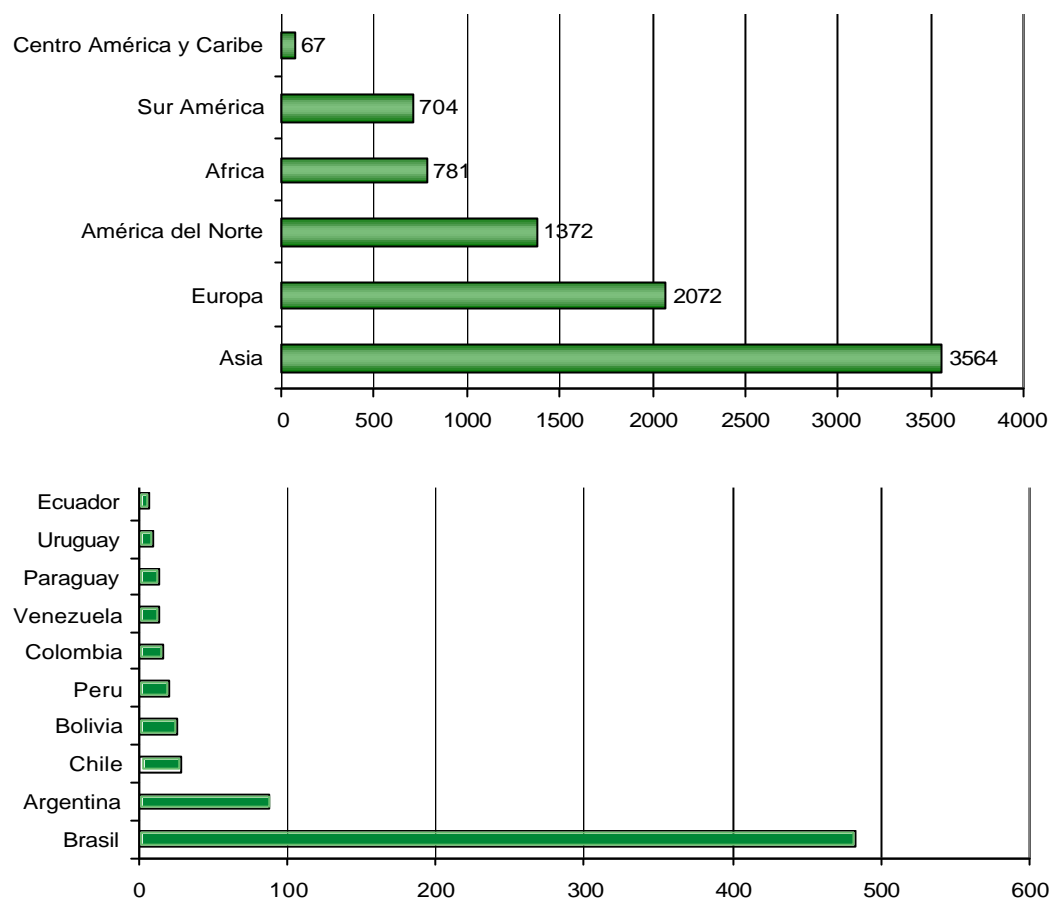
Fuente: CENIVAM-PNP, cálculos basados en información de la base de datos *ISI Wos*, procesados con *MS-Excel*

ma fuente, los países que poseen el número de trabajos de investigación en plantas medicinales más alto son India (1,072), Estados Unidos (1,012), Japón (677) y Brasil (486). A nivel de los países suramericanos, Brasil presenta la mayor cantidad de registros. Colombia, aparece con 17 artículos en este tema, en el último lugar se encuentra Ecuador, con 7 publicaciones sobre plantas medicinales registradas en la base de datos consultada.

En la misma base de datos, en Colombia la Universidad Nacional de Colombia registra el mayor número de trabajos relacionados con plantas medicinales y la Universidad Industrial de Santander (UIS) sobresale por el número de registros en aceites esenciales. La gran mayoría de los trabajos realizados con plantas medicinales tiene como área de conocimiento la farmacología y la farmacia, que corresponde a 40% del total de registros encontrados en este tema, como se observa en la Gráfica 2. Otras aplicaciones de importancia son las áreas relacio-

nadas con ciencias de las plantas, química medicinal y la medicina integral y complementaria.

El Grupo de Productos Naturales de la Universidad Tecnológica del Chocó, ha venido incursionando en esta área de trabajo presentando estudios con algunas especies del género *Piper* de la familia botánica Piperaceae, de la cual muchas de sus especies se utilizan en la medicina tradicional contra agentes infecciosos; además, estas Piperaceae presentan particular interés en la flora del Pacífico colombiano porque de las plantas con flores, es el cuarto grupo mejor representado, siendo el género *Piper* el mejor representado de todos los géneros de dicotiledóneas. Es así como sólo el departamento del Chocó, cuenta con 52% (93 especies), de las 180 Piperaceae registradas para el Pacífico colombiano (Rangel y Rivera, 2004). El género *Piper* se encuentra ampliamente distribuido en el departamento del Chocó en las ocho regiones fitogeográficas descritas por Forero & Gentry (1989). Comúnmente,



Gráfica 2. Distribución de los trabajos científicos sobre plantas medicinales, según el área de conocimiento (registros mayores de 100), período 1977-2006.

Fuente: CENIVAM-PNP, cálculos basados en información de la base de datos *ISI WoS*, procesados con *MS-Excel*

el género *Piper* se caracteriza por ser arbustos o árboles más o menos leñosos, pero a veces con maderas blandas y sub-herbácea, a veces trepadoras, tallos usualmente con nudos engrosados, hojas enteras, simples alternas o lobuladas, nudosidades e inflorescencia en amento (Steyermark, 1984).

Partiendo del hecho de que la flora silvestre del Chocó ha sido poco estudiada en su actividad biológica, este estudio es relevante no sólo en la generación de nuevos conocimientos, sino para probables aplicaciones que producen al aprovechamiento de la flora regional, porque generan alto valor agregado a la biodiversidad. Es precisamente la falta de este conocimiento, lo que ha limitado el manejo para la explotación y el aprovechamiento racional de este

recurso natural ampliamente distribuido en todo su territorio, en particular en zonas donde las especies endémicas alcanzan un porcentaje elevado.

Se evaluaron seis especies del género *Piper* seleccionadas por la frecuencia de uso medicinal dada por las comunidades de la región, contra dolores estomacales, afecciones de la piel y fiebres palúdicas. Dichas especies son *Piper tricuspe* (Miq) C. DC., *P. peltatum* L., *P. gorgonillense* Trel & Yunk., *P. multiplinervium* C. DC., *P. tuberculatum* Jacq y *P. hispidum* Sw.

MATERIALES Y METODOS

Área de estudio. El material vegetal fue recolecta-

do en diferentes localidades de los municipios de Quibdó y Atrato, en el departamento del Chocó, Colombia. Este departamento está localizado en la esquina nor-occidental de América del Sur, entre los 4° 10' y los 8° 10' de latitud norte, y entre los 76° y 78° de longitud oeste. Es la única región de América del Sur con costas sobre dos océanos, el Atlántico (o Mar Caribe) al norte y el Pacífico al occidente. En Colombia limita al norte con la República de Panamá en una extensión de 266 km y con el Golfo de Urabá en unos 65 km y por el sur con el Valle del Cauca en 118 km y por el occidente con el océano Pacífico en 688 km. Tiene una superficie de 46.530 km² que corresponden a 4% del territorio colombiano (1' 141.748 km²) clasificándose como el noveno departamento de mayor superficie del país (IGAC, 2006).

Recolección y procesamiento del material vegetal. En la metodología de trabajo, se tuvo en cuenta la recolección de material vegetal para su identificación taxonómica y registros de herbario, a las cuales se les realizó proceso de secado, montaje, identificación e inclusión en el Herbario CHOCÓ de la Universidad Tecnológica del Chocó y Herbario Nacional Colombiano (COL) del instituto de Ciencias Naturales, de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Se recolectaron hojas de plantas fértiles libre de polvo y enfermedades, en horas de la mañana; se utilizaron 200 g de hojas, a las cuales se les realizó secado en horno con aire circulante a 40°C, se molieron, pesaron y etiquetaron en frascos de vidrio de boca ancha. Se maceraron en frío con etanol al 96% por un período de 15 días, realizando concentraciones sucesivas a presión reducida en un rotaevaporador R-124, vacuun controller V-800, marca Buchi. El extracto etanólico obtenido se envasó en frascos con tapa rosca previamente pesados y etiquetados, los cuales se almacenaron a 4°C hasta la realización de los ensayos para determinar su actividad antibacteriana *in vitro*.

Radicación de las muestras. Las muestras se radicaron en los Herbario CHOCÓ y COL de la si-

guiente forma: *P. tricuspe* CHOCÓ 007241, COL 519984; *P. hispidum* CHOCÓ 11997, COL 493849; *P. gorgonillense* CHOCÓ 11990, COL 493854; *P. multiplinervium* CHOCÓ 11991, COL 493855 y *P. tuberculatum* Jacq COL 519983, *P. peltatum* COL 520008.

Cepas de microorganismos. Todas las cepas se adquirieron de los laboratorio de microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana, de origen auténtico y corresponden al American Type Culture Collection (ATCC USA), marca REMEL y verificada su clasificación taxonómica, corresponden a microorganismos patógenos Gram positivos *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (CMDM-PUJ 075), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (CDMPUJ 075) y Gram negativos *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13076 (CMDM-PUJ 111), *Salmonella tify* CMDM-UJ 045, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70063 (CMDM-PUJ 095).

Métodos de ensayos de actividad antibacteriana. Para la evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos de plantas, se llevan a cabo dos métodos: dilución en placas de agar descrito por Mitscher *et al.* (1971) y difusión en agar descrito por Bauer *et al.* (1996). En el primer método se usa disolución del organismo 1/100 en solución salina al 0.9%; cada caja de petri se prepara con 10 ml de medio de cultivo que se homogenizan con 100 µl de los extractos, se siembra por rayado. En el segundo método se usaron discos de papel de 5 mm, cantidad de extracto en cada disco de 20 µl; en ambos métodos se realizaron tres tratamientos por triplicado cada uno. Se incuban a 37°C durante 24 y 48 h, medio de cultivo agar de Mueller-Hinton, control positivo sulfato de estreptomicina 10 µg/ml (marca OXOID); control negativo TSA (agar tripticasa soya marca MERCK).

Los controles se realizan de la siguiente manera: a tres cajas de petri que contengan tripticasa de soya agar realizar el rayado de las bacterias empleadas

Tabla 1
Evaluación antibacteriana por método de dilución en agar a extractos de Piperaceae en lectura a 24 h (40 mg/ml)

Especies	Cepas					
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella tiphy</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Piper tricuspe</i>	+++	+++	-	-	-	+++
<i>Piper peltatum</i>	++	-	-	-	-	-
<i>Piper gorgonillense</i>	+++	+++	-	-	-	+++
<i>Piper multiplinervium</i>	+++	-	-	-	-	+++
<i>Piper tuberculatum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Piper hispidum</i>	+++	+++	-	-	-	+++
Control cmo -	-	-	-	-	-	-
Estreptomina	+++	+++	+++	+++	+++	+++

+++ = Inhibición total ++ = Inhibición parcial + = Inhibición insipiente - = Crecimiento bacterial

(este es el control de crecimiento bacteriano). A cajas que contengan agar Mueller Hinton realizar siembra masiva con cada uno de los microorganismos y colocar en su superficie sensibilizados de estreptomina. El segundo método es una técnica sencilla donde se ensayan diferentes dosis de extractos (o productos puros aislados previamente) sobre distintas bacterias y se observa la presencia o ausencia de los halos de inhibición. La técnica se puede resumir del siguiente modo: diámetro de los discos: 5 mm, medio de cultivo agar Mueller-Hinton, espesor del agar 4 mm, tiempo de incubación entre 18 y 24 horas, temperatura de incubación 37°C, evaporación del disolvente del extracto a 60°C, media hora, cantidad del extracto en cada disco 40 mg/ml en diluciones de 20, 10, 5 y 2,5 mg/ml. Se aplican los discos con las distintas dosis de antimicrobiano sobre la placa sembrada presionando con suavidad sobre la superficie del agar con una pinza estéril. Se invierten las placas y se incubación a 37°C entre 18 y 24 horas. Pasado este tiempo se miden los diámetros de los halos de inhibición producidos. Todas las pruebas se realizan por triplicado en los tres tratamientos por cada extracto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las especies muestran algún tipo de actividad

con concentraciones de 40 mg/ml contra *S. aureus*, *Bacillus subtilis* y *E. coli*, excepto *P. tuberculatum*. En las Tablas 1 y 2 aparecen los resultados de la evaluación antibacteriana con los dos métodos, realizada a los diferentes extractos etanólicos de las hojas de las especies del género *Piper* evaluadas: *Piper tricuspe*, *P. peltatum*, *P. gorgonillense*, *P. hispidum* y *P. multiplinervium*, *P. tuberculatum*. Los resultados de la MIC con el método de dilución en agar está entre la menor concentración del extracto etanólico inhibida y la concentración inmediatamente inferior, siendo los mejores resultados para *Piper tricuspe*, *P. gorgonillense* y *P. hispidum* que oscilan entre <5mg/ml >2,5 mg/ml, con la cepa de *Bacillus subtilis* y *Piper tricuspe* además con *S. aureus*.

En el Chocó y toda Colombia son muchas las especies del género *Piper* utilizadas como medicinales, antiinflamatorias o antibióticas. Generalmente se llaman cordoncillos y deshinchadoras (García, 1974; Cayon y Aristizábal, 1980; Weniger y Robineau, 1988; Pérez, 1990, 1996; Blair *et al.*, 1991; Otero *et al.*, 2000; Pino 2000; Fonnegra 2003, Pino y Valois 2004; Orjuela *et al.*, 2004; Pino y Stashenko, 2006). Igualmente son varios los autores que informan actividad antimicrobiana de extractos de plantas (Vanden y Vlietinck, 1991, Rojas *et al.*, 1992,

Tabla 2
Evaluación antibacteriana por método de Kirby-Bauer a extractos (40 mg/ml) de Piperaceae en lectura a 24 h (diámetro en mm)

Extractos	Cepas					
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella tify</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Piper tricuspe</i>	14n	12n-	-	-	-	15n-
<i>Piper peltatum</i>	10n-	-	-	-	-	-
<i>Piper gorgonillense</i>	11n	10n-	-	-	-	11n-
<i>Piper multiplinervium</i>	10n-	-	-	-	-	-
<i>Piper tuberculatum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Piper hispidum</i>	11n	11n-	-	-	-	11n-
Control cmto	-	-	-	-	-	-
Estreptomicina	15n	16n	20n	15n	11n	15n

≥10 mm = Sensible ≤5 mm = Resistente - = Crecimiento bacterial n = Nítido

Glukoya *et al.*, 1993, Buniato & Lajubutu 1994, Gracia *et al.*, 1995, Meurer *et al.*, 1996, Meckes *et al.*, 1997, López *et al.*, 1997, Bazalar *et al.*, 1998, Martínez *et al.*, 1999, Márquez *et al.*, 2005), pero en especies de la familia Piperaceae son más bien pocos los trabajos informados (Chiapetta *et al.*, 1983; Alécio *et al.*, 1998; Xuan *et al.*, 2006; Mesa-Arango *et al.*, 2007). Es por ello, que los resultados de este estudio de bioactividad, donde casi todos los extractos de estas especies estudiadas son bioactivos contra cepas de gran interés clínico como *S. aureus* y *E. coli*, es decir, presentan acción antibiótica. Lo anterior, es bien interesante no sólo para la validación del conocimiento de las comunidades, sino que le aporta alto valor agregado a dichas especies, pues las convierte en potencial promisorio para la continuidad de estudios más avanzados. Confirmando con el presente trabajo, la validación del conocimiento popular, se contribuye a valorar el conocimiento y dar valor agregado a la flora de la región, lo que puede generar mecanismos y estrategias que motiven el manejo y conservación de estos recursos.

Teniendo en cuenta los resultados del estudio y de acuerdo con Carreño *et al.* (2006), en los Estados Unidos, *S. aureus*, se encuentra entre los microorga-

nismos más comúnmente aislados como patógenos hospitalarios y al igual que *P. aeruginosa* son las encargadas de producir neumonía hospitalaria, además son unas de las principales causantes de las infecciones nosocomiales, siendo *S. aureus* la segunda causa de bacteriemia. Sugiere este mismo autor que en la comunidad, persiste como una causa muy importante de infección de piel, de tejidos blandos y de endocarditis infecciosa (sobre todo entre usuarios de drogas inyectadas).

En Colombia, ocurre algo parecido de acuerdo con lo reportado por Sivigila (2003); comenta este autor, que entre las infecciones hospitalarias asociadas con dispositivos invasivos, en unidades de cuidados intensivos (UCI) en Bogotá, *S. aureus* ocupó el primer lugar de frecuencia con un porcentaje de 64% y una frecuencia de resistencia a los beta-lactámicos. Es así como durante el año 2002, *S. aureus* fue el principal microorganismo aislado en infecciones hospitalarias en un 25,7% de los casos. Es de resaltar que las bacteriemias por este microorganismo son una causa muy importante de morbimortalidad, no sólo en nuestro medio sino también a nivel global, y se ha reportado un aumento de su incidencia y resistencia en las últimas décadas. Para Espinal y Prieto (2006), las infecciones son una causa

importante de morbi-mortalidad sobre todo en niños y personas inmunocomprometidas. Además, comenta que en los Estados Unidos afecta entre 2 y 3 millones de personas y causan entre 500 a 2000 muertes cada año.

Es de resaltar que, tal como lo comenta Linares y Martínez (2004), se calcula que más de 50% de las prescripciones médicas de antibióticos, se ordenan sin pruebas claras de infección o sin una indicación médica adecuada, creando resistencia a múltiples sustancias y convirtiéndose en un problema de salud pública que se viene observando a nivel mundial después de la aparición de los antibióticos. También dice este mismo autor, que durante los últimos 20 años el uso indiscriminado de estos productos ha hecho que las bacterias dotadas de múltiples mecanismos bioquímicos, genéticos-moleculares y celulares desarrollen estrategias inherentes y adquiridas, que les permiten evadir con efectividad la acción de estos compuestos. En ese sentido, América Latina se encuentra entre las regiones con más alta incidencia de brotes nosocomiales producidos por bacterias que presentan resistencia a múltiples antibióticos (Casellas *et al.*, 1994).

En concordancia con lo anterior Cabrera *et al.*, (2007), comenta que el uso indiscriminado de los antibióticos y la presión selectiva ambiental realizada por antisépticos y desinfectantes ha generado una respuesta de supervivencia en los microorganismos, que los capacita para evadir con eficiencia la acción bactericida de algunos agentes. Teniendo en cuenta a Waldvogel (2000), y en concordancia el trabajo de Rodríguez y Vesga (2005), *Staphylococcus aureus* continúa siendo uno de los patógenos más importantes y versátiles de la especie humana, ocupando un lugar preponderante en las infecciones de piel y tejidos blandos, osteomielitis, neumonía, endocarditis y bacteriemias, cuyo tratamiento se hace cada vez más complejo debido a la gran capacidad del microorganismo de desarrollar resistencia a los antibióticos.

Por último, se resalta la importancia de este tipo de trabajo realizados en la región, por muchas razones; además, hay especies de plantas, que se encuentran en abundancia, pero no se les conocen ningún tipo de uso en las comunidades locales y pasan desapercibidas, como el caso de *Piper gorgonillense*. Igualmente, es importante realizar estudios de especies botánicas de un mismo género o familia, para contrastar la información de una función como la actividad biológica y los agrupamientos que por afinidad molecular hace la cladística recientemente, donde muchas especies de diferentes géneros se reagrupan en uno solo con base en la filogenia.

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a la Universidad Tecnológica del Chocó, al Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales (CENIVAM), a integrantes del Grupo de Productos Naturales, a las bacteriólogas Liliana Martínez y Milena Zaraza.

LITERATURA CITADA

- Alécio A. C.**, B. Vanderlan Da Silva, M. C. Marx Young, J. Massuo K., Burlan M. 1998. Antifungal amide from leaves of *Piper hispidum*. *Nat Prod.* **61** (5): 637-9.
- Bauer, A. W.**, Kirby, W.M.M., Sherris J.C., Turck, M. 1996. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J Clin Pathol.* **45**: 493-6.
- Bazalar V. D.**, Choquesillo P. F., Milla, F. H., Herrera, C. O., Félix, V. M. 1998. Acción inhibitoria de los extractos acuossos de *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Var truxyllense (Rusby) y *Plantago major* L., frente a bacterias y hongos. *Ciencia Investig.* **1** (2): 111-5.
- Blair, S.**, A. Correa, C. B. Zuluaga, H. D. Franco. 1991. *Plantas antimaláricas, una revisión bibliográfica*. Medellín: Universidad de Antioquia, Departamento de Publicaciones. 214 p.
- Buniato, O.A.**, Lajubutu, B. A. 1994. Antimicrobial potentials of some plants species of the Bignoniaceae family. *Afr Med Sci.* **23**: 263-73.
- Cayón, E.**, Aristizábal, S. 1980. Lista de plantas utilizadas por los indígenas Chami de Risaralda. *Cespedesia*, **9** (33-34): 6-114.

- Carreño J.**, Gauna M., Rios D. 2006. Infecciones recurrentes por *Staphylococcus aureus* en pacientes con piercing nasal asociado al estado de portador. *Ciencias de la Salud*. **4**: 116-22.
- Casellas J. M.**, M. E. Pinto, Guzmán Blanco M. 1994. Infectious diseases. *Clin North Am*. **8**: 29-45.
- Cabrera CE.**, Gómez R., Zúñiga E. 2007. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colomb Med*. **38**: 149-58.
- CENIVAM-PNP**. 2007. Cálculos basados en información de la base de datos *ISI Wos*, procesados con *MS-Excel*. Fecha de consulta 20/04/2007.
- Chiappeta, A.D.A.**, De Melo J.F., Maciel G.M. 1983. Higher plants with biological activity plants of Pernambuco I. *Rev Inst Univ Fed Pernambuco*. **21** (1/2): 43-50.
- Espinal P.**, Prieto E. 2006. Presencia del gen de invasividad *inv A* en cepas de *Salmonella spp* aisladas de alimentos del caribe Colombiano. *Rev Cubana Salud Publica*. **32**: 115-20.
- Fonnegra, R. G.** 2003. *Plantas colombianas potencialmente medicinales y aromáticas*. En: Simposio sobre plantas medicinales y aromáticas. Medellín: Herbario Universidad de Antioquia. p. 320-3.
- Forero, E.**, Gentry, A. 1989. *Lista anotada de las plantas del Departamento del Chocó*. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá: Editora Guadalupe.
- García, B. H.** 1974. Flora medicinal de Colombia. Botánica Médica (Tomos I, II, III). Bogotá: Imprenta Nacional.
- Glukoya, D. K.** Idita, N., Odugbeneii, T. 1993. Antibacterial activity of some medicinal plants from Nigeria. *J. Ethnopharmacology*. **39** (1): 69-72.
- Gracia, C.**, Correa, E., Rojas, N. 1995. Estudio fitoquímico preliminar y evaluación antimicrobiana de algunas plantas superiores colombianas. *Rev Colomb Cienc Quim Farmaceut* **23**: 42-8.
- Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC)**. 2006. *Chocó características geográficas*. Bogotá: Departamento Administrativo Nacional de Estadística.
- Linares J. F.**, Martínez J. L. 2004. Resistencia a los antimicrobianos y virulencia bacteriana. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. **23**: 86-93.
- López, A. M.**, Álvarez, T., González, J. 1997. Actividad antifúngica *in vitro* de *Pinus caribaea*. *Rev Cubana Plantas mMed*. **2** (1): 25-9.
- Márquez, R.**, Mercado, A. Vargas, C. de la Rosa, C. 2005. Actividad antibacteriana de *Pedilanthus tithymaloides* L. Poit (ultimorrial). *Actual Biol*. **27** (1): 21-5.
- Martínez, M.**, González, A., Cazares, L., García A. 1999. Activity of *Byrsonima crassifolia* (L.) HBK. *J. Ethnopharmacol*. **66**: 69-82.
- Meckes, M.**, Torres, J. Calzada, F. Rivera, J. Camorlinga, M., Lemus, H. *et al*. 1997. Antibacterial properties of *Helianthemum glomeratum*: a plant used in Maya traditional medicine to treat diarrhoea. *Phytother Res*. **11** (2): 128-31.
- Mesa-Arango, A.C.**, C. Martínez, B. Zapata, N. Pino-Benítez, J. G. Bueno, E. Stashenko. 2007. Actividad *in vitro* anti *Candida* y anti *Aspergillus* de extractos y aceites esenciales de plantas de la familia Piperaceae. *Scientia Technic*. **33**: 247-9.
- Meurer, B.**, McBeth, D. Hallihan B., Delph, S. 1996. Antimicrobial activity in medicinal plants of the Scrophulariaceae and Acanthaceae. *J Ethnopharmacol*. **34** (4): 243-8.
- Mitscher, L.A.**, Leu, R.P., Bathala, M.S., Wu, W.N., Beal, J.L. 1971. Antibiotic agents from higher plants. I Introduction rationale and methodology. *Lloydia*. **35**(2): 157-66.
- Otero, P. R.**, R. Fonnegra, S. L. Jiménez. 2000. *Plantas utilizadas contra mordeduras de serpientes en Antioquia y Chocó, Colombia*. Medellín: Ediciones Grandacolor.
- Pérez, A. E.** 1996. *Plantas útiles de Colombia*. 5ª edición del Centenario Facsimilar de la Tercera Redacción, Muy Corregida y Aumentada. 4ª edición con 752 fig. 5ª edición. Santander de Quilichao: Cargrafics SA.
- Pérez, A. E.** 1990. *Plantas medicinales y venenosas*. Medellín: Ediciones Triángulo.
- Pino-Benítez, N.**, H. Valois. 2004. Ethnobotany of four black communities of the municipality of Quibdó, Chocó, Colombia. *Lyonia*. **7** (2): 59-68.
- Pino-Benítez, N.**, Stashenko E. 2006. Contribución al estudio de la flora medicinal en el departamento del Chocó, Colombia. *Fitoterapia*. **6** (1): 125.
- Pino-Benítez, N.** 2000. Panorámica de algunas plantas medicinales del municipio de Quibdó. *Rev Institucional Universidad Tecnológica del Chocó*. **13**: 25-36.
- Orjuela, M. A.**, J. O. Rangel, A. Garzón. 2004. Uso de las plantas en el Chocó biogeográfico. En: *Colombia diversidad biótica IV. El Chocó biogeográfico/costa Pacífica*. Rangel, O Editor. Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales. p. 911-36.
- Rangel-Ch. J. O.**, O. Rivera-Díaz. 2004. Diversidad y riqueza de espermatófitos en el Chocó biogeográfico. En: *Colombia diversidad biótica IV. El Chocó biogeográfico/costa Pacífica*. Rangel, O Editor. Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales. p. 83-99.
- Rodríguez, C. A.**, Vesga, O. 2005. *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina. *Biomédica*. **25** (4): 48-53.

- Rojas, A.** Hernández, L. Pereda, R., Mata R. 1992. Screening for antimicrobial activity of crude drugs extract pure natural products from Mexican medicinal plants. *Ethnopharmacology*. **38**: 31-8.
- Steyermark, J. A.** 1984. *Flora de Venezuela. Piperaceae*. Vol II. Instituto Nacional de Parques, Direcciones de Investigaciones Científicas. Segunda parte. Mérida: Ediciones Fundación.
- Sivigila.** 2003. *Casos de intoxicación alimenticia en Bogotá*. Informe Semanal Grupo de Vigilancia en Salud Pública, Bogotá, DC. Semana Epidemiológica N° 19.
- Vanden, D. B.,** Vlietinck, A. J. 1991. Screening for antibacterial and antiviral agents for higher plants. *Methods Plant Biochem.* **6**: 47-69.
- Waldvogel, F. A.** 2000. *Staphylococcus aureus* (including staphylococcal toxic shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, Editors. *Principles and practice of infectious diseases*. 5th ed. Philadelphia: Churchill-Livingston.
- Weniger B,** L. Robineau. 1988. *Elementos para una farmacopea caribeña*. La Habana: Tramil 3.
- Xuan, T. D.,** A. A. Elzaawely, M. Fukuta, S. Tawata. 2006. Herbicidal and fungicidal activities of lactones in kava (*Piper methysticum*). *J Agric.Chem.* **54**: 720-5.