



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA
SALUD
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

TESIS

**“*Actinomycetales* DE ORIGEN MARINO CON ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

Bach. PEÑA HUAMAN, LEONOR ANA

ASESOR: Blga. Mg MALLQUI BRITO ETHEL VANIA

LIMA – PERÚ

2015

DEDICATORIA

A mi hermano Freddy por el apoyo brindado para culminar mis estudios superiores.

A mis amigos que siempre estuvieron conmigo cuando más los necesité.

A mi alma mater por ser fuente de conocimientos y base de mi emprendimiento profesional.

A mi asesora por ser mi guía de mis pasos en mi formación profesional.

AGRADECIMIENTOS

A los docentes de la Universidad Alas Peruanas, por las enseñanzas impartidas en mi alma mater.

A todas las personas que me ayudaron en mi intención de iniciar mi formación profesional, brindándome su incesante apoyo y ánimo en esta dura batalla de la vida, a ellos mi eterno agradecimiento siempre estarán en mi mente y corazón.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene por objeto demostrar la actividad antimicrobiana de *Actinomycetales* de origen marino frente a patógenos multidrogo resistentes, para ello se analiza siete investigaciones enfocadas en el estudio de sedimentos marinos y contenidos acuáticos en de las costas de américa central y Sudamérica desde Chile en el Océano Pacífico hasta Cuba en el océano atlántico. La actividad antimicrobiana evidenciada solo en cuatro de los siete estudios seleccionados se sustenta en la medición del halo de inhibición en milímetros en placa de agar en donde se han sembrado patógenos multidrogo resistentes, se trabajó con cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se lograron aislar e identificar cepas de *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* en las que los máximos halos de inhibición fueron ≥ 40 mm y ≥ 30 mm respectivamente en diferentes estudios frente a *Staphylococcus aureus*. Cuando se enfrentaron a la cepa patógena de *Pseudomonas aeruginosa* los resultados fueron que el máximo halo de inhibición lo obtuvo el género actinomycetos no específicos con un máximo >20 mm mientras que las cepas *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* obtuvieron un halo de inhibición ≥ 10 mm

Palabras clave: Sedimento marino, patógenos multidrogo resistente, antibiótico, *Actinomycetales*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

This research aims to demonstrate the antimicrobial activity of *Actinomycetales* seafood against multidrug resistant pathogens, for it seven research focused on the study of marine sediments and water contained in the coasts of Central and South America from Chile is analyzed in the Pacific ocean to Cuba in the Atlantic Ocean . The antimicrobial activity demonstrated in only four of the seven selected studies is based on measuring the zone of inhibition in mm agar plate where they have planted multidrug resistant pathogens, worked with clinical strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Were able to isolate and identify strains of *Streptomyces* and *Thermoactinomyces* where maximum inhibition halos were ≥ 30 mm and ≥ 40 mm respectively in different studies against *Staphylococcus aureus*. When faced the pathogenic strain of *Pseudomonas aeruginosa* results were that the maximum halo of inhibition obtained actinomycetes no specific genre with a maximum >20 mm while *Streptomyces* strains and *Thermoactinomyces* obtained an inhibition zone ≥ 10 mm

Keywords: marine sediment, multidrug-resistant pathogens, antibiotic, *Actinomycetales*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

ÍNDICE

CARÁTULA.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	V
ÍNDICE DE TABLAS.....	IX
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XI
INTRODUCCION.....	XII
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
1.1 Descripción de la Realidad Problemática.....	14
1.2 Formulación del Problema.....	16
1.2.1 Problema General.....	16
1.2.2 Problemas específicos.....	16
1.3 Objetivos de la Investigación.....	16
1.3.1 Objetivo General.....	16
1.3.2 Objetivos Específico.....	16
1.4 Hipótesis de la Investigación.....	17
1.4.1 Hipótesis General.....	17
1.4.2 Hipótesis Específicos.....	17
1.5 Justificación e Importancia de la Investigación.....	17
1.5.1 Justificación de la investigación.....	17
1.5.2 Importancia de la investigación.....	19
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	21
2.1 Antecedentes de la Investigación.....	21
2.2 Bases Teóricas.....	25
2.2.1 Bacterias.....	25
2.2.1.1 Morfología.....	26
2.2.1.2 Tamaño.....	27
2.2.1.3 Clasificación.....	28

2.2.2	<i>Actinomycetales</i>	29
2.2.2.1	Características Generales.....	30
2.2.2.2	Condiciones de Crecimiento.....	31
2.2.2.3	Ecología y Distribución.....	33
2.2.2.4	Clasificación.....	35
2.2.2.2	Género <i>Streptomyces</i>	36
	A) Morfología y Fisiología.....	36
	B) Importancia Médica.....	37
	C) Metabolito Secundario.....	37
	D) Fases de Crecimiento Microbiano.....	38
2.2.2.3	Género <i>Thermoactinomyces</i>	40
2.2.3	Bacterias Multidrogo Resistente.....	40
2.2.3.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	43
	A) Morfología.....	43
	B) Taxonomía.....	45
	C) Patogenicidad.....	45
2.2.3.2	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	46
	A) Morfología.....	46
	B) Taxonomía.....	47
	C) Patogenicidad.....	48
	CAPITULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	49
3.1	Tipo de Investigación.....	49
3.1.1	Método.....	49
3.1.2	Técnica.....	49
3.1.3	Diseño.....	50
3.2	Población y Muestreo de la Investigación.....	50
3.2.1	Población.....	50
3.2.2	Muestra.....	50
3.3	Variables e indicadores.....	51
3.4	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	51
3.4.1	Técnicas.....	51
3.4.2	Instrumentos.....	51

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE	
RESULTADOS.....	52
4.1 Resultados.....	52
DISCUSIONES.....	59
CONCLUSIONES.....	61
RECOMENDACIONES.....	62
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
ANEXOS.....	65

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: Clasificación según el manual de Berguy.....	28
TABLA N° 2: Clasificación Taxonómica.....	35
TABLA N° 3: Clasificación Científica de <i>Staphylococcus aureus</i>	45
TABLA N° 4: Clasificación científica de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	47
TABLA N° 5: <i>Actinomycetales</i> de origen marino con actividad antimicrobiana frente a patógenos MDR.....	52
TABLA N° 6: Actividad antimicrobiana según tamaño del halo de inhibición.....	54
TABLA N° 7: Actividad antimicrobiana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> MDR.....	56
TABLA N° 8: Actividad antimicrobiana frente a <i>Pseudomona aeruginosa</i> MDR.....	57

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO Nº 1: <i>Staphylococcus aureus</i> meticilino resistente, vistos a microscopia electrónica.....	44
GRÁFICO Nº 2: <i>Pseudomona aeruginosa</i> Resistente, visto a microscopia electrónica.....	47
GRÁFICO Nº 3: Actividad antimicrobiana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> según el tamaño del halo de inhibición.....	55
GRÁFICO Nº 4: Actividad antimicrobiana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> MDR.....	56
GRÁFICO Nº 5: Actividad antimicrobiana frente a <i>Pseudomona aeruginosa</i> Multidrogo Resistente.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS

1. **ARN :** ácido ribonucleico
2. **ATP:** Trifosfato de adenosina
3. **EPOC:** Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
4. **KPC:** *Klebsiella Pneumonie Carbapenemasa*
5. **MRSA :** *Staphylococcus aureus* meticilina resistente
6. **MSSA:** Methicillin-Sensitive *Staphylococcus Aureus*
7. **SARM:** *Staphylococcus aureus resistente* a meticilina
8. **VRE:** vancomycin-resistant *enterococcus*
9. **MDR:** Multidrogo resistente
10. **MMR:** microorganismo multirresistentes

INTRODUCCIÓN

La síntesis de compuestos químicos con actividad antimicrobiana como estrategia contra las infecciones representa un difícil y arduo trabajo, la investigación de microorganismos que de manera natural producen sustancias con efecto antimicrobiano es una opción válida, la búsqueda de estos compuestos continúa siendo la principal fuente de nuevos antimicrobianos. Desde la segunda mitad del siglo XX se tiene conocimiento de cerca de 50.000 productos naturales provenientes de microorganismos, de los cuales más de 10.000 son biológicamente activos y más de 8.000 son agentes antimicrobianos. Siendo uno de los principales productores de estos metabolitos las bacterias del suelo del orden *Actinomycetales*, de cuyos cultivos se han aislado importantes agentes antimicrobianos terapéuticos, como estreptomicina, amino glucósidos, macrólidos y tetraciclinas.

Los *Actinomycetales* son bacterias filamentosas Gram positivas, encontrándose principalmente en suelos, sin embargo también se hayan en ambientes acuáticos dulceacuícolas y marinos. Las bacterias (*Actinomycetales*) del suelo siguen siendo estudiadas, pero hay una notable merma en el hallazgo de nuevos productos, estimándose que más de 90% de los cultivos bioactivos descubiertos producen agentes ya informados o son variaciones menores de uno ya descrito. Por ello, el trabajo se ha dirigido hacia otros ambientes, como son: los sedimentos de ríos, lagos y océanos, así como plantas y animales acuáticos, que ofrecen la posibilidad de encontrar cepas silvestres no descritas que produzcan nuevos metabolitos secundarios farmacológicamente activos.

Los ecosistemas acuáticos difieren notablemente de los terrestres, se espera que las capacidades metabólicas y fisiológicas de los microorganismos acuáticos sean diferentes a las de sus contrapartes terrestres, ofreciendo un enorme potencial de descubrimiento de nuevas drogas. Esto podría determinar que los *Actinomycetales* en su proceso de adaptación al ambiente acuático, hayan desarrollado habilidades estratégicas que les otorgan mayores probabilidades de supervivencia, entre las cuales la producción de metabolitos bioactivos en contra de otras bacterias, hongos y otros organismos es una probabilidad cierta.

Staphylococcus áureos y *Pseudomona aeruginosa* multidrogo resistente son dos patógenos de mayor impacto en la sociedad, que han demostrado desarrollar resistencia a las moléculas de antimicrobianos actualmente desarrollados.

El objetivo del presente estudio es determinar la actividad antimicrobiana de los *Actinomycetales* de origen marino, pertenecientes a las familias de *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* frente a dos bacterias multidrogo resistente, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

La naturaleza ha constituido por miles de años una fuente de agentes medicinales para el hombre es impresionante el número de drogas que se han aislado desde fuentes naturales, especialmente plantas, las que han formado la base de un sistema de medicina durante milenios. El ambiente marino ha demostrado ser una fuente inagotable de recursos, entre ellos terapéuticos. Uno de los microorganismos de mayor utilidad en la búsqueda de moléculas con actividad antimicrobiana pertenece al orden *Actinomycetales*. (5).

Las bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*, han desarrollado mayor resistencia bacteriana como mecanismo de defensa al uso inapropiado de fármacos, los protocolos de prescripción no incluyen como parte de sus procedimientos regulares la identificación de la cepa bacteriana con el objeto de determinar si están frente a una mutación o no, la utilización indiscriminada de antimicrobianos no específicos ha dejado como consecuencia el incremento de microorganismos resistentes a antimicrobianos de uso común. (8).

La notable plasticidad genética de los microorganismos, reservorios humanos o ambientales donde pueden persistir o ser transmitidos genes de resistencia u organismos resistentes, por el uso aumentado e inapropiado de antibióticos, así como cambios sociales y tecnológicos que afectan la

transmisión de los microorganismos han demostrado ser los principales factores que han contribuido al incremento de la resistencia bacteriana.(10).

Si a esto se suma el aumento de pacientes inmunocomprometidos y de tratamientos con drogas inmunosupresoras, es entendible el incremento y emergencia de infecciones bacterianas y fúngicas. La síntesis química de drogas es una opción válida, la búsqueda de compuestos a partir de microorganismos continua siendo la principal fuente de nuevos antimicrobianos. (6).

Staphylococcus aureus y *Pseudomona aeruginosa* son dos de las bacterias patógenas aerobias causantes de la mayor proporción de infecciones intrahospitalarias produciendo complicaciones en los centros de hospitalización describiéndose una prevalencia de casos de pacientes que llegan por atención de una enfermedad inicial y su situación se complica al presentar infecciones oportunistas intrahospitalarias e incremento de los costos de hospitalización, siendo de absoluta necesidad el encuentro de moléculas con mayor eficacia.(7).

De lo expuesto se pretende evaluar *Actinomycetales* de origen marino con actividad antimicrobiana.

1.2 Formulación del Problema.

1.2.1 Problema General.

- ¿Los *Actinomycetales* de origen marino presentan actividad antimicrobiana *in vitro* frente a bacterias multidrogo resistente?

1.2.2 Problemas Específicos.

- ¿Los *Actinomycetales* de origen marino presentan actividad antimicrobiana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* multidrogo resistente?
- ¿Los *Actinomycetales* de origen marino presentan actividad antimicrobiana *in vitro* frente a *Pseudomona aeruginosa* multidrogo resistente?

1.3 Objetivos de la Investigación.

1.3.1 Objetivo General.

- Determinar si los *Actinomycetales* de origen marino presentan actividad antimicrobiana *in vitro* frente a bacterias multidrogo resistente.

1.3.2 Objetivos Específicos.

- Determinar si los *Actinomycetales* de origen marino presentan actividad antimicrobiana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* multidrogo resistente.

- Determinar si los *Actinomycetales* de origen marino presentan actividad antimicrobiana *in vitro* frente a *Pseudomona aeruginosa* multidrogo resistente.

1.4 Hipótesis de la Investigación.

1.4.1 Hipótesis General

- Los *Actinomycetales* de origen marino presentarían actividad antimicrobiana *in vitro* frente a bacterias multidrogo resistente.

1.4.2 Hipótesis Específicos

- Los *Streptomyces* de origen marino presentarían actividad antimicrobiana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* multidrogo resistente.
- Los *Thermoactinomyces* de origen marino presentarían actividad antimicrobiana *in vitro* frente a *Pseudomona aeruginosa* multidrogo resistente.

1.5 Justificación e Importancia de la Investigación.

1.5.1 Justificación de la Investigación

La creciente importancia de los microorganismos como productores de antibióticos y otras drogas es cada vez más vigente en la actualidad. Desde el descubrimiento de antimicrobianos a partir de un cultivo de *Penicillium notatum*, hecho que inauguró la “Edad

Dorada de los Antibióticos”, ha habido una intensa investigación destinada a descubrir nuevos productos de interés biomédico a partir de microorganismos del ambiente. Estos han incluido antibióticos como: penicilinas, cefalosporinas, aminoglicósidos, tetraciclinas, agentes inmunosupresores, etc. Como la ciclosporina (*Trichoderma* y *Tolypocladium*), que disminuye los niveles de colesterol, como la mevastatina y lovastatina, drogas antihelmínticas y antiparasitarias), antitumorales como las familias de compuestos del ácido aureólico, mitomicina y actinomicina, e incluso agentes antidiabéticos. (11).

Hoy en día, se considera que los futuros programas de “screening” de nuevas drogas, deben considerar la búsqueda de nuevas especies o géneros de microorganismos, así como su búsqueda en ambientes no explorados, como los *Actinomycetos* de origen marino. (13).

Los esquemas de tratamiento de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* tienen mucha importancia dentro de los servicios de hospitalización, presentan disminución de su eficacia.

El incumplimiento de las terapias, la no certeza en la elección de la terapia antimicrobiana y finalmente el uso indiscriminado de antimicrobianos han contribuido al incremento de la resistencia bacteriana. La investigación de nuevas moléculas es obligación de

los profesionales de la salud, entre ellos el profesional químico farmacéutico responsable de la síntesis y fabricación de medicamentos. Por lo expuesto el presente estudio pretende demostrar la actividad antimicrobiana de los *Actinomycetales* de origen marino, tales como los géneros de *Streptomyces* y *Thermoactinomyces*; frente a dos bacterias patógenas multidrogo resistente como *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*.

1.5.2 Importancia de la Investigación

Los océanos poseen la mayor riqueza filogenética sobre la tierra, presentando el mayor número de animales, plantas y microorganismos. Ellos han desarrollado una serie de estrategias metabólicas y fisiológicas, que les permitan sobrevivir en este medio extremo, lo cual puede significar la producción de metabolitos estructuralmente distintos a los encontrados en sus contrapartes terrestres. (14).

Las expectativas futuras de la utilización de *Actinomycetales* con fines industriales han conducido a los investigadores a la búsqueda de cepas de *Actinomycetales* a partir de agua y sedimentos acuáticos; las cepas del género *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* son las de mayor importancia para la obtención de sustancias de interés biológico como antimicrobianos de origen marino frente a diversas bacterias. (15).

Numerosos estudios han demostrado el potencial de *Actinomycetales* de origen marino como fuente de nuevas estructuras patrones antimicrobianos frente a bacterias patógenas multidrogo resistentes, he ahí su mayor importancia y trascendencia. (13).

Basándonos en las investigaciones realizadas, se pretende determinar los *Actinomycetales* de origen marino con actividad antimicrobiana sobre las cepas patógenas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* multidrogo resistente.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes de la Investigación.

- Montes Plascencia Cinthia en su investigación “**Aislamiento, identificación molecular y bioactividad de bacterias Gram positiva asociadas a la esponja *Aplysinaclathrata***”. 2013. Establece que las Bacterias Gram positivas, específicamente *Actino bacterias* y el Orden *Bacillares*, son un grupo de interés por la producción de compuestos secundarios bioactivos, que pueden ser utilizados como fuente de antibióticos. Los resultados de los ensayos de actividad biológica mostraron que el 32% de las cepas fueron activas. 33 cepas con actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* (5 cepas), *Escherichia coli* (1 cepa), *Pseudomona aeruginosa* (27 cepas) y *Cándida albicans* (1 cepa) con halos de inhibición de entre 7.8 a 25.7 mm, y once cepas con actividad hemolítica tipo α y β . Este estudio muestra el potencial de la esponja *A. clathrata* para el aislamiento de bacterias Gram positivas que pueden ser utilizadas con fines biotecnológicos.
- Torres-Beltrán M y Col en su investigación “**Evaluación del golfo de California como una fuente potencial de *actino bacterias* marina bioactivas**”. (2012). Las *actino bacterias* son productoras de una gran variedad de compuestos utilizados actualmente como antibióticos y anticancerígenos. En este trabajo se evaluó el potencial del golfo de California como fuente de cepas de *actino bacterias* bioactivas. En total, se aislaron 235 cepas de *actino bacterias* de los sedimentos de bahía

Concepción y bahía de los Ángeles, (México). Con base en su morfología, requerimiento de agua de mar para su crecimiento y secuenciación del gen 16S del ARNr, las cepas se clasificaron como *Streptomyces*, *Micromonospora* y *Salinispora*. Tres extractos en su fracción acuosa mostraron actividad antibiótica contra *Staphylococcus aureus*, que es resistente a la meticilina, con valores de actividad de 3% y 6% (cepas S-370 y S-369, respectivamente). La bioactividad observada en este trabajo ofrece la oportunidad de un estudio químico posterior para definir los metabolitos responsables de la actividad a fin de contribuir con el descubrimiento de nuevos fármacos y ubicar al golfo de California.

- Según Jorge León y Col. En su investigación “**Bacterias marinas productoras de compuestos antibacterianos aisladas a partir de invertebrados inter mareales**”. 2010. Realizó actividades prospectivas de muestreo de invertebrados inter mareales en la Bahía de Ancón con el objetivo de seleccionar bacterias marinas productoras de sustancias antimicrobianas. El estudio comprendió el aislamiento de bacterias en agar marino, pruebas de susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* y observaciones de microscopía electrónica. Reportando el aislamiento, caracterización fenotípica y propiedades antimicrobianas de diez cepas de bacterias marinas que incluyen a los géneros *Vibrio*, *Pseudomonas* y *Flavobacterium* del orden *Actinomycetales* que inhiben a patógenos de humanos. Los resultados indicarían que los invertebrados marinos serían fuentes de bacterias productoras de sustancias antibióticas.

- El mismo investigador Jorge León y Col. En su investigación **“Actinomyces bioactivos de sedimento marino de la costa central del Perú”**. 2007. Evaluó la actividad antibacteriana y anti fúngica de *Actinomyces* marinos sobre patógenos de origen clínico. Asimismo, fueron evaluadas la capacidad de producir enzimas extracelulares como carbohidrasas, lipasas y proteasas. Las evaluaciones antimicrobianas fueron realizadas frente a bacterias patógenas antibiótico -multirresistentes de origen clínico; en tanto, para evaluar su actividad multienzimática se utilizaron sustratos poliméricos diversos. Se aislaron un total de 62 *Actinomyces*, de los cuales 31 (50%) mostraron actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, 36 (59%) frente a *Pseudomona aeruginosa* y 23 (37%) a ambos patógenos. Las cepas de *actinomyces* I-400A y M10 77 identificadas en cada caso como *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* fueron las que exhibieron mayor actividad inhibitoria frente a *P. aeruginosa* y *S. aureus* respectivamente; Se concluye que el sedimento marino es fuente de *Actinomycetales* con gran capacidad de producir sustancias bioactivas de importancia médica-farmacológica e industrial.
- Leiva Sergio y Col. En su investigación **“Actividad antimicrobiana de Actinomyces aislados desde ambientes acuáticos del sur de Chile”**. 2004. Aisló actinomicetos a partir de sedimentos de ríos y lagos de Chile evaluando la actividad antimicrobiana contra cepas bacterianas de referencia y hongos patógenos. Se aislaron un total de 62 cepas de actinomicetos, principalmente *Streptomyces sp* (83,9%). Treinta y seis

cepas (58,1%) mostraron actividad antimicrobiana, principalmente frente a *Bacillus subtilis* y *Cándida albicans*. Algunos aislados inhibieron un amplio espectro de cepas indicadoras, como LRI cepa 4A (*Streptomyces sp*) que inhibía el *Bacillus subtilis*, *Cándida albicans* y 4 filamentosa hongos. Concluyendo que los lagos y ríos del sur de Chile son un importante reservorio de actinomicetos como una fuente potencial de nuevos fármacos.

- En 2004 Ortiz E. y Col. En su investigación “**Detección de actividades biológicas en microorganismos marinos aislados de la plataforma cubana**”. Se evaluaron 126 cepas de bacterias y actinomicetos marinos aislados de diferentes regiones de la plataforma cubana. Los resultados evidencian el potencial biotecnológico de estos microorganismos aislados ya que presentaron actividad contra patógenos considerados como intratables clínicamente y hongos fitopatógenos. Además se detectaron microorganismos potencialmente productores de antitumorales.
- De la misma forma Carolina Andrea Mancilla M. en su investigación “**Aislamiento, caracterización y actividad antimicrobiana de la Microbiota Bacteriana de agua y sedimentos marinos de la costa de Valdivia**”. 2003. Investiga bacterias heterotróficas, siendo *Vibrio* el género dominante. Se aislaron 5 cepas heterotróficas antagónicas, destacando las cepas UACH 54.5 y UACH 54.10, que mostraron actividad contra *S. aureus*. Para las bacterias oligotróficas, las especies de *Vibrio* fueron las predominantes, mientras que en los sedimentos el género dominante

Alcaligenes. Sólo las cepas oligotróficas UACH 26.5 y UACH 27.2 exhibieron antagonismo, el cual se dirigió contra *S. aureus*. Se aislaron 45 cepas de 2 Actinomycetes, mayoritariamente *Streptomyces* sp. (86,7 %). De ellas, 31 (68,9 %) exhibieron actividad antimicrobiana, principalmente contra *C. albicans* y *B. subtilis*. Algunas cepas presentaron un amplio espectro de inhibición, como la cepa UACH 024 (*Streptomyces* sp) que inhibió a todas las cepas indicadoras. Concluyendo que las aguas y sedimentos marinos del litoral de la costa Valdiviana serían un importante reservorio de bacterias antagónicas, constituyendo una fuente potencial de nuevos agentes antimicrobianos.

2.2 Bases Teóricas.

2.2.1 Bacterias

El término "*bacteria*" se aplicó tradicionalmente a todos los microorganismos Procariotas. Sin embargo, la filogenia molecular ha podido demostrar que los microorganismos procariotas se dividen en dos dominios, originalmente denominados *Eubacteria* y *Archaeobacteria*, y ahora renombrados como *Bacteria* y *Archaea*, que evolucionaron independientemente desde un ancestro común. Estos dos dominios, junto con el dominio Eukarya, constituyen la base del sistema de tres dominios, que actualmente es el sistema de clasificación más ampliamente utilizado en bacteriología. (17, 18).

2.2.1.1 Morfología

Las bacterias no poseen compartimientos intracelulares delimitados por membranas, por lo que carecen de membrana nuclear, a diferencia de los eucariotas no poseen cito esqueleto. También es importante destacar que el ADN procariota es circular y cerrado, mientras que el eucariota se organiza en cromosomas individuales y se asocia a proteínas de tipo histonas. Las bacterias poseen una pared celular compuesta por peptidoglicano (a excepción de los *Mycoplasmas*) mientras que las células eucariotas no tienen este tipo de pared (la pared celular de los vegetales es de celulosa). (12, 18).

Los procariotas pueden presentar flagelos, mientras las células eucariotas se reproducen por mitosis, las células procariotas lo hacen por fisión binaria. En dicho proceso la célula crece, se forma un tabique y finalmente se desprenden dos células nuevas. En este proceso se produce también la replicación del ADN, de forma que las células hijas contienen cada una un duplicado idéntico del genoma de la progenitora (17, 18).

Una unidad formadora de colonia (UFC) está constituida por los descendientes de una o unas pocas células. Las características de la UFC también dependen de la movilidad de la bacteria. El tamaño puede variar desde 0.5 mm

(*Haemophilus* sp. o *Neisseria gonorrhoeae*) a más grandes como las entero bacterias. La forma de la colonia puede ser circular (*Staphylococcus*), irregular o filamentosa (*Bacillus*). Los bordes pueden ser ondulados (característicos de los bacilos largos como *Bacillus anthracis*), en sierra o dentados (*Yersinia pestis*) o lisos (por ejemplo *Proteus vulgaris* o *Escherichia coli*). La superficie de la colonia también es orientadora y puede ser: plana, convexa, mamelonada, umbilicada (*Streptococcus pneumoniae*). En relación al pigmento que adquieren, éste puede ser: verde (*Pseudomona aeruginosa*), amarillo (*Staphylococcus aureus*), grisáceo (*Neisseria meningitidis*). También es diferente el comportamiento frente a la luz: brillante (*Streptococcus*) u opaca (*Staphylococcus*). Pueden presentar olores particulares como el frutal de *Pseudomona aeruginosa* o el putrefacto de los anaerobios (17, 19).

2.2.1.2 Tamaño

Las bacterias son organismos relativamente sencillos. Sus dimensiones son muy reducidas, unos 2 µm de ancho por 7-8 µm de longitud en la forma cilíndrica (bacilo) de tamaño medio; aunque son muy frecuentes las especies de 0,5-1,5 µm.

2.2.1.3 Clasificación

Tabla N° 1: Clasificación Bacteriana según el Manual de Bergey

ORDEN	FAMILIA	TRIBU	GÉNEROS	ESPECIES	
I. Eubacteriales	I. Nitrobacteriaceae	I. Nitrobacterieae	8 Géneros	29 Especies, ninguna patógena.	
		II. Azobacterieae	2 Géneros	12 Especies, ninguna patógena.	
	I. Streptococcaceae	I. Diplococcus	3	Especies, ej. D. pneumoniae.	
		II. Streptococcus	35	Especies, ej. S. pyogenes.	
		III. Leuconostoc	4	Especies, ej. L. mesenteroides.	
	II. Coccaceae	II. Neisserieae	I. Neisseria	7	Especies, ej. N. gonorrhoea. N. intracellularis. N. catarrhalis.
			II. Gaffkya	2	Especies, ej. G. tetragena.
		III. Micrococcaceae	I. Staphylococcus	5	Especies, ej. S. aureus.
			II. Micrococcus	41	Especies, ej. M. cereus, M. ureae.
	III. Spirillaceae	III. Sarcina	III. Sarcina	11	Especies, ej. S. ventriculi.
			IV. Rhodococcus	6	Especies, ej. R. rosaceus.
		I. Vibrio	I. Vibrio	20	Especies, ej. V. comma.
			II. Spirillum	5	Especies, ej. S. undula.
I. Serratia			27	Especies, ej. S. marcescens.	
II. Flavobacterium			67	Especies, ej. F. aquatilis.	
III. Chromobacterium			10	Especies, ej. C. violaceum.	
IV. Pseudomonas			31	Especies, ej. P. aeruginosa.	
I. Protominobacter			5	Especies, ej. P. albaflavum.	
I. Cellulomonas			33	Especies, ej. C. biazotea.	
IV. Bacteriaceae	IV. Achromobacterieae	I. Achromobacter	84	Especies, ej. A. liquefaciens.	
		I. Erwinia	12	Especies, ej. E. amylovora.	
	V. Erwinieae	II. Phytomonas	81	Especies, ej. P. campestris.	
		I. Lactobacillus	35	Especies, ej. L. acidophilus.	
	VII. Propionibacterieae	I. Propionibacterium	8	Especies, ej. P. freudenreichii.	
		I. Kurthia	2	Especies, ej. K. zenkeri.	
	IX. Pasteurelleae	I. Pasteurella	6	Especies, ej. P. pestis.	
		I. Klebsiella	6	Especies, ej. K. pneumoniae.	
	XI. Hemophilaeae	I. Hemophilus	8	Especies, ej. H. influenzae.	
		II. Dialister	1	Especie, ej. D. pneumosintes.	
	V. Bacillaceae	II. Aerobacter	II. Aerobacter	6	Especies, ej. A. aerogenes.
III. Proteus			7	Especies, ej. P. vulgaris.	
IV. Salmonella		IV. Salmonella	20	Especies, ej. S. enteritidis.	
		V. Eberthella	11	Especies, ej. E. typhi.	
VI. Shigella		VI. Shigella	13	Especies, ej. S. dysenteriae.	
		VII. Alkaligenes	10	Especies, ej. A. fecalis.	
XIII. Bacterioidaeae		I. Bacterioides	19	Especies, ej. B. fragilis.	
		I. Bacillus	93	Especies, ej. B. anthracis.	
II. Clostridium		II. Clostridium	50	Especies, ej. C. welchii.	
		I. Actinobacillus	1	Especie, ej. A. ligniarensi.	
II. Actinomycetales	I. Actinomycetaceae	II. Leptorichia	2	Especies, ej. L. buccalis.	
		III. Actinomyces	70	Especies, ej. A. hominis.	
	II. Mycobacteriaceae	IV. Erysipelothrix	2	Especies, ej. E. rhusiopathiae.	
		I. Mycobacterium	19	Especies, ej. M. tuberculosis (hominis).	
III. Chlamydo bacteriales	I. Chlamydo bacteriaceae	II. Corynebacterium	17	Especies, ej. C. diphtheriae.	
		III. Fusiformis	4	Especies, ej. F. dentium.	
IV. Thiobacteriales	I. Chlamydo bacteriaceae	IV. Pleifferella	1	Especie, ej. P. mallei.	
		5 Géneros	9	Especies, ninguna patógena. (Bacterias del hierro y del agua de los pantanos.)	
V. Myxobacteriales	I. Rhodobacteriaceae	32 Géneros	62 Especies, ninguna patógena.		
		II. Beggiatoaceae		Bacterias que contienen gránulos de azufre y/o bacteriorpurina.	
VI. Spirochaetales	III. Achromatiaceae	3 Géneros	21 Especies, ninguna patógena.		
		I. Myxobacteriaceae		Formando masas plasmoidales, en esterótoleros y en materias vegetales vías de descomposición.	
	I. Spirochaetaeae	I. Spirocheta	5	Especies, ej. plicatilis.	
		II. Saprospira	2	Especies, ej. S. grandis.	
		III. Cristispira	8	Especies, ej. balbianii.	
		IV. Borrelia	15	Especies, ej. B. recurrentis.	
V. Treponema	V. Treponema	8	Especies, ej. T. pallidum.		
	VI. Leptosira	4	Especies, ej. L. icterohaemorrhagiae.		

AUTOR: Bergey. 2001

2.2.2 Actinomycetales

Los *actinomicetales* representan un grupo ubicuo de microorganismos ampliamente distribuido en ecosistemas naturales y tienen gran importancia en la participación de la degradación de materia orgánica, además de ciertas propiedades fisiológicas que los hacen particulares. En un principio los *actinomycetales* se incluyeron entre los hongos porque su morfología y desarrollo presentaban gran similitud, dotados de un micelio verdadero; debido a esto se les denominó “hongos radiados”. Sin embargo hoy en día, y dado su carácter procariota, se sustenta muy bien su clasificación como bacteria (12,18).

Estos microorganismos resultan ser abundantes en suelos, tanto o más que las mixobacterias, también se encuentran en ambientes acuáticos, dulces y marinos. Dentro de sus características particulares presentan un olor típico a suelo húmedo por la producción de un metabolito llamado geosmina, adicionalmente presentan una actividad metabólica alta, producen terpenoides, pigmentos y enzimas extracelulares con la que son capaces de degradar la materia orgánica de origen vegetal y animal (8, 12,14).

A pesar de su abundancia en los ambientes terrestres y su estudio en este medio como fuente de moléculas con actividad antimicrobiana debemos mencionar el caso del orden *Actinomycetales* de origen marino dado que en este particular medio han desarrollado eficacia en la actividad antimicrobiana de manera especial frente a patógenos

multidrogo resistentes. Es el caso de los géneros *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* de origen marino que presentaron interesantes resultados manifestando gran actividad antimicrobiana bien representada en halos de inhibición frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* ambos multidrogo resistente.

2.2.2.1 Características Generales

Los *Actinomycetos* constituyen un grupo heterogéneo de microorganismos; son bacterias Gram positivas que se caracterizan por su capacidad de formar filamentos ramificados. El orden de los *Actinomycetales* comprende 63 géneros constituyendo, aproximadamente del 20-60% de la población microbiana del suelo (2,6).

La mayoría de los *Actinomicetales* son mesofilos y su crecimiento se registra entre 25°C a 30°C, temperaturas inferiores a 5°C el crecimiento es nulo prácticamente y temperaturas superiores a 55°C solo algunas especies termofilicas de *Streptomyces sp*, *Thermomonosporas sp* y *Thermoactinomyces sp*. son capaces de crecer aunque el efecto de la alta temperatura posiblemente sea letal para el microorganismo si está acompañado de humedad (7,9).

En relación con los requerimientos de oxígeno, estos microorganismos generalmente son aerobios creciendo en

buena proporción en suelos drenados de granulación óptima que permiten un adecuado intercambio gaseoso. De acuerdo a la especie son afectados por la disminución en la concentración de oxígeno, debido a que algunos de ellos son micro aerófilicos y toleran bajas presiones parciales de dicho gas en el suelo. (13,14).

Los actinomicetos predominan en forma libre en suelos secos y cálidos en cantidades de millones por cada gramo de suelo, se caracterizan por tener la capacidad de sintetizar antibióticos y se han descritos como posibles promotores de crecimiento vegetal (3, 7).

2.2.2.2 Condiciones de Crecimiento

La adicción de materia orgánica a los suelos estimula la multiplicación y actividad de los *Actinomycetales*, los suelos alcalinos y neutros resultan ser más favorables para el desarrollo de estas bacterias; el rango de pH óptimo para las actividades de estos microorganismos se encuentran entre 6.5 y 8.0; en suelos con pH por debajo de 5.0 es frecuente observar su ausencia. Los actinomicetales al ser principalmente aerobios se desarrollan favorablemente en suelos bien aireados; suelos con humedad entre el 80 y el 90% son perjudiciales para el crecimiento de los *Actinomicetos*. El porcentaje de *actinomycetales* en la población total microbiana incrementa con

la profundidad del suelo, sin embargo pueden ser encontrados en la superficie de este. Los géneros *Streptomyces*, *Nocardia* y *Micromonospora* se encuentran frecuentemente como habitantes del suelo (2, 4,8).

La mayoría de los *Actinomicetales* crecen en medios como agar nutritivo, agar tripticasa soya, agar sangre agar infusión cerebro corazón. Sin embargo para la diferenciación y el desarrollo de esporas y/o pigmentos se necesita de medios suplementados con quitina coloidal, extracto del suelo, avena, almidón con sales inorgánicas, agar agua con determinados polisacáridos como fuente de carbono, extracto de levadura o peptona. Por ejemplo las colonias de algunas especies de *Streptomyces* que crecen como colonias duras, brillantes y pálidas en agar nutritivo; en medio avena o de sales inorgánicas con almidón pueden crecer como colonias amarillas brillantes con micelios aéreo pulverulento blanco (3,5).

El crecimiento de las colonias de Actinomicetales en medio solido se puede ver a los 3 o 4 días de incubación pero el desarrollo de micelio aéreo maduro con esporas puede tardar entre 7 y 14 días en desarrollarse, y el algunas cepas de crecimiento lento hasta más de un mes de incubación. El crecimiento en medios líquidos estacionarios se restringe a la formación de una película en la superficie o quizás un sedimento

algodonoso dejando el medio líquido transparente. Por lo cual para el crecimiento en medios líquidos se recomienda una agitación a velocidades como 200 o 500 revolución por minuto (rpm) para suministrar la mejor aireación posible. A diferencia de las bacterias no filamentosas, los *Actinomicetales* pueden crecer formando “pellets” o agrupaciones de filamentos en medios líquidos. Se caracterizan por no producir mucopolisacáridos como otras bacterias como las *Mixobacterias*, de ahí que se observan en placas de agar como colonias secas y no cremosas (5, 7,11).

2.2.2.3 Ecología y Distribución

Los *Actinomicetales* son microorganismos muy ubicuos que se encuentran en la gran mayoría de sustratos naturales, ampliamente distribuidos en una gran variedad de hábitats diferentes: suelo, agua marina, agua dulce, aire, estiércol, fango de los ríos y fondo de los lagos. Son saprofitos y algunas especies pueden provocar enfermedades a las plantas, animales domésticos e incluso al hombre (3, 4,6).

En el suelo se encuentran en casi todos los tipos y bajo condiciones extremas disminuyen levemente la concentración de la población. Su número varía en gran proporción según el caso, pero es común encontrar en suelos fértiles con concentraciones de 10 UFC/g-1 de suelo seco. Por lo general se

aíslan cepas de *Actinomycetos* en la superficie del suelo y profundidades entre 2 y 15cm, más allá de esta profundidad disminuye la capacidad de estos. El tamaño de la comunidad depende del tipo de suelo, particularmente de algunas de las características físicas, del contenido de materia orgánica y del

Los principales géneros que se aíslan a partir de suelos son *Nocardia*, *Streptomyces* y *Micromonospora*, que pueden estar como conidias o como hifas vegetativas, sin embargo, los métodos de aislamiento convencionales muestran que el 95% de los *actinomicetos* aislados a partir de suelo pertenecen al género *Streptomyces*. También el uso de técnicas moleculares para la detección de estas bacterias en diferentes ambientes ha mostrado la presencia de organismos de la clase *Actinomicetos* que no ha podido ser aislado por técnicas tradicionales de cultivo. Cientos de estos organismos no han sido identificados, y la posición filogenética de algunos sub grupos muestra que su divergencia corresponde con la de los géneros tradicionales de *Actinomicetos*, indicando una estructura rica en organismos de esta clase y no cultivables en suelo (1, 3, 5).

Algunos géneros han sido reportados como fijadores de nitrógeno atmosférico, como *Frankia* y algunas cepas pertenecientes a las familias *Thermonosporaceae* y *Micromonosporaceae* (4,8) .

Los *Actinomicetos* también han sido descritos como agentes de biocontrol por la capacidad de producir enzimas biodegradativas como quitinasas, glucanasa, peroxidasa y otras, involucradas en el papel del mico parasitismo que llevan a cabo estos microorganismos (2, 3).

2.2.2.4 Clasificación

Tabla N° 2: Clasificación Taxonómica

Nº	Categoría Taxonómica	Clasificación Científica
1	Dominio	Bacteria
2	Phyllum	BXIV <i>Actinobacteria</i>
3	Sub Clase	<i>Actinobacteridae</i>
4	Orden	<i>Actinomycetales</i>
5	Sub Orden	<i>Corynebacteriaceae</i>
6	Familia	<i>Mycobacteriaceae</i>

AUTOR:http://www.fcq.uach.mx/phocadownload/Academico/Material_de_Estudio/micobacterias/clasificacion/clasificacion.html

Muchas *Actinobacteria* se destacan por su capacidad para producir compuestos que tienen características útiles en farmacología. En 1940 Selman Waksman descubrió en el suelo las bacterias que producen actinomicina, un descubrimiento que le valió el premio Nobel. En la actualidad se han descubierto desde entonces centenares de antibióticos naturales en estos microorganismos, especialmente provenientes de

ambientes marinos en los géneros *Streptomyces* y *Thermoactinomyces*.

2.2.2.5 Género *Streptomyces*

Los *Streptomycetos* esta representados por el género *Streptomyces*, que agrupa un gran número de especies y variedades. Los *Streptomycetos* son los *Actinomicetos* más abundantes en la naturaleza, con más de 140 especies. Los filamentos de *Streptomyces* suelen tener un diámetro de 0.5 – 1.0 μ , son de longitud indefinida y a menudo carecen de paredes celulares transversales en la fase vegetativa. El crecimiento se produce en los extremos del filamento y suele ir acompañado de ramificación, por lo que la fase vegetativa consiste en una matriz entretejida apretada y compleja, que forma una colonia compacta y enroscada. La colonia llega a formar unos filamentos aéreos característicos (1, 8).

A. Morfología y Fisiología

La identificación de una especie de *Streptomyces* emplea criterios morfológicos. Las cadenas de esporas pueden ser rectas, enroscadas o espiraladas. Otras características importantes incluyen: superficie de la espora, pigmentos asociados con las esporas, los filamentos profundos o filamentos difusibles (2,7).

B. Importancia Médica

Si observamos el impacto de las bacterias patógenas sobre la humanidad causantes de enfermedades infecciosas con desenlaces mortales encontramos evidencia que en la misma naturaleza se encuentran otros grupos bacterianos que en función del equilibrio ecológico combaten a las bacterias que inicialmente causaron la enfermedad, este fenómeno es parte de los mecanismos por los cuales los grupos bióticos delimitan su espacio vital. Los descubrimientos tecnológicos nos han permitido identificar cuáles son los grupos bióticos que tienen propiedades antimicrobianas contra los denominados patógenos, es el caso de los *Actinomicetales* de origen marino como nueva fuente de agentes antimicrobianos sobre todo contra los patógenos multidrogo resistentes. Eh ahí la mayor importancia médica de los *Streptomyces*, la producción de antibióticos siendo responsables de un 75 % de los antibióticos conocidos, los restantes derivan de hongos y de otras bacterias (2,7).

C. Metabolito Secundario

Metabolitos secundarios es un tipo de metabolismo de biosíntesis desarrollado por bacterias, algas, corales, esponjas, plantas y animales inferiores, muy poco

frecuente producido por animales superiores, el metabolito secundario es más común en organismos que carecen de un sistema inmune, son moléculas sintetizadas por determinados microorganismos, típicamente en una fase tardía de su ciclo de crecimiento *in vitro*, no son indispensables para el microorganismo que los produce. En estado natural, sus funciones se han asignado a la supervivencia de la especie, pero cuando los microorganismos que los producen se desarrollan en cultivo puro los metabolitos secundarios no desempeñan esa misión.

Generalmente se producen como mezclas de productos relacionados químicamente entre sí. Por ejemplo, una única cepa correspondiente a una especie del género *Streptomyces*, puede producir hasta 32 antraciclinas diferentes. Cada uno de estos productos es producido por un grupo muy reducido de organismos, la producción puede perderse fácilmente por mutación espontánea, por lo que son muy importantes las técnicas de conservación de estos microorganismos (1,8).

D. Fases del Crecimiento Microbiano

Para fines de estudio las fases de crecimiento se dividen en trofofase, una fase de crecimiento logarítmico, e

idiofase, la fase estacionaria. En la trofofase no se producen normalmente los metabolitos secundarios. Pero en la idiofase sí. Aunque es una simplificación pensar sólo en dos fases, esta simplificación permite comprender de mejor forma la biosíntesis de metabolitos secundarios en fermentaciones industriales. Si se requiere de la producción de un metabolitos secundarios, deben garantizarse las condiciones apropiadas para un buen crecimiento, y una excelente producción del metabolito secundario (1,4,9).

Los factores que ponen en marcha la producción de metabolitos secundario al final de la trofofase no se conocen del todo; Se sabe que este mecanismo se dispara normalmente cuando algún nutriente del medio se ha agotado. En algunas ocasiones el nutriente responsable es una fuente de carbono, en otras el nitrógeno o el fósforo. La explicación puede ser que al faltar nutrientes se alteren los metabolitos primarios y se originen inductores de enzimas encargados de la síntesis de los metabolitos secundarios. Otra explicación es que la falta de una fuente de carbono cesa un tipo de represión por catabolismo permitiendo la síntesis de enzimas útiles en la biosíntesis de metabolito secundario (1, 5,9)

2.2.2.6 Genero Thermoactinomyces

Bacteria Gram positiva, no ácido-alcohol resistente, termófilo, que crece en filamentos largos y ramificados, de 1-2 µm de diámetro, con fragmentación múltiple. Esporas redondeadas. Colonias de color blanco con surcos radiales en la superficie (2,6)

El género *Thermoactinomyces* por sus características de crecimiento es de difícil aislamiento y caracterización razón por la cual no existen muchos trabajos de investigación que refieran trabajos en él. Sin embargo según la bibliografía analizada es el segundo genero dentro de la familia *Actinomyceteeae* que presenta actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* multidrogo resistente.

2.2.3 Bacterias Multidrogo Resistente

Epidemiológicamente los microorganismos multirresistentes (MMR) se definen como aquellos microorganismos que son resistentes a una o más clases de antibióticos. No existe una definición universalmente aceptada de bacteria multirresistentes que sea aplicable a todos estos microorganismos; el concepto puede tener matices diferentes en función de que el enfoque sea clínico, microbiológico o epidemiológico. Desde un punto de vista general, la definición debe incluir al menos dos condiciones: que exista resistencia a más de una familia o grupo de antimicrobianos de uso habitual, y que esa resistencia tenga relevancia

clínica (es decir, que suponga o pueda suponer una dificultad para el tratamiento) y epidemiológica (posibilidad de brotes epidémicos, transmisión del mecanismo de resistencia, etc.). Aceptando estas condiciones, el término “**microorganismo multirresistentes**” se ha utilizado sobre todo para bacterias clásicamente hospitalarias que han desarrollado resistencia a múltiples antimicrobianos, y que son capaces de ocasionar brotes, como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), *Enterococcus sp.* resistentes a vancomicina (ERV), enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y bacilos Gram negativos (BGN) no fermentadores como *Acinetobacter baumannii* o *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a distintos grupos de antimicrobianos.

Los pacientes atendidos en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) son especialmente vulnerables a ser colonizados o infectados por (MMR). Esta resistencia antibiótica es un factor que repercute en la evolución del paciente crítico y en el consumo de recursos dentro de las unidades. En la aparición y difusión de resistencia a antibióticos confluyen dos factores fundamentales: las medidas de control de la infección y la presión selectiva de los antimicrobianos.

Las infecciones son el evento adverso más comúnmente asociado a cuidados de la salud. Según la Sociedad Americana para las Enfermedades Infecciosas (por sus siglas en inglés, IDSA), al menos en Estados Unidos, las infecciones adquiridas en el hospital, afectan a más

de 2 millones de personas, causando la muerte a cerca de 100 mil personas y con un costo estimado entre los 21 y los 34 billones de dólares anualmente. Del 5 al 10% de los pacientes que ingresan al hospital, presentan alguna infección intrahospitalaria, siendo 5 a 10 veces más frecuente en la unidad de cuidados intensivos, afectando al 30% de estos pacientes (8, 6).

El 80% de las infecciones adquiridas en el hospital se deben, a infecciones del tracto urinario, asociadas a cateterización vesical, neumonías asociadas a cuidados de la salud, principalmente las asociadas a ventilador, infecciones del sitio quirúrgico e infecciones sanguíneas relacionadas y asociadas a dispositivos intravasculares, principalmente al uso de catéteres centrales. Además, en la Unidad de Cuidados Intensivos, la resistencia antimicrobiana ha emergido como uno de los principales retos, ya que, aquí se presentan los escenarios clínicos necesarios para el desarrollo de patógenos multidrogo resistentes (MDR) como, susceptibilidad de los pacientes a infecciones bacterianas, uso de terapia con antibióticos de amplio espectro, así como fenómeno de presión y selección natural como factor de supervivencia bacteriana (2,5).

Los organismos MDR tienen una resistencia adquirida a múltiples clases de antibióticos no relacionados entre sí debido a su exposición secuencial o adquisición de elementos genéticos mediadores de resistencia. Las principales bacterias MDR de importancia hospitalaria

se pueden recordar con el acrónimo ESKAPE, cuyas letras indican a *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*), *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa (KPC), *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomona Aeruginosa* y bacterias ESBL positivas, como *Escherichia coli* y *Enterobacter sp* (3, 5,6).

2.2.3.1 *Staphylococcus aureus*

A. Morfología

El *Staphylococcus aureus* es uno de los principales patógenos causantes de infecciones nosocomiales siendo el reservorio habitual los humanos y el principal medio de transmisión el contacto directo de persona a persona, con frecuencia a través de las manos de los profesionales que prestan cuidados sanitarios y no sanitarios.

En los últimos años su detección ha aumentado de forma importante, tanto en la población general como entre las personas residentes en instituciones socio-sanitarias, debido a sus características estructurales y al estado de salud de sus usuarios. Aunque la patogenicidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) es similar a la de los no resistentes, las consecuencias derivadas de la infección por él son de mayor trascendencia debido a la fragilidad del estado de

salud de muchos de los afectados y a la limitación de las posibilidades terapéuticas a unos pocos antibióticos.



Gráfico N°1: *Staphylococcus aureus* meticilina resistente visto a microscopia electrónica.

Fuente: http://en.wikipedia.org/wiki/Methicillin-resistant_Staphylococcus_aureus

La no aplicación de medidas específicas de precaución y aislamiento de los casos afectados puede favorecer su propagación al resto de la población institucionalizada aumentando el número de portadores y, así, perpetuar la situación de forma que se dificulte el control.

Staphylococcus aureus, conocido comúnmente como estafilococo dorado, es una bacteria anaerobia facultativa, Gram positiva, no esporulada, inmóvil, de 0,5 a 1 μ de diámetro, que se divide en tres planos para

formar grupos de células irregulares semejantes a racimos de uvas; *Staphylococcus aureus*, es coagulasa positiva y un reconocido patógeno humano, siendo agente etiológico de un amplio espectro de infecciones de origen comunitario y nosocomial. (1, 6,7).

B. Taxonomía

TABLA N^o 3: Clasificación Científica de *Staphylococcus aureus*

Categoría Taxonómica	Clasificación científica
Dominio	Bacteria
Reino	Procariota
División o Phylum	Firmicutes
Clase	Bacilli
Orden	Bacillales
Familia	Micrococcaceae
Género	<i>Staphylococcus</i>
Especie	<i>S. aureus</i>

AUTOR: Gabriel Elías, Castro Alcocer - 2012

C. Patogenicidad

Staphylococcus aureus produce infecciones de dos maneras:

- En forma directa, por invasión y posterior destrucción tisular local (proceso supurado), o luego de haberse diseminado por vía sanguínea.
- A través de efectos de toxinas. Estas infecciones están causadas por la liberación al medio de sustancias tóxicas, que pueden ejercer su acción a cierta distancia del foco infeccioso.

El SARM provoca una infección localizada (piel, tejidos blandos, aparato respiratorio, urinario) o diseminada (bacteriemia, sepsis). Se trata de pacientes habitualmente vulnerables con pluripatología crónica, deterioro funcional, reingresos hospitalarios frecuentes, inmunodepresión, portadores de dispositivos invasivos (catéteres intravenosos, sondas urinarias permanentes, traqueotomía.) y uso prolongado de antibióticos.

2.2.3.2 *Pseudomona aeruginosa*

A. Morfología

Son bacilos Gram negativos, móviles con flagelos polares, aerobios estrictos, metabolismo oxidativo no fermentativo, crece entre 10 y 42°C). Suele presentar resistencia a cefalosporinas de tercera generación o amino glucósidos y fluorquinolona. Raramente provoca brotes salvo en pacientes con factores de riesgo que presenten Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) severo, fibrosis quística o inmunodepresión.



Gráfico Nº 2: *Pseudomona aeruginosa* Resistente, visto a microscopia electrónica.

FUENTE: <http://www.higieneambiental.com/calidad-de-aire-interior/pseudomonas-aeruginosa-patógeno-nosocomial-en-expansión>

B. Taxonomía

Tabla Nº 4: Clasificación científica de *Pseudomona aeruginosa*

Categoría taxonómica	Clasificación científica
Dominio	Bacteria
Reino	Procariota
División o Phylum	Proteobacteria
Clase	Gamma Proteobacteria
Orden	Pseudomonadales
Familia	Pseudomonadaceae
Género	<i>Pseudomona</i>
Especie	<i>P. Aeruginosa</i>

AUTOR: Gabriel Elías, Castro Alcocer - 2012.

C. Patogenicidad

Comprende tres etapas:

- Colonización o adherencia.
- Invasión local (mediante varias proteasas, dos hemolisinas y la cápsula).
- Diseminación (el lípido A de la endotoxina de *Pseudomonas* es capaz de ocasionar coagulación intravascular diseminada y shock y la mayoría de las cepas de *Pseudomonas* son capaces de producir exotoxina A).

La lesión más característica de la infección por *P. aeruginosa* es la infiltración bacteriana de las paredes de las arteriolas con trombosis y, como consecuencia, zonas de necrosis o de hemorragia, principalmente en la piel, los pulmones y los riñones.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo de investigación

- No experimental.

3.1.1 Método.

- ✓ **Científico:** porque la tesis se trabaja siguiendo las pautas de dicho método.
- ✓ **Analítico:** Analiza el comportamiento de los microorganismos del orden *Actinomycetales* y sus metabolitos con actividad antimicrobiana frente a bacterias multidrogo resistentes *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*.
- ✓ **Inductivo:** Porque los datos de siete investigaciones se han analizado y nos ha servido para las respectivas conclusiones.
- ✓ **Cuantitativo:** El procesamiento de los datos se han analizado estadísticamente para los estudios de los halos de inhibición.

3.1.2 Técnica de Investigación.

- ✓ **Descriptiva:** Se describen las actividades antimicrobianas de los Actinomycetales frente a bacterias multidrogo resistentes tales como *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*.

- ✓ **Documental:** La presente investigación se basa en trabajos de *Actinomycetales* de origen marino con actividad antimicrobiana.

- ✓ **Transversal:** Se recolectaron datos de Setiembre – Diciembre del 2014.

3.1.3 Diseño

- ✓ **No experimental:** Porque solo se a basado en estudios de diversos autores; relacionados con los efecto de los microorganismos del orden *Actinomycetales* y sus metabolitos con actividad antimicrobiana frente a bacterias multidrogo resistentes tales como *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*.

3.2 Población y Muestreo de la Investigación

3.2.1 Población.

- Estudios sobre *Actinomycetales*.

3.2.2 Muestra.

- Siete estudios sobre *Actinomycetales* de origen marino.

3.3 Variables e Indicadores.

Variable independiente	Indicadores
<i>Actinomycetales</i> marinos	<i>Streptomyces</i> de origen marino <i>Thermoactinomyces</i> de origen marino
Variable dependiente	Indicadores
Actividad antimicrobiana	Tamaño del halo inhibitorio

3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.

3.4.1 Técnicas.

- Selección de fuentes de consulta.
- Análisis e interpretación de los datos de las fuentes seleccionadas.

3.4.2 Instrumentos.

- Elaboración del formato de registro de datos.

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados

Los resultados obtenidos se registraron en base a la metodología aplicada; a continuación se consideran solo dos cepas de *Actinomicetos* del género *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* de origen marino que tienen actividad antimicrobiana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* multidrogo resistente, aunque para ello los investigadores de las fuentes seleccionadas trabajaron con más de 126 cepas de *Actinomicetos*.

Tabla N° 5: Actinomycetales de origen marino con actividad antimicrobiana frente a patógenos MDR.

N°	País - Año	MUESTRAS		ACTINOMICETALES	BACTERIAS MDR Tamaño de Halo de Inhibición en mm		%
		TOTAL	Cantidad de cepas		GÉNERO	<i>Staphylococcus aureus</i>	
1	PERÚ 2007	62	31	<i>Streptomyces sp</i>	> 30 mm	≥ 10 mm	50%
		62	36	<i>Thermoactinomyces</i>	≥ 10 mm	≥ 10 mm	59%
2	PERÚ 2010	102	10	<i>Actinomycete sp</i>	≥20 mm	> 20 mm	9.8%
3	PERÚ 2011	29	24	<i>Streptomyces sp</i>	≥ 40 mm	0 mm	83.3
		29	23	<i>Thermoactinomyces</i>	≥ 14 mm	0 mm	81.3
4	CUBA 2004	126	22	<i>Actinomycetes</i>	≥ 20 mm	0 mm	17.4

Autor: Elaboración propia

En la **Tabla N°5**. Se presenta el resumen general de los datos obtenidos en el análisis de las investigaciones referentes a la evidencia de *Actinomycetales* de origen marino que demostraron eficacia antimicrobiana frente a patógenos multidrogo resistentes tanto a *Staphylococcus aureus* como a *Pseudomona aeruginosa*, en referencia a las cepas algunas de ellas fueron reconocidas por interpretación de su morfología y en otros casos solo se reconoce que pertenecen al género *Actinomyces*. Solo en dos casos se pudo identificar a las cepas *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* como responsables de la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* con un halo de inhibición máximo de ≥ 40 mm y ≥ 14 mm respectivamente. Es necesario mencionar que el cálculo del porcentaje es operado en base al total de 62 y 29 cepas presentadas en el estudio 01 y el estudio 03 por separado motivo por el cual se repite el número total de muestras en esos casos.

Tabla N° 6: Actividad antimicrobiana según el tamaño del halo de inhibición

Países	Cepas estudiadas	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>
Perú 2007	<i>Streptomyces sp</i>	>30 mm	≥ 10 mm
	<i>Thermoactinomyces</i>	≥10 mm	≥ 10 mm
Perú 2010	<i>Actinomyces</i>	≥ 20 mm	>20 mm
Perú 2011	<i>Streptomyces sp</i>	≥ 40 mm	0
	<i>Thermoactinomyces</i>	≥ 14 mm	0
Cuba 2004	<i>Actinomyces</i>	≥ 20 mm	0

Autor: Elaboración propia

En la **Tabla N° 6** se muestran los cuatro estudios de *Actinomycetales*, tres de los cuales son peruanos y uno procedente de Cuba, en los que se evidencia actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y a *Pseudomona aeruginosa*. Las cepas que se pudieron identificar pertenecen al género *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* que se encuentran en mayor cantidad en las costas del Perú, como podemos observar frente a los resultados de Cuba que no identificaron las cepas; las cepas del género *Streptomyces* alcanzaron un máximo ≥ 40 mm de halo de inhibición en el estudio Perú 2011, mientras que el género *Thermoactinomyces* alcanzó un máximo ≥ 14 mm en el mismo estudio. Por último el género *Actinomycetos* en los que no se identificó la especie por su dificultad en su aislamiento, alcanzó un máximo ≥ 20 mm de halo de inhibición frente a *Staphylococcus aureus* y > 20 mm frente a *Pseudomona aeruginosa* mientras que el estudio Cuba 2004, alcanzó un máximo ≥ 20 mm de halo de inhibición solo frente a *Staphylococcus aureus*.

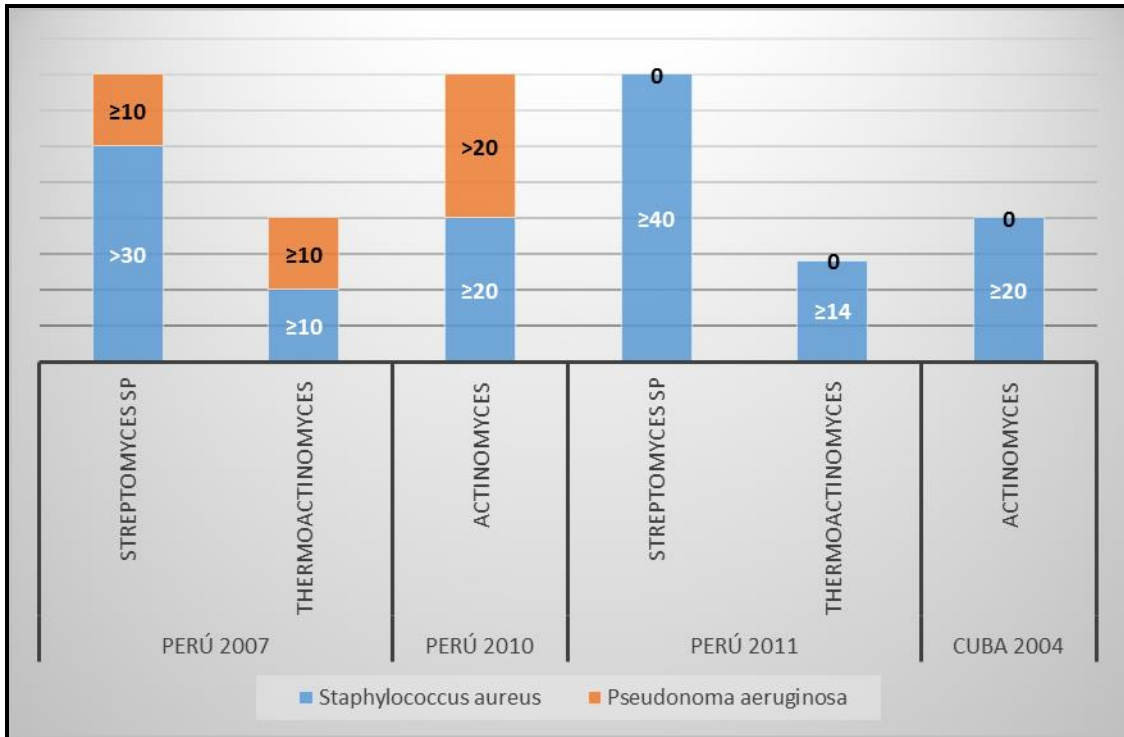


Gráfico N° 03: Actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* según el tamaño de halo de inhibición.

Autor: Elaboración propia

En el **Gráfico N° 03** se muestra que en el estudio Perú 2011 manifestó el mayor tamaño de halo de inhibición con ≥ 40 mm en comparación al estudio Perú 2007 que alcanzó un halo ≥ 30 mm frente a *Staphylococcus aureus*, siendo la cepa de *Streptomyces* la de mayor actividad antimicrobiana. Por otro lado en el estudio Perú 2010 la cepa perteneciente al género *Actinomycetos* manifestó la mayor actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* con un halo de inhibición > 20 mm, frente al estudio Perú 2011 que con la cepa de *Thermoactinomyces* alcanzó ≥ 10 mm de halo de inhibición.

Tabla N° 07: Actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* MDR

Cepas estudiadas	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Streptomyces sp</i>	≥40 mm
<i>Thermoactinomyces</i>	≥14 mm
<i>Actinomyces</i>	≥20 mm

Autor: elaboración propia

En la **tabla N°07** se muestra las tres cepas que presentaron mayor actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* MDR de las que la cepa *Streptomyces sp* presentó un máximo ≥ 40 mm de halo de inhibición

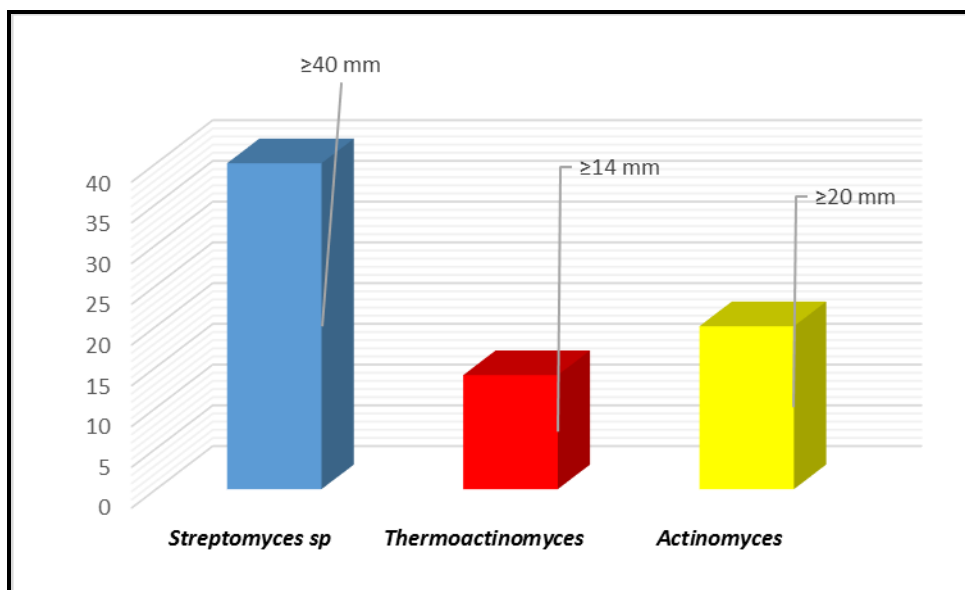


Gráfico N° 04: Actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* MDR

Autor: Elaboración propia.

En el **Gráfico N° 4** se muestra que la especie *Streptomyces sp* es la que presenta la mayor actividad antimicrobiana con un halo de inhibición ≥ 40 mm mientras que la cepa *Thermoactinomyces* es la que presenta menor actividad frente a *Staphylococcus aureus* MDR.

Tabla N° 08: Actividad antimicrobiana frente a *Pseudomona aeruginosa* MDR.

Cepas estudiadas	<i>Pseudomona aeruginosa</i>
<i>Streptomyces sp</i>	≥ 10
<i>Thermoactinomyces</i>	≥ 10
<i>Actinomyces</i>	> 20

Autor: elaboración propia

En la **Tabla N° 08** se presentan las cepas que manifestaron mayor actividad antimicrobiana frente a *Pseudomona aeruginosa* siendo la cepa del género *Actinomyces* sin definición de especie la que presenta mayor actividad antimicrobiana con un halo de inhibición ≥ 20 mm.

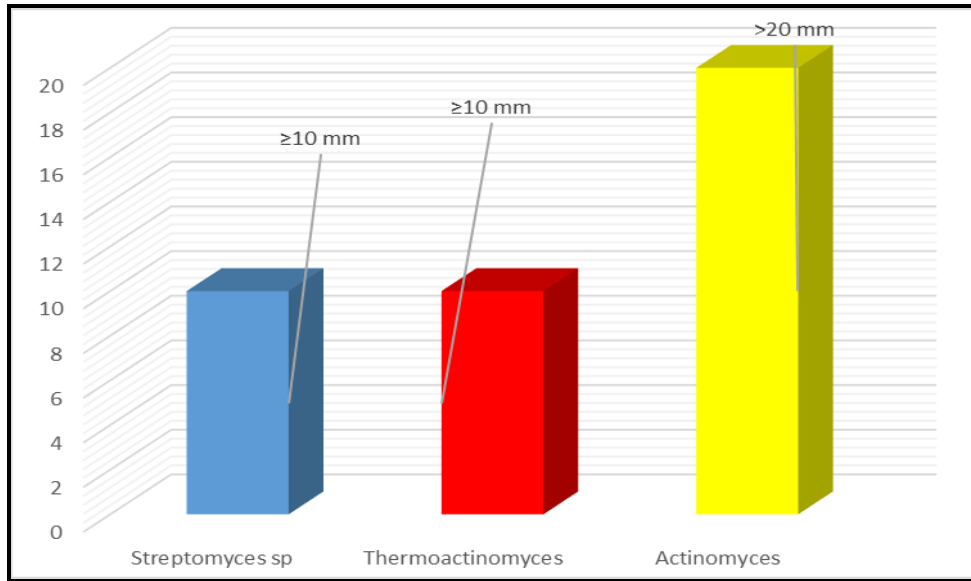


Gráfico N° 05: Actividad antimicrobiana frente a *Pseudomonas aeruginosa* MDR.

Autor: Elaboracion propia.

En el **Gráfico N° 05** se presenta las tres cepas que manifestaron mayor actividad antimicrobiana frente a *Pseudomonas aeruginosa* en el que se puede demostrar que tanto *Streptomyces sp* como *Thermoactinomyces* obtuvieron halos de inhibición ≥ 10 mm mientras que la cepa del género de *Actinomyces* presentó un mayor halo de inhibición ≥ 20 mm

DISCUSIONES

En efecto, en la investigación del biólogo Jorge León 2007 se evaluó la actividad antibacteriana de *actinomicetos* marinos pertenecientes a los géneros *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* quienes mostraron tener actividad antibacteriana con un halo de inhibición ≥ 30 mm para *Staphylococcus aureus* y ≥ 10 mm para *Pseudomona aeruginosa*.

Por otro lado, el mismo autor Jorge León 2011 en su estudio determinó el potencial antimicrobiano de *actinomicetos* marinos frente a cepas *S. aureus* metilino-resistentes (MRSA) y *E. faecalis* vancomicina-resistentes (VRE). Por lo tanto de ambas cepas debemos indicar que la cepa de *Streptomyces* sp es la de mayor actividad antimicrobiana con un halo de inhibición ≥ 40 mm en relación con la cepa de *Thermoactinomyces* sp con un halo de inhibición ≥ 14 mm.

Los estudios de Jorge León 2010 y Ortiz 2004 presentan a un género no especificado de *Actinomyces* como el responsable de la mayor actividad antimicrobiana, adicionalmente debemos indicar que el trabajo de Jorge León presenta a un género de *Actinomyces* con actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* con un halo de inhibición de ≥ 20 mm en ambas especies patógenas, en cambio, Ortiz en su investigación; los resultados evidencian tener actividad antimicrobiana solo frente a *Staphylococcus aureus* con un halo de inhibición ≥ 20 mm.

La investigación de Sergio Leiva 2004 manifiesta que los *Actinomycetes* son bacterias filamentosas Gram positivas, abundantes en suelos, pero también encontradas en ambientes acuáticos dulceacuícolas y marinos. Debido a que los ecosistemas acuáticos difieren notablemente de los terrestres, se espera que las capacidades metabólicas y fisiológicas de los microorganismos acuáticos sean diferentes a las de sus contrapartes terrestres, lo que ofrece un enorme potencial de descubrimiento de nuevas drogas. Esto podría determinar que los Actinomycetes en su proceso de adaptación al ambiente acuático, hayan desarrollado habilidades estratégicas que les otorgan mayores probabilidades de supervivencia, entre las cuales la producción de metabolitos bioactivos en contra de otras bacterias, hongos y otros organismos es una probabilidad cierta. Finalmente Leiva pretende explorar la actividad antibacteriana y antifúngica de los Actinomycetes de sedimentos de ríos y lagos del sur de Chile. La elección de los lagos se hizo en consideración a factores como: aislamiento geográfico de los sitios de muestreo y poca intervención antrópica en estos lugares. Por otro lado la selección de investigaciones que permite este trabajo de investigación demuestra que el aislamiento de muestras eficaces para el estudio es uno de los factores fundamentales en la elección del lugar de toma de muestra.

La investigación de Torres Beltran 2012, manifiesta que las actinobacterias son productoras de una gran variedad de compuestos utilizados actualmente como antibióticos y anticancerígenos. En este trabajo se evaluó el potencial del golfo de California como fuente de cepas de actinobacterias bioactivas. En total, se aislaron 235 cepas de actinobacterias de los sedimentos de bahía

Concepción y bahía de los Ángeles, (México). Con base en su morfología, requerimiento de agua de mar para su crecimiento y secuenciación del gen 16S del ARNr, las cepas se clasificaron como *Streptomyces*, *Micromonospora* y *Salinispora*. Mediante la técnica de extracción líquido-líquido con acetato de etilo como disolvente, se obtuvieron 69 extractos orgánicos y acuosos; 17 mostraron actividad citotóxica contra las líneas celulares de cáncer de mama (MCF7) y cérvix (HeLa). Los valores máximos de actividad, expresados como porcentaje de supervivencia, fueron de 20–25% contra MCF7 (cepas S-365, S-355 y S-361) y de 24–25% contra HeLa (cepas S-165, S-361 y S-353). Tres extractos en su fracción acuosa mostraron actividad antibiótica contra *Staphylococcus aureus*, que es resistente a la meticilina, con valores de actividad de 3% y 6% (cepas S-370 y S-369, respectivamente). De la misma forma en el presente trabajo de investigación se concluye que los géneros identificados como *Thermoactinomyces* y *Streptomyces* son los de mayor actividad antibacteriana.

La investigación de Mancilla Carolina. 2003. Manifiesta que debido a la selección y diseminación de poblaciones de microorganismos resistentes, es imperativo buscar nuevos antimicrobianos, más eficientes y de mayor espectro y tolerancia para combatirlos. Se considera que el estudio de los metabolitos secundarios obtenidos a partir de microorganismos marinos es una potencial fuente para el descubrimiento de nuevos agentes antimicrobianos. Por otro lado la presente investigación concluye que dentro de los ambientes marinos las costas han demostrado contener muestras de Actinomycetales con eficacia antibacteriana.

CONCLUSIONES

- Los Actinomycetales de origen marino si presentan actividad antimicrobiana *in vitro* frente a bacterias multidrogo resistente, tales como *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*, así lo demuestran los estudios realizados. Así lo demuestran Torres Beltrán en su investigación del año 2012 en la que identifica los géneros *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* con actividad antibacteriana.
- Los *Actinomycetales* de origen marino del género *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* si presentan actividad antimicrobiana *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* multidrogo resistente con un halo de inhibición $\geq 40\text{mm}$ y $\geq 14\text{mm}$ de radio respectivamente. De la misma forma que Leiva 2004 indica que el género *Actinomycetales* posee mayor actividad antimicrobiana frente a patógenos entre ellos multidrogo resistentes.
- Los *Actinomycetales* de origen marino del género *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* si presentan actividad antimicrobiana *in vitro* frente a *Pseudomona aeruginosa* multidrogo resistente con un halo de inhibición $\geq 10\text{mm}$ de radio cada uno. Así lo demostró los aislamientos hechos por Carolina Mancilla 2003 quien trabajo muestras en las costas de Chile.

RECOMENDACIONES

- Incluir en los futuros trabajos de investigación en relación a la actividad antimicrobiana de *Actinomycetos* de origen marino, la integración de nuevos procedimientos de identificación de las cepas de *Actinomycetales*; indicando género y especie, ya que en las investigaciones actuales no están completamente claras; pero si obtuvieron que hay actividad antimicrobiana frente a bacterias multidrogo resistente.
- Investigar nuevos métodos de aislamiento del género *Thermoactinomyces* pues hasta el día de hoy, existen poca información científica, a pesar que la familia a la que pertenecen sí manifiesta actividad antimicrobiana frente a patógenos multidrogo resistentes.
- Estandarizar la actividad antimicrobiana del género *Streptomyces* frente a las bacterias multidrogo resistente, tales como *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*.
- Investigar la actividad antimicrobiana del género *Streptomyces* y *Thermoactinomyces* frente a otros patógenos, dado a su eficacia comprobada en los estudios realizados.
- Realizar investigaciones de campo en las costas de norte centro y sur del Perú a diferentes profundidades con el criterio de ubicar zonas de desarrollo de Actinomycetes con menor influencia humana

- Investigar e implementar nuevas tecnologías de aislamiento e identificación de especies del género *Actinomyces* con la finalidad de especificar la actividad antimicrobiana frente a patógenos multidrogo resistentes.
- Profundizar el estudio de la especie *Thermoactinomyces* como fuente de metabolitos activos en la terapia frente a patógenos resistente.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **MONTES PLASCENCIA, Cynthia Itzel** “Aislamiento, identificación molecular y bioactividad de bacterias Gram positivas asociadas a la esponja *Aplysinaclathrata*” Bolivia .2013.
2. **TORRES-BELTRÁN M. y Col** “Evaluación del golfo de California como una fuente potencial de *actino bacterias* marina bioactivas” México. 2012.
3. **LEON Jorge y Col.** “Bacterias marinas productoras de compuestos antibacterianos aisladas a partir de invertebrados intermareales”. Perú.2010.
4. **LEON Jorge y Col.** “*Actinomycetes* bioactivos de sedimento marino de la costa central del Perú”. Perú .2007.
5. **BULL At y Col.** “Marine actinobacteria: perspectives, challenges, future directions USA. 2005”
6. **FRIEDLER HP. y Col** “Marine *actinomycetes* as a resources of novel secondary metabolites” USA .2005.
7. **JENSEN PR y Col.** “Marine *actinomycete* diversity and natural product discovery” CANADA .2005.
8. **MALDONADO L Ar. y Col** “Diversity of cultive actinobacteria in geographically widespread marine sediments INGLATERRA .2005.
9. **SUJATHA P K. Y COL** “Studies on a new marine *streptomycetes* BT 408 producing polyketide antibiotic SBR 22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. EGIPTO .2005.
10. **KOKARE C.R. y Col** “Isolation of bioactive marine actinomycetes from sediments isolated from Goa and Maharashtra coastline. India .2004.

- 11.MAGARVEY, NA y Col** "Isolation and characterization of novel marine derived actinomycete taxa rich in bioactive metabolites" USA .2004.
- 12.LEIVA Sergio y Col.** "Actividad antimicrobiana de *actinomycetes* aislados desde ambientes acuáticos del sur de Chile. Chile .2004.
- 13.ORTIZ E. y Col.** "Detección de actividades biológicas en microorganismos marinos aislados de la plataforma cubana". Cuba .2004.
- 14.MANCILLA MANCILLA Carolina Andrea.** Aislamiento, caracterización y actividad antimicrobiana de la Micro biota Bacteriana de agua y sedimentos marinos de la costa de Valdivia. Chile .2003.
- 15.MENDOZA C A y Col** "Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* sensible, con sensibilidad "BORDER LINE" y resistencia a Metacilina. Colombia .2003.

ANEXOS

(Anexo 03) MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO: *Actinomycetales* DE ORIGEN MARINO CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.

PRESENTADO POR: Peña Huamán, Leonor Ana

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	MÉTODO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	VARIABLES	POBLACIÓN Y MUESTRA
<p>¿Los <i>Actinomycetales</i> de origen marino presentan actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> frente a bacterias multidrogo resistente?</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Determinar si los <i>Actinomycetales</i> de origen marino presentan actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> frente a bacterias multidrogo resistente. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Los <i>Actinomycetales</i> de origen marino presentarían actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> frente a bacterias multidrogo resistente. 	<p>TIPO DE INVESTIGACIÓN:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Descriptiva. ▪ Documental. ▪ Transversal. ▪ No Experimental. 	<p>MÉTODO DE INVESTIGACIÓN:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Científico. ▪ Analítico. ▪ Inductivo. ▪ Cuantitativo. 	<p>V. INDEPENDIENTE(Y):</p> <p>1. <i>Actinomycetales</i> de origen marino.</p> <p>INDICADOR:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Streptomyces</i> de origen marino. 	<p>POBLACIÓN:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Estudios sobre <i>Actinomycetales</i>.
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICOS	NIVEL DE INVESTIGACIÓN:	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:		<p>MUESTRA:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ siete estudios de <i>Actinomycetales</i> de origen marino.
<p>P.E.1 ¿Los <i>Actinomycetales</i> de origen marino presentan actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> multidrogo resistente?</p> <p>P.E.2 ¿Los <i>Actinomycetales</i> de origen marino presentan actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> frente a <i>Pseudomona aeruginosa</i> multidrogo resistente?</p>	<p>O.E.1 Determinar si los <i>Actinomycetales</i> de origen marino presentan actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> multidrogo resistente.</p> <p>O.E.2 Determinar si los <i>Actinomycetales</i> de origen marino presentan actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> frente a <i>Pseudomona aeruginosa</i> multidrogo resistente.</p>	<p>H.E.1 Los <i>Streptomyces</i> de origen marino presentarían actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> multidrogo resistente.</p> <p>H.E.2 Los <i>Thermoactinomyces</i> de origen marino presentarían actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> frente a <i>Pseudomona aeruginosa</i> multidrogo resistente.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Descriptiva. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ No experimental. 	<p>V. DEPENDIENTE(X):</p> <p>1. Actividad antimicrobiana.</p> <p>INDICADOR:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Tamaño del Halo inhibitorio. 	