

Efectividad antimicrobiana del extracto de dos plantas utilizadas en la medicina tradicional de la etnia Mokane sobre microorganismo de interés clínico.

Rubén Oscar Banda Ramos
Juan Pablo Rojas Sandoval

**Universidad del Norte
Barranquilla, Atlántico
2016**

Efectividad antimicrobiana del extracto de dos plantas utilizadas en la medicina tradicional de la etnia Mokaná sobre microorganismo de interés clínico. Departamento del Atlántico, primer semestre de 2016.

Rubén Oscar Banda Ramos
Juan Pablo Rojas Sandoval

Asesores:

Amner Muñoz, PhD

Ricardo Gutiérrez, PhD

Mariela Borda, MSc

**Universidad del Norte
Barranquilla, Atlántico
2016**

NOTA ACEPTACION

JURADO DRA. MARTHA PEÑUELA

ASESOR DR. MARIELA BORDA PEREZ

ASESOR DR. RICARDO GUTIERREZ

ASESOR DR. AMNER MUÑOZ ACEVEDO

Barranquilla, Junio 2016

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
TIPO DE ESTUDIO:	7
POBLACIÓN DE ESTUDIO:	7
VARIABLES:	7
PROCESAMIENTO DE INFORMACIÓN	7
DISCUSIÓN	11
CONCLUSIÓN	12
BIBLIOGRAFÍA	13

GLOSARIO

Antimicrobianos: Sustancias terapéuticas que matan o inhiben a los microorganismos.

Concentración inhibitoria mínima: Es la concentración del antibiótico mínima requerida para impedir el crecimiento bacteriano.

Concentración bactericida mínima: Es la concentración del antibiótico mínima requerida para causar la muerte de bacterias.

Concentración Efectiva (CE50): Proporción de una sustancia en un medio que causa un determinado efecto en un sistema dado; la CE-50 es la concentración que causa el 50% del efecto máximo.

Efecto post antibiótico: Se refiere a la supresión persistente del crecimiento bacteriano posterior a una exposición breve a antibiótico.

Mecanismo de resistencia: Capacidad del microorganismo de desarrollar mecanismos adaptativos a los fármacos utilizados para su erradicación.

Percolación: Es el proceso de extracción basado en el paso de un disolvente (polaridades diferentes) sobre un material sólido (plantas), por acción de la gravedad.

Plantas superiores: Son aquellas con órganos diferenciados y que asimismo contienen tejidos vasculares, la cual les permite asegurar la supervivencia en el medio terrestre.

UFC: Unidades formadoras de colonia, es el número de células separables sobre la superficie o dentro de un medio que conduzca a la formación de una población.

Sonicación: Aplicación de frecuencia ultrasónica a una suspensión.

RESUMEN

La aparición de la terapia antimicrobiana significó un gran paso para la humanidad en cuanto a la lucha contra las enfermedades infecciosas. Según la OMS, éstas se definen como aquellas patologías causadas por microorganismos patógenos como las bacterias, virus, parásitos o los hongos, que se pueden transmitir de manera directa o indirecta. La terapia antimicrobiana impactó de gran manera disminuyendo las tasas de mortalidad/morbilidad y aumentando la tasa de supervivencia de los pacientes con procesos infecciosos. Sin embargo, con el paso del tiempo, varios microorganismos comenzaron a desarrollar resistencia a los medicamentos, fenómeno que ha venido progresando hasta el punto que en la actualidad algunos microorganismos han creado resistencia a casi todos los antimicrobianos disponibles y en algunos casos a la totalidad de estas opciones terapéuticas.

Este estudio se enfocó en estimar la efectividad antimicrobiana de los extractos de dos plantas utilizadas en la medicina tradicional de la etnia Mokaaná, en el Departamento del Atlántico, mediante un estudio experimental de tipo ensayo de laboratorio, en el cual se estableció tanto la concentración inhibitoria mínima (CIM), como la concentración bactericida mínima (CBM) utilizando el método de dilución en caldo. Con este método se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos sobre los microorganismos: *Staphylococcus aureus* y *Acinetobacter* sp.

Adicionalmente, este trabajo pretende promover el interés y la vinculación de profesionales de la salud en este campo, donde a través del conocimiento tradicional medicinal, verificado con base en el método científico, se pudo demostrar el potencial que tiene este tipo de medicina, para resolver problemas de salud pública y así proponer otras alternativas para la medicina occidental tradicional.

Los resultados mostraron una actividad antimicrobiana significativa de los extractos etanólicos evaluados sobre los microorganismos utilizados en los ensayos.

Con base en los resultados obtenidos, se concluye que el efecto estudiado de las plantas sobre los respectivos microorganismos mostró una actividad antimicrobiana promisoriosa, lo cual es prometedor para el futuro, ya que se puede llegar a aislar el principio activo que presenta dicha actividad y desarrollar nuevos fármacos para combatir las enfermedades infecciosas. Dichos resultados seguramente serán motivación para el desarrollo de estudios posteriores con propósitos parecidos.

INTRODUCCIÓN

En la historia de la humanidad, las enfermedades infecciosas han representado una de las principales causas de mortalidad y morbilidad. Este hecho ha impulsado al hombre a una búsqueda constante de herramientas para combatir el impacto que estas patologías ocasionan en la salud, esto ha conllevado al desarrollo una amplia gama de antimicrobianos con la que se cuentan actualmente.

No obstante los microorganismos tienen una capacidad intrínseca de desarrollar mecanismos para apaciguar o incluso anular la función de estas sustancias; sumado a esto, el uso inadecuado de los antibioticos por parte de los prestadores del servicio de salud y la automedicacion por falta de control en la regulacion de los medicamentos, han contribuido en el desarrollo de un alto porcentaje de microorganismos resistentes a los antimicrobianos con los que se cuenta hoy día (1).

Según lo anterior, la búsqueda de sustancias con actividad antimicrobiana sigue siendo una necesidad importante en la actualidad, y una fuente para la busqueda de estas son las plantas superiores ya que sus principios activos pueden resultar muy eficaces contra ciertos microorganismos resistentes a la terapia antimicrobiana actual (2). La Organización Panamericana de la Salud en su boletín de alerta epidemiológica publicada en junio del 2016 notifico la aparición e inminente crecimiento de bacterias resistentes a la Colistina, Antibiotico utilizado como ultima opcion para bacterias multiresistentes(3). Esto podra generar un aumento de la resistencia en el año 2050 que daría lugar a 10 millones de muertes cada año y una reducción del producto interno bruto 2,5% a 3%, que costaría hasta 100 billones de dolares.(4)

En cuanto al costo en el sistema de salud que tienen las enfermedades causadas por estos microorganismos, en el año 2003 en los hospitales de los Estados Unidos, las infecciones por *Staphylococcus aureus* proporcionaron un costo estimado en 14,5 mil millones dólares para todas las estancias de hospitalización y 12,3 mil millones dólares para estancias quirúrgicas de los pacientes (5).

Como consecuencia al gran problema en el que se encuentran las entidades de salud a nivel mundial, se han tomado muchas iniciativas para detener esta problemática y su gran impacto, un ejemplo de esto lo refleja la Organización Mundial de la Salud en la resolución WHA67.25 '*Combating antimicrobial resistance including antibiotic resistance*' (Lucha contra la resistencia a los antimicrobianos incluyendo resistencia a los antibióticos) la cual hace un llamado a los Estados miembros para "desarrollar o fortalecer los planes nacionales, las estrategias y la colaboración internacional para la contención de la resistencia a los antimicrobianos" (6).

El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad antimicrobiana de los extractos totales de dos plantas (*Piper marginatum* y *Chromolaena barranquillensis*) utilizadas en la medicina tradicional, de la etnia Mokaaná, sobre microorganismos de interés clínico en el Departamento del Atlántico durante el primer semestre de 2016. Los objetivos específicos fueron: 1. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de cada extracto, y 2. Determinar la concentración bactericida mínima (CBM) frente a cada microorganismo de cada extracto frente a cada microorganismo.

Todo lo anterior se realizó con el propósito de validar científicamente el uso de los dos extractos utilizados en la medicina tradicional en el departamento del Atlántico, con la intención de generar terapias alternativas a las que existen hoy día, en las cuales la resistencia a los antibióticos convencionales comerciales cada vez es mayor.

Además, también se busca ser un modelo para incentivar la realización de este tipo de estudios, ya que muchas de las terapias establecidas en la medicina tradicional pueden presentar aportes trascendentales para la medicina moderna y que aun no cuentan con el reconocimiento científico.

Dentro de las plantas seleccionadas para determinar su efecto antimicrobiano se encuentran: *Piper marginatum* y *Chromolaena barranquillensis*, las cuales pertenecen a las familias Piperaceae y Asteraceae, respectivamente. Los microorganismos contra los cuales se evaluó el efecto antimicrobiano fueron *Staphylococcus aureus*, bacteria gram (+) y *Acinetobacter baumannii*, bacteria patógena gram (-).

MARCO TEÓRICO

Las enfermedades infecciosas (EI) según la OMS, se definen como aquellas que son causadas por microorganismos patógenos como las bacterias, virus, parásitos o los hongos, las cuales pueden transmitir de manera, directa o indirecta (7). Se hacen evidentes cuando el huésped no tiene la capacidad inmunológica defensiva contra un microorganismo o es atacado por muchos de éstos con una gran virulencia. Existen bacterias de gran importancia clínica, como son:

Staphylococcus aureus: Es un coco gram positivo, que se agrupa en forma de racimos de uvas. Es una bacteria anaerobia facultativa, catalasa positiva, no móvil, no esporulada, no posee cápsula. Pertenece al género *Staphylococcus* el cual posee especies que se localizan en los humanos formando parte de la microbiota de piel y mucosas, donde a su vez puede causar infección. Debido a la resistencia bacteriana encontramos el *Staphylococcus* resistente a meticilina (SAMR) y es uno de los principales microorganismos que producen infecciones nosocomiales (8).

Acinetobacter spp: Es un bacilo o cocobacilo (y en ocasiones dispuestos en parejas) gram negativo, perteneciente al género *Acinetobacter*, inmóvil, no fermentador de glucosa, catalasa positivo y oxidasa negativo. Crece bien en todos los medios de cultivo de rutina, siendo su temperatura óptima de crecimiento de 33-35 °C (9). Es una bacteria oportunista de importancia a nivel hospitalario debido a que produce una amplia variedad de cuadros clínicos y ha desarrollado resistencia a diferentes grupos de antibióticos dificultando el manejo de estas infecciones (10).

A nivel hospitalario principalmente en la Unidad de Cuidados Intensivos se presenta dificultad en el tratamiento para eliminar a estos microorganismos, pues en este lugar y en su entorno es donde han evolucionado mediante el desarrollo de mecanismos de resistencia permitiéndole al microorganismo la capacidad de adaptarse a sobrevivir en presencia de fármacos utilizados para su erradicación.

Se considera una bacteria u hongo resistente cuando el microorganismo crece ante la presencia del fármaco o éste tiene poca actividad inhibitoria frente al microorganismo.

Hoy en día se conocen diferentes mecanismos de resistencias, los cuales se desarrollaron a causa de distintos niveles de variabilidad genética, el primer nivel es el micro-evolutivo, en el cual solo se cambian un par de bases en la cadena de ADN, en el segundo nivel es el macro-evolutivo, que desarrollan la resistencia por reordenamientos de segmentos extensos de ADN y el tercer nivel, se crea por la adquisición de ADN extraño portado por los plásmidos, bacteriófagos, secuencias de ADN desprovistas de cubierta y que en la mayoría de los casos es proporcionado por otras bacterias. Esto llevó a identificar 8 posibles tipos de mecanismos de resistencia por parte de las bacterias: **Alteración enzimática (β - lactamasas)**: son enzimas que inactivan a los antibióticos β -lactámicos rompiendo el enlace amida del anillo β -lactámico; **Permeabilidad de la membrana**: barrera frente a la penetración de muchos antibióticos en la célula, **Bombas de expulsión**: complejos enzimáticos que impulsan el antibiótico fuera de la célula, **Alteración de los**

lugares diana: modificación del sitio diana lo que imposibilita la unión del antimicrobiano, **Protección de los sitios diana:** mecanismo que interviene con la capacidad del antimicrobiano para unirse a su sitio de acción, **Sobreproducción de diana:** producción de enzimas excesiva que supera la inactivación antibiótica, **Evitación del proceso de inhibición:** si el sustrato está en el medio el microorganismo puede sobrevivir a pesar de que la enzima sintética esté inhibida y **Unión al antibiótico:** la molécula del antimicrobiano es absorbida en sitios de unión, lo que impide que el antibiótico alcance su diana (1).

Cabe destacar que la eficacia de un antibiótico está dada en gran medida por la capacidad inhibitoria mínima (CIM) que es la concentración mínima del antibiótico que se requiere para generar una inhibición en el crecimiento de los microorganismo y por capacidad bactericida mínima (CBM), siendo la concentración mínima del antibiótico que se requiera para producir una acción destructiva del microorganismo.

Según la OMS, “La medicina tradicional es todo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales”(11). Con el desarrollo en química medica a comienzos del siglo XIX, las plantas fueron fuente de sustancias para producir medicamentos.(12) En la actualidad, pese al increíble desarrollo de la química farmacéutica y de los fármacos derivados de plantas, siguen teniendo una posición preponderante en la investigación, descubrimiento y desarrollo de medicamentos (Hostettmann et al., 2008).(13) Estas constituyen un recurso importante para las opciones que se constituyen de tratamiento, prevención, rehabilitación cuyo objetivo principal es obtener la cura y remedio a los problemas de salud que aquejan a los seres humanos. El efecto medicinal de una planta está contenido en sus principios activos, los cuales pueden mencionarse glucósidos, alcaloides, aceites esenciales, taninos y otros.(14)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) definió en 1978 el concepto de planta medicinal “como cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con finalidad terapéutica o que son precursores para la semisíntesis químico-farmacéutica”.

Durante los últimos años, en Colombia, se han hecho estudios de fitoquímica y medicina de algunas especies de *Chromolaena*, debido a su potencial como productoras de sustancias antifúngicas, antibacterianas y antitumorales. Así, por ejemplo, Sanabria- Galindo *et al.* (1989), Sanabria-Galindo & Carrero (1995), Rodríguez-A. & Torrenegra (2007), Torrenegra *et al.* (2007) y García-Sánchez *et al.* (2008) aislaron y corroboraron la efectividad de las sustancias responsables de la actividad antimicótica y antibacteriana, encontrando que estos poseen potencial para ser utilizados en medicina. (12)

Por su parte en la etnomedicina venezolana, utilizaban *Chromolaena moritziana* como un anticatarral, depurativo y en tratamientos para enfermedades de la piel, evaluando y probando su actividad antimicrobiana. De igual forma los estudios de Thang *et al.* (2001), Vital & Rivera (2009), Sukan- ya *et al.* (2011) y Vaisakh & Pandey (2012) confirman el potencial de *Chromolaena odorata* como especie productora de sustancias antimicóticas, antimicrobiales y antitumorales.

Las plantas expuestas en este estudio no solo representan importancia en química farmacéutica, también a nivel cultural y económico sobre la etnia Mokaná, figuran como elementos propios culturales representativos de sus creencias y costumbres en las que se basa la aplicación de la salud. Esta etnia se caracterizó por el uso constante y dependiente sobre lo que la naturaleza les pudiera brindar; cada planta era cultivada y extraída de forma particular, para ellos era importante mantener a la planta con vida, no retiraban la planta completamente.

Al ofrecer diferentes tipos de planta cada una de estas cumplía una función de acuerdo con sus propiedades, las cuales eran identificadas a la largo del tiempo y transmitida la información por medio de la tradición oral. Los conocimientos para aplicar el uso de las plantas eran manejados por un chamanes a los que se les confería la habilidad de curación y eliminación de males.

Los Mokaná son un pueblo amerindio que habitan en los municipios de Tubará, Malambo, Galapa, Usiacurí y Baranoa, en el departamento del Atlántico, Colombia (15). Ma: que significa “sin o lo no”, oka que significa “pluma” y na que indica pluralidad. Mokaná significa entonces “sin plumas” (16). El uso de plantas para la curación de diversas enfermedades ha marcado la historia de muchas culturas a nivel mundial y esta no es la excepción, aunque se tiene poca información sobre de su veracidad científica y la capacidad antibacteriana *in vitro* de estas plantas:

Chromolaena barranquillensis es una planta perteneciente al género *Chromolaena* de la familia Asteraceae. Es una especie endémica del departamento del Atlántico y se ha encontrado en diferentes lugares como Puerto Colombia, Usiacurí, Luruaco, Palmar de Valera, Ponedera y Salgar, donde se ha adaptado satisfactoriamente a las diferentes condiciones climáticas.(17)(18)

Piper marginatum es una planta perteneciente al género *Piper* de la familia Piperaceae. En esta especie de *Piper* se han identificado diferentes compuestos como los fenilpropanoides anetol, estragol, metiliso Eugenol, los ácidos 3-farnesil-4-hidroxibenzoico y 3-farnesyl-4-metoxibenzoico y los glucósidos marginatoside y vitexina los cuales no se han encontrado en las demás especies del género. En la medicina popular es conocida como “santa maría” utilizada en decocción, infusiones, masticadas o cataplasma en condiciones inflamatorias, infecciones, problemas gastrointestinales, anestésico e infecciones en la piel.(19)

MATERIALES Y MÉTODOS

La medición de los efectos antimicrobianos se llevaron a cabo mediante los extractos de las plantas mencionadas anteriormente, previamente obtenidos en el Laboratorio de Investigación en Química del Departamento de Química y Biología. Las plantas fueron caracterizadas taxonómicamente por el Herbario Nacional Colombiano y los extractos fueron obtenidos mediante la técnica de percolación usando éter y etanol. Los microorganismos nosocomiales fueron suministrados por el laboratorio bacteriológico de la Clínica Renal de la Costa con el respectivo antibiograma y reporte de sensibilidad. Los microorganismos, aislados de pacientes infectados, se almacenaron, preservaron y transportaron en perlas criogénicas. Posteriormente, se hizo la identificación morfológica macroscópica y microscópicamente en el Laboratorio de Investigación en Biología del Departamento de Química y Biología de la Universidad del Norte, para corroborar la pureza de las bacterias.

Preparación de los extractos: Se pesaron 50 mg de cada extracto etanólico en un tubo cónico de polipropileno, se le adicionó 1 mL de dimetilsulfoxido (DMSO) y se sonicó durante 1 hora para solubilizarlo completamente. Seguidamente, se filtró y a partir de allí se preparó una solución *stock* de 5000 ppm.

Preparación de diferentes soluciones: En una placa de 96 pozos CELLSTAR, se agregó en el primer pozo de la columna 1, 200 μ L del extracto de 5000 ppm; previamente se agregaron 100 μ L de DMSO en los pozos 2 a 6 hasta la fila E y se tomaron 100 μ L con una pipeta multicanal de la columna 1 para llevarla a la columna 2 y así sucesivamente hasta lograr las concentraciones requeridas. Se obtuvieron concentraciones de 5000 ppm en la columna 1, 2500 ppm columna 2, 1250 ppm columna 3, 625 ppm columna 4, 312 ppm columna 5, 156 ppm columna 6.

Preparación del Inóculo: Se obtuvo una colonia de una siembra realizada previamente la cual se mezcló con solución de NaCl para comparar la turbidez con la escala de McFarland. Cuando se obtuvo la turbidez deseada se tomaron 100 μ L y se agregaron en un balón 50 mL, al cual se le agregaron 50 mL de caldo nutritivo y con el cual se preparó el inóculo del ensayo.

Preparación en placa multi-pozo:

A una placa de 96 pozos CELLSTAR se le agregó 200 μ L de caldo nutritivo en cada pozo. Seguidamente, se le añadieron 20 μ L de las diferentes concentraciones preparadas de cada extracto (156-5000 ppm) o antibiótico (10 ppm) en cada columna. Todos los experimentos se realizaron quintuplicado y se incluyeron los controles positivo y negativo. Posteriormente, cada pozo se inoculó con la suspensión preparada del microorganismo y se sometió a incubación durante 18 horas a 35 °C. Después del período de incubación se leyó la placa en el lector multipozo multimodal a 545 nm. En los pozos donde la bacteria creció, apareció turbidez. Por otro lado, donde se colocó el antibiótico hubo inhibición de crecimiento bacteriano, y la solución careció de turbidez. Con base en este experimento se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración efectiva al 50 % (CE_{50}).

Recuento de colonias: Después de realizar la lectura y finalizar el experimento, se llevó a cabo la determinación de las Unidades Formadoras de

Colonias (UFC) de cada experimento, en el cual se observa si hubo o no crecimiento bacteriano y con la cual se determina la concentración bactericida mínima (CBM), que es la concentración más baja de sustancia antibiótica que no sólo inhibe el desarrollo de las UFC sino que también las destruye. Para esto, se efectuó el sub-cultivo del contenido de los pozos visualmente claros en placas de agar, observándose el desarrollo o no de colonias viables. El primer tubo de la serie que al ser sembrado no da lugar al desarrollo de colonias, determina la CBM del antibiótico en estudio.

Todos estos procedimientos se llevaran a cabo en los Laboratorios de Biología y Química de la Universidad del Norte, los cuales cuentan con las normas de bioseguridad reglamentadas en el “Manual de Bioseguridad en el Laboratorio” desarrollado por la OMS en Ginebra 2005 necesarias para llevar a cabo y poder trabajar con bacterias, disminuyendo la posibilidad de contagio con alguno de estos microorganismos.

TIPO DE ESTUDIO:

Estudio experimental, tipo ensayo de laboratorio.

POBLACIÓN DE ESTUDIO:

Población diana: Todos los microorganismos de interés clínico ciudad de Barranquilla (Atlántico).

Población de estudio: 2 microorganismos de interés clínico (*Staphylococcus aureus* y *Acinetobacter* Spp.).

VARIABLES:

Macrovariable: extracto de las plantas (*Piper marginatum*, *Chromolaena barranquillensis*)

Variables: concentración (baja, intermedia y alta).

PROCESAMIENTO DE INFORMACIÓN

Los datos obtenidos se procesaron utilizando un análisis de varianza, las herramientas estadísticas correspondientes (promedio, desviación estándar y desviación estándar relativa) junto con las gráficas resultado del conjunto de datos, las cuales fueron ajustadas mediante las ecuaciones matemáticas correspondientes.

RESULTADOS

Con respecto al crecimiento bacteriano para *Acinetobacter* sp., en relación con diferentes concentraciones de extractos etanólicos de *P. marginatum* y *C. barranquillensis*, se evidenció que éste disminuyó a medida que las concentraciones de ambos extractos aumentaron con un coeficiente de determinación (R^2) de 0.99 y 0.98, respectivamente (**Figura 1**). La **Tabla 1** contiene los valores determinados de CE_{50} , CIM y CBM de los extractos evaluados frente a los dos microorganismos.

Tabla 1. Efecto de los extractos etanólicos de las plantas estudiadas sobre el crecimiento de *Acinetobacter* sp.

	<i>EE P. marginatum</i>	<i>EE C. barranquillensis</i>
CE_{50} ($\mu\text{g/mL}$) - UFC	604 \pm 24 - 42000 \pm 0 UFC	116 \pm 18 - 205664 \pm 29700 UFC
MIC ($\mu\text{g/mL}$) - UFC	1250 \pm 0 - 4200 \pm 566 UFC	312 \pm 0 - 4000 \pm 283 UFC
CB ($\mu\text{g/mL}$) - UFC	2500 \pm 0 - < 1 UFC	625 \pm 0 - < 1 UFC
Control + (Amikacina)	10 \pm 0 $\mu\text{g/mL}$ - < 1 UFC	10 \pm 0 $\mu\text{g/mL}$ - < 1 UFC
Control -	2500000 UFC	2500000 UFC

Experimentos realizados por cuadruplicado. Datos expresados como promedio \pm desviación estándar ($\bar{X} \pm \text{SD}$). CE_{50} - Concentración efectiva 50%. MIC - Concentración mínima inhibitoria. CB - Concentración bactericida. UFC - Unidades formadoras de colonia

En cuanto al efecto del extracto etanolico de *Piper marginatum* sobre *Staphylococcus* ATCC se observó que el porcentaje de inhibición de crecimiento bacteriano se observó que este aumentó al incrementar la concentración del extracto (**Figura 2**).

Figura 1. Crecimiento e inhibición de *Acinetobacter* sp por acción de los extractos etanólicos de las plantas de interés

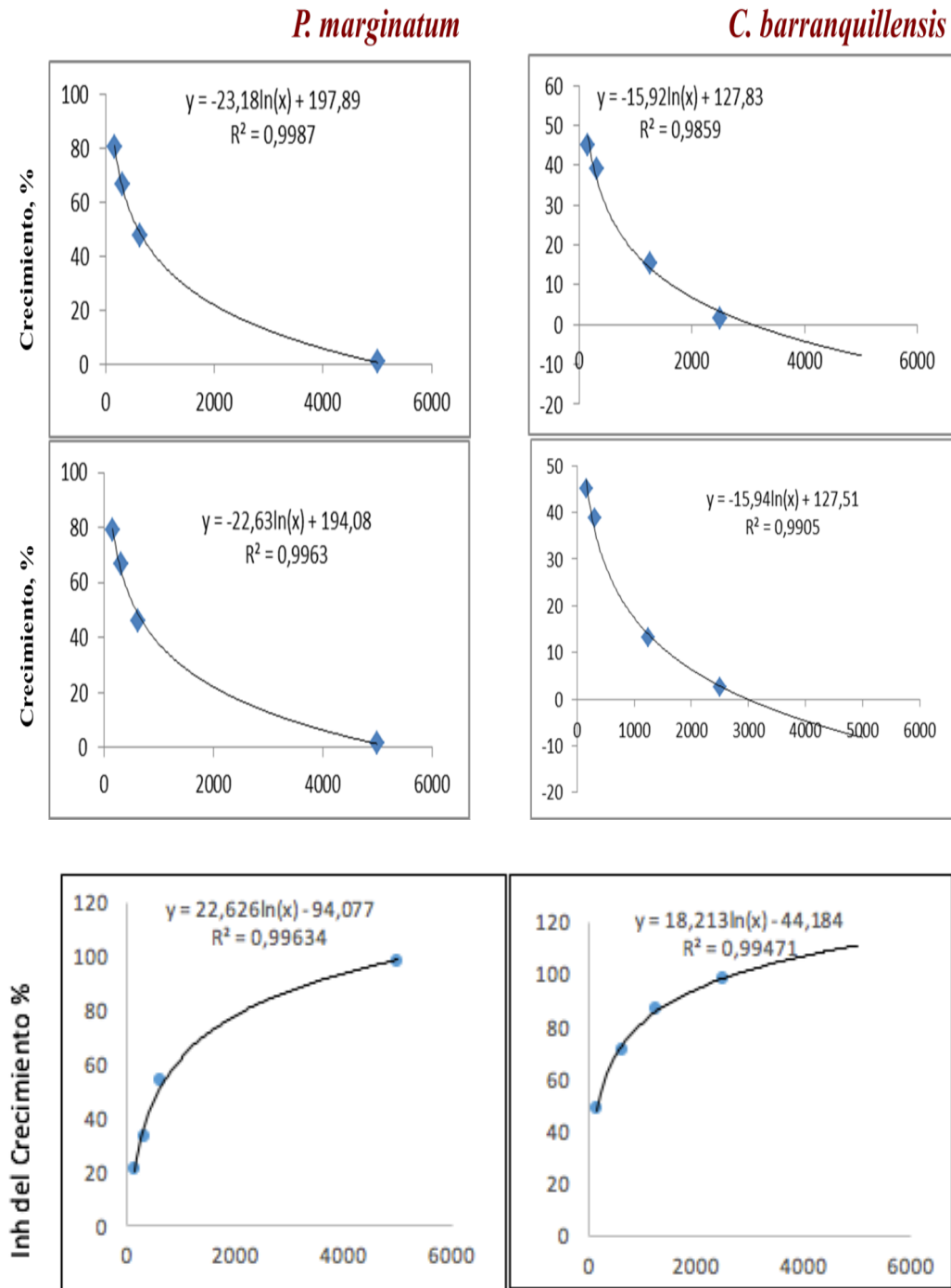
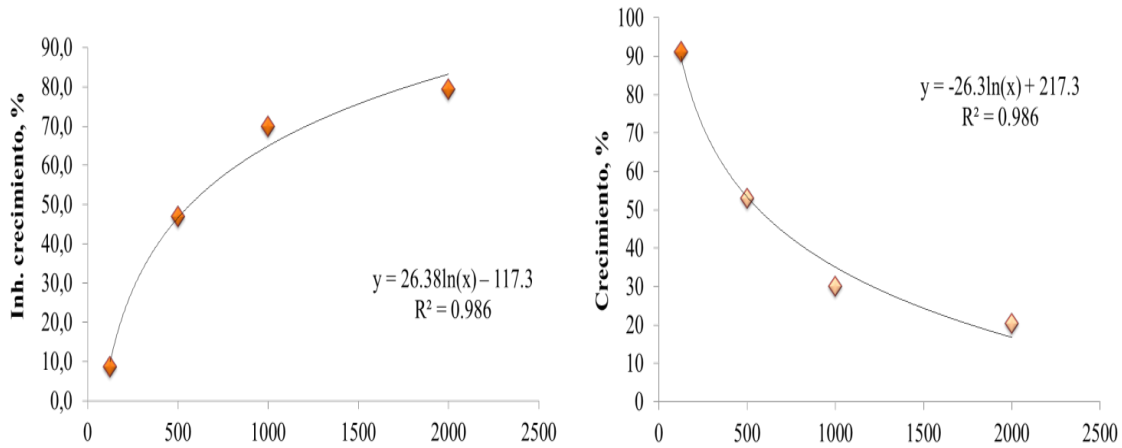


Figura 2. Crecimiento e inhibición de *S. aureus* (ATCC) por acción del extracto etanólico de *P. marginatum*.



Por otra parte, se evidenció que el efecto del extracto etanólico fue superior sobre la cepa ATCC que sobre la cepa intrahospitalaria, con una CMI de 1000 ± 0 ppm (800 ± 0 UFC) y 2000 ± 0 ppm (500 ± 0 UFC), respectivamente. Los valores de CMB fueron 2000 ± 0 ppm (< 1 UFC) para la cepa ATCC y 3000 ± 0 ppm (< 1 UFC) para la cepa intrahospitalaria. (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto del extracto etanólico de *P. marginatum* sobre el crecimiento de *S. aureus* (ATCC/SAMR Intrahospitalario)

	<i>Staphylococcus aureus</i>	
	ATCC 25923	Intrahospitalaria
CE₅₀ (µg/mL) - UFC	$525 \pm 3 - 10000 \pm 0$ UFC	ND
MIC (µg/mL) - UFC	$1000 \pm 0 - 800 \pm 0$ UFC	2000 ± 0 - 500 ± 0 UFC
CB (µg/mL) - UFC	$2000 \pm 0 - < 1$ UFC	3000 ± 0 - < 1 UFC
Control + (Amikacina)	10 ± 0 µg/mL - < 1 UFC	10 ± 0 µg/mL - < 1 UFC
Control -	200000 UFC	190000 UFC

Experimentos realizados por cuadruplicado. Datos expresados como promedio \pm desviación estándar ($\bar{X} \pm SD$). CE₅₀ - Concentración efectiva 50%. MIC - Concentración mínima inhibitoria. CB - Concentración bactericida. UFC - Unidades formadoras de colonia. ND - No determinado

DISCUSIÓN

El efecto antimicrobiano obtenido de *Chromolaena barranquillensis*, coincide con otras investigaciones que se realizaron sobre este género, como es el caso de un estudio realizado en São Paulo (Brasil), durante el año 2013, en el cual se analizó el efecto antimicrobiano de *Chromolaena laevigata* en dos diferentes estados fenológicos, floración y con frutos, contra *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Los resultados mostraron que el extracto de la planta con frutos tuvo una CMI de 62.5 µg/mL contra *C. albicans* y *S. aureus* y de 500 µg/mL para *P. aeruginosa* y *E. coli*, resultados que concuerda con los conseguidos en este estudio donde se evidenció una CMI de 312 ± 0 µg/mL (crecimiento bacteriano 4.000 ± 283 UFC) en este caso sobre *Acinetobacter* sp.

Comparando el efecto antimicrobiano de *Chromolaena barranquillensis* con el de *Piper marginatum* sobre *Acinetobacter* sp, se evidencia un efecto antimicrobiano cuatro veces mayor del primero, debido a que tuvo una CMI de 312 ± 0 µg/mL (crecimiento bacteriano 4.000 ± 283 UFC), mientras que *Piper marginatum* presentó una CMI de 1.250 ± 0 µg/mL (crecimiento bacteriano 4200 ± 566 UFC).

El efecto de *Piper marginatum* sobre las cepas de *S. aureus* ATCC y nosocomial, como era previsto, en la actividad antimicrobiana sobre el microorganismo nosocomial fue inferior al que se obtuvo sobre el microorganismo comercial, con una CMI de 1000 ± 0 - 800 ± 0 UFC para el primero y 2000 ± 0 - 500 ± 0 UFC para el segundo, debido a que estas cepas suelen ser más resistentes a los antimicrobianos.

Como esta evidenciado por medio de los resultados de esta investigación y de otros estudios, las plantas estudiadas presentan una actividad antibacteriana significativa, lo que da respaldo científico al uso medicinal que otorga la etnia Mokane a dichas plantas. Además teniendo en cuenta el alto número de infecciones causadas por estos microorganismos y la gran resistencia que estos poseen, este estudio representan una herramienta que brinde la posibilidad de creación de nuevos medicamentos o medidas que mejoren el curso de las diferentes enfermedades que estos ocasionan.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio son concluyentemente positivos, ya que se determinó un importante efecto antimicrobiano del extracto de las plantas estudiadas. Este hecho es muy prometedor ya que debido a estos resultados, en estudios posteriores se podría aislar los principios activos que presentan esta actividad antimicrobiana y éstos podrían llegar a ser una herramienta potencial en la lucha contra estos microorganismos.

Además, debido a los buenos resultados obtenidos, este estudio puede llegar a servir como base a posteriores investigaciones que tengan como objetivo encontrar nuevas plantas con efecto antimicrobiano.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) GERALD L. MANDELL, JOHNE. BENNETT, RPHAEL DOLIN, RPHAEL DOLIN. *Enfermedades infecciosas principios y practica*. Séptima edición. Elseiver, Barcelona- España: ,2012
- (2) Baquero Montoya Á, Hoz Siegler, Ada de la. *Cultura y tradición oral en el Caribe colombiano: propuesta pedagógica para incorporar la investigación: recolección de la tradición oral Mokaaná en el Departamento del Atlántico*. 2013.
- (3) Review on Antimicrobial Resistance. (2014, December 11). Retrieved June 18, 2016, from AMR-Review, http://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf
- (4) Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. *Alerta Epidemiológica: Enterobacterias con resistencia transferible a colistina, implicaciones para la salud pública en las Américas*, 10 de junio de 2016, Washington, D.C. OPS/OMS. 2016.
- (5) Savita J, rabindranath M, nageshawari G, Mahadev U, Purbasha G, Kalpana A, Chanda V, Increasing incidence of multidrug resistance *Klebsiella pneumoniae* infections in hospital and community settings, *international journal of microbiology research*. 4(6):253-257, 2012
- (6) Noskin G, Rubin R, Schentag J, Kluytmans J, Hedblom E, Jacobson C; Smulders M; Gemmen E, Bharmal M, National Trends in *Staphylococcus aureus* Infection Rates: Impact on Economic Burden and Mortality over a 6-Year Period (1998-2003), *Clinical Infectious Diseases*. 45(9):1132-1140, November 1, 2007.
- (7) *Enfermedades infecciosas*, Organización Mundial de la Salud(OMS)
- (8) Cervantes E, Garcia F, Salazar P, Características generales del *Staphylococcus aureus*, *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* 2014; 61 (1): 28-40
- (9) Marcos M, *Acinetobacter baumannii*, Departamento de Microbiología y Parasitología. Hospital Clínic. Universidad de Barcelona.
- (10) Vanegas J, Roncancio G, Jimenez J, *Acinetobacter baumannii*: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico, *Rev CES Med* 2014; 28(2): 233-246
- (11) *Medicina tradicional: definiciones*, Organización Mundial de la Salud (OMS)
- (12) Rodríguez-Cabeza B.V., S. Díaz-Piedrahíta & C. Parra-O. 2014. *Chromolaena* (Asteraceae: Eupatorieae). *Flora de Colombia* No. 31. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 148
- (13) Esencial, A., Piper, D. E., Sánchez, Y., Correa, T. M., Abreu, Y., Martínez, B., El, S. (2011). CHEMICAL CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF *Piper marginatum* Jacq ., 26(3),

- 170–176.
- (14) Angel, L., & González, M. (2014). *PLANTAS MEDICINALES NATIVAS DE PANAMÁ Y SU POTENCIAL PARA EL TRATAMIENTO DE LAS PATOLOGÍAS DE MAYOR IMPACTO EN EL PAÍS*. PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA.
- (15) En el marco de los lineamientos del Programa de Protección de derechos de las mujeres indígenas autos 092 y 237 de 2008, 30 de mayo 2012.
- (16) Vitali H, Marquez A, Hernandez A, La cultura Mokane en Tubará, Enredes.
- (17) Muñoz A, Alvarez V, Niño M, Caracterización química de las fracciones volátiles y aceites esenciales de hojas y flores de *Chromolaena barranquillensis* encontrada en Sabanalarga (Atlántico, Colombia), 2011 Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 10 (6): 581 - 589 ISSN 0717 7917
- (18) López L, Torres C. Determinación de la actividad antimicrobiana. Universidad Nacional del Nordeste Trabajo Práctico N° 8 FACULTAD DE AGROINDUSTRIAS Microbiología General- Carrera Farmacia 2006.
- (19) Brú, Jennifer, Guzmán, Juan David. Folk medicine, phytochemistry and pharmacological application of *Piper marginatum*, 2016 Revista Brasileira de Farmacognosia
- (20) Manual de bioseguridad en el laboratorio. (2005). Ginebra: Organización Mundial de la Salud.