

# ESTUDIO DE ACTINOMICETOS MARINOS AISLADOS DE LA COSTA CENTRAL DEL PERÚ Y SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A *Staphylococcus aureus* METICILINA RESISTENTES Y *Enterococcus faecalis* VANCOMICINA RESISTENTES

Jorge León<sup>1,a,b</sup>, Juan José Aponte<sup>1,c</sup>, Rosario Rojas<sup>2,d,e</sup>, D' Lourdes Cuadra<sup>1,a</sup>,  
Nathaly Ayala<sup>1,f</sup>, Gloria Tomás<sup>3,g,h</sup>, Marco Guerrero<sup>4,g</sup>

## RESUMEN

**Objetivos.** Determinar el potencial antimicrobiano de actinomicetos marinos frente a cepas *S. aureus* meticilino-resistentes (MRSA) y *E. faecalis* vancomicina-resistentes (VRE). **Materiales y métodos.** En dos medios de cultivo se sembraron 29 cepas de actinomicetos aislados de sedimento marino. Se evaluó la capacidad inhibitoria mediante pruebas de antagonismo *in vitro* para MRSA y VRE. Se procesó los extractos orgánicos de tres actinomicetos seleccionados para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del compuesto activo. **Resultados.** La mayoría de los actinomicetos aislados correspondieron a un grupo homogéneo de blanco-grisáceos (62%) con buen nivel de crecimiento en agar marino. Los porcentajes inhibitorios fueron superiores a 85% para ambos patógenos con halos de inhibición mayores a 69 y 78 mm de diámetro para MRSA y VRE respectivamente. Los extractos diclorometánicos de tres de los actinomicetos aislados (I-400A, B1-T61, M10-77) mostraron gran potencial inhibitorio de ambos patógenos, siendo M10-77 la cepa de actinomiceto de mayor actividad antibiótica frente a *S. aureus* ATCC 43300 resistente a meticilina y *E. faecalis* ATCC 51299 resistente a vancomicina con una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 7,9 y 31,7 µg/mL respectivamente. El análisis filogenético de la cepa M10-77 presenta un 99% de similaridad con la especie marina *Streptomyces erythrogriseus*. **Conclusiones.** El sedimento marino de la costa central del Perú es fuente promisorio de cepas de actinomicetos con gran capacidad de producir compuestos bioactivos capaces de inhibir patógenos tipificados como multidrogo-resistentes tales como *S. aureus* meticilino resistentes y *E. faecalis* vancomicina resistentes.

**Palabras clave:** Sedimentos marinos; *Staphylococcus aureus*; *Enterococcus faecalis*; Antibiosis; Perú (fuente: DeCS BIREME).

## STUDY OF MARINE ACTINOMYCETES ISOLATED FROM THE CENTRAL COAST OF PERU AND THEIR ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST METHICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* AND VANCOMYCIN-RESISTANT *Enterococcus faecalis*

## ABSTRACT

**Objectives.** To determine the antimicrobial potential of marine actinomycetes against drug-resistant pathogens represented by strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* (VRE). **Materials and methods.** Strains of actinomycetes (29) isolated from marine sediment were evaluated by their characteristics in two culture media and by testing their inhibitory capacity by *in vitro* antagonism against multi-drug resistant (MDR) pathogenic bacteria for MRSA and VRE. Organic extracts of 3 selected actinomycetes were processed to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of the active compound. **Results.** Most isolated actinomycetes belong to a homogeneous group of white-gray actinomycetes with a good growth in Marine Agar. The inhibitory rates of the isolates were above 85% for both pathogens with inhibition zones greater than 69 and 78 mm in diameter for MRSA and VRE respectively. Dichloromethane extracts of 3 isolates (I-400A, B1-T61, M10-77) showed strong inhibitory activity of both pathogens, M10-77 being the highest actinomycete strain with antibiotic activity against methicillin-resistant *S. aureus* ATCC 43300 and vancomycin-resistant *E. faecalis* ATCC 51299 with a minimum inhibitory concentrations (MIC) of 7.9 and 31.7 µg/ml respectively. Phylogenetic analysis of M10-77 strain showed 99% similarity with the marine species *Streptomyces erythrogriseus*. **Conclusions.** Marine sediments of the central coast of Peru, are a source of actinomycetes strains showing high capacity to produce bioactive compounds able to inhibit pathogens classified as multi-drug-resistant such as methicillin-resistant *S. aureus* and vancomycin-resistant *E. faecalis*.

**Key words:** Marine sediments; *Staphylococcus aureus*; *Enterococcus faecalis*; Antibiosis; Peru (source: MeSH NLM).

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Biológicas – Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

<sup>2</sup> Laboratorio de Investigación y Desarrollo. Unidad de Investigación en Productos Naturales, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

<sup>3</sup> Laboratorio de Investigaciones de Productos Naturales, Departamento de Química Orgánica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

<sup>4</sup> Laboratorio de Síntesis Orgánica, Departamento de Química Orgánica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

<sup>a</sup> Microbiólogo; <sup>b</sup> Magíster en Ciencias Microbiológicas; <sup>c</sup> Bachiller en Microbiología; <sup>d</sup> Médico-Cirujano; <sup>e</sup> PhD en Química Médica y Farmacognosia;

<sup>f</sup> Bachiller en Parasitología; <sup>g</sup> Químico; <sup>h</sup> Magíster en Química.

## INTRODUCCIÓN

Existe interés, tanto académico como industrial, por los microorganismos marinos, en parte por el creciente número de metabolitos secundarios únicos y biológicamente activos reportados a partir de bacterias marinas <sup>(1)</sup>. Aunque el descubrimiento de fármacos naturales del mundo oceánico data desde 1970, en los últimos años las investigaciones se vieron incrementadas por la necesidad de desarrollar fármacos activos contra el número cada vez mayor de patógenos resistentes <sup>(2)</sup>. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) <sup>(3)</sup>, el exceso de prescripción y el uso indebido de antibióticos ha llevado a la resistencia de muchos agentes patógenos. Hoy en día, las nuevas cepas resistentes aparecen con mayor rapidez, mientras que la tasa de descubrimiento de nuevos antibióticos ha disminuido notoriamente.

Actualmente, muchos científicos se han centrado en programas de búsqueda de nuevos antimicrobianos, principalmente de origen actinomicetal, por su prolífica producción de antibióticos naturales <sup>(4)</sup>. Se ha evidenciado que muchos de ellos son productores de metabolitos con actividad antimicrobiana, antiparasitaria, antiviral, antitumoral, citotóxica, etc; cuyas estructuras químicas son únicas <sup>(5)</sup>.

Por otro lado, las bacterias multidrogo-resistentes (MDR) como *S. aureus* y *Enterococcus* constituyen un serio problema en ambientes hospitalarios, los cuales demandan nuevos antibióticos activos de amplio espectro <sup>(6)</sup>. Las infecciones graves causadas por bacterias que se han vuelto resistentes a los antibióticos comúnmente utilizados se han convertido en un importante problema de salud a nivel mundial en el siglo XXI <sup>(7)</sup>. *S. aureus* es un patógeno responsable de una amplia gama de infecciones como forúnculos, neumonía, osteomielitis, endocarditis, bacteriemia, etc. y ha desarrollado resistencia a la mayoría de los antibióticos convencionales <sup>(8)</sup>. Por más de dos décadas se le controló con vancomicina; sin embargo, han emergido cepas resistentes a este antibiótico <sup>(9,10)</sup>. El problema de resistencia antibiótica se complica aun más con la aparición de otras cepas Gram positivas y Gram negativas MDR. Esta multiresistencia incluye a los aminoglucósidos, macrólidos, fluoroquinolonas y a la primera, segunda y tercera generación de penicilinas y cefalosporinas.

Las infecciones por *Enterococcus* son causadas en su mayoría por la especie *E. faecalis* vancomicina resistentes (VRE), aunque en los últimos años *E. faecium* también ha surgido como un importante patógeno nosocomial no solo resistente a ampicilina/amoxicilina como *E. faecalis* sino también mucho más resistente a la vancomicina <sup>(11)</sup>. En los últimos años nuevos agentes terapéuticos han entrado en el área clínica, desafortunadamente con ciertos efectos secundarios <sup>(12,13)</sup>. Este grave problema de salud pública obliga

a desarrollar nuevos antimicrobianos con mayor eficacia, pero de menor impacto negativo al organismo así como al medio ambiente <sup>(14,15)</sup>. Los sedimentos marinos como fuente de actinomicetos bioactivos fue uno de los recursos menos explorados hasta hace poco, pero hoy en día constituye una de las fuentes más prometedoras <sup>(16)</sup>. En el presente estudio se realiza una evaluación del efecto antimicrobiano de actinomicetos aislados de sedimento marino de la costa central del Perú sobre cepas de MRSA y VRE.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

### CEPAS DE ACTINOMICETOS

Corresponden a aislamientos (n=29) obtenidos de sedimento marino colectados en la Bahía de Ancón (Lima) e Independencia (Ica) a profundidades de 34 y 100 m. Las muestras de sedimento fueron obtenidas por el método del dragado y procesadas en el laboratorio según se describe en un trabajo previo <sup>(17)</sup>. En el presente estudio se describe las características culturales de estas cepas en dos medios de cultivo el agar marino y el agar Czapeck; mantenidas en estado de pureza en los mismos medios pero en estado semisólido y con adición de glicerina al 20% (v/v) a la temperatura de -20 °C.

### CEPAS ESTANDAR

Se utilizaron como cepas testigo de la actividad antimicrobiana de los actinomicetos marinos al *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (metilino-resistente); *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 (vancomicina resistente); *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (vancomicina sensible) y *Staphylococcus aureus* MDR (cepa peruana) Estas cepas fueron proporcionadas por el Magister Jesús Tamariz de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima; fueron mantenidas en el laboratorio mediante subcultivos en el caldo BHI y caldo tripticasa soya y conservadas a -20 °C en ceparios en los mismos medios pero con adición de glicerina al 15% (v/v).

### DETERMINACIÓN

#### DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Se realizó mediante el método de "doble capa" de Westerdahl *et al.*, (1991) <sup>(18)</sup> modificado por León y García-Tello (1998) <sup>(19)</sup>. Los actinomicetos fueron sembrados como macrocolonias en agar marino pH 7,6 e incubados a 28 °C por cinco a siete días. Para las pruebas de antagonismo, la cepa estándar de *S. aureus* metilino resistente (MRSA), *E. faecalis* vancomicina resistente (VRE) y *E. faecalis* vancomicina sensible fueron previamente reactivadas en caldo tripticasa soya y luego ajustadas a 10<sup>6</sup> UFC/mL según la escala 0,5 de Mc Farland. Las pruebas de antagonismo se realizaron mediante la inoculación de

cepas testigo en medio semisólido a modo de "segunda capa" sobre los cultivos de los actinomicetos marinos. Las placas en prueba fueron incubadas a 37 °C por 24 a 48 h, realizándose luego las lecturas correspondientes mediante la medida del diámetro de los halos de inhibición.

#### EXTRACCIÓN DEL COMPUESTO ACTIVO Y PRUEBAS DE SU ACTIVIDAD INHIBITORIA

Para la obtención de compuestos bioactivos se seleccionaron tres cepas de actinomicetos marinos (I-400A, B1-T61, M10-77). Los extractos se obtuvieron utilizando el solvente diclorometano según procedimientos descritos por Zheng *et al.*, (2004) <sup>(20)</sup>. El cultivo del actinomiceto para su fermentación se realizó en el caldo marino enriquecido con glucosa (0,5%) y almidón (1%) mantenido en constante agitación a 200 rpm a 28 °C durante diez días. El caldo se centrifugó a 4800 rpm por treinta minutos y el sobrenadante se filtró y se trató con diclorometano (v/v), agitado por treinta minutos y dejando reposar toda una noche a 8 °C. La fase orgánica fue separada y luego evaporada en un rotaevaporador hasta obtener un residuo seco. Para determinar la actividad del extracto, se pesó el residuo y luego fue resuspendido en Dimetilsulfóxido (DMSO) y probada su actividad inhibitoria frente a cultivos de *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) utilizando el método del pocillo <sup>(17)</sup>. Se usó el DMSO como control negativo y la eritromicina (15 µg), estreptomocina (10 µg/mL) y ciprofloxacina (5 µg) como controles positivos.

#### PRUEBA DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)

Para esta prueba se utilizó cultivos de *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) y *E. faecalis* ATCC 51299 (VRE) mantenidos en caldo tripticasa soya (TSB) a 37 °C de incubación. Se realizó siguiendo la metodología de pocillos en placas de microdilución según Peoples *et al.* (2008) <sup>(21)</sup>. El extracto diclorometánico de las cepas (I-400A, B1-T61, M10-77) fue resuspendido en DMSO para preparar diluciones de 1:2. Se colocó en pocillos muestras (10 µL) de cada dilución, a los que se adicionó 80 µL de caldo tripticasa soya; luego de ser mezclados se agregó 10 µL de la suspensión bacteriana (0,5 de escala Mc Farland). El material se colocó en incubación a 37 °C durante 18 h. Transcurrido el tiempo se vertió 40 µL de una solución de cloruro de trifetil tetrazolio (TTC) en cada pocillo, para luego incubarlo a 37°C por 30 min adicionales. El viraje del medio a rojo indicó crecimiento microbiano.

#### SECUENCIAMIENTO DE ARNr 16S DE LA CEPA M10-77

El actinomiceto M10-77, cepa seleccionada por producir un antimicrobiano de amplio espectro, fue evaluado

para su identificación filogenética a nivel de PCR. La amplificación del gen ARNr 16S se llevó a cabo usando Promega Taq y los *primers* universal 27F (5'-AGAG-TTGATCMTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-GYTACCTTG-TTACGACTT-3') por 30 ciclos. Los productos de PCR fueron sometidos a análisis BLAST por electroforesis en gel y las secuencias comparadas con la base de datos en el GenBank. El árbol filogenético fue elaborado usando los algoritmos de Neighbour – Joining implementados en el programa ARB con porcentajes de similaridad > a 99%. El proceso se llevó a cabo en el *Whitaker Lab – Department of Microbiology, University of Illinois*.

## RESULTADOS

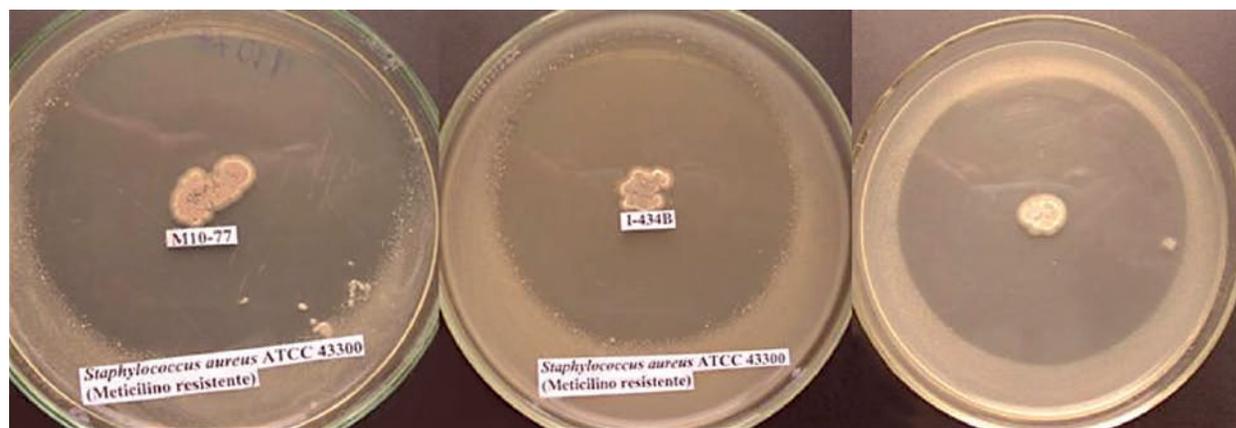
Los resultados de la caracterización de las 29 cepas de actinomicetos marinos evaluados en el presente estudio (aislados de sedimento marino) se indican en la Tabla 1. Para efectos de su cultivo en el laboratorio se evaluaron dos medios comparativos de crecimiento. Se observó ligero predominio de crecimiento en agar marino en comparación con el agar Czapeck. Este hecho ocurre generalmente a partir de los cinco a siete días de incubación hasta los 21 días. El tamaño de las colonias fue variable, desde pequeñas menores a 2 mm hasta colonias de 12 mm de diámetro. La mayoría (65%) formaron, inicialmente, colonias ligeramente húmedas y algo brillosas, pero con el transcurrir del tiempo se volvieron opacas y secas, adquiriendo una apariencia parecida al yeso. Este comportamiento hace referencia a los estados de conversión por los que pasan las hifas aéreas de los actinomicetos, hasta llegar a la formación de esporas (conidias). Se pudo observar una variedad de formas de colonia de actinomicetos siendo las más frecuentes las colonias circulares con borde liso y las colonias de bordes muy irregulares (festoneados, dactiliformes y dentados). Las colonias blanca-grisáceas pulverulentas y sin pigmentación en superficie (62%) predominaron sobre las demás variedades de colonias; sin embargo, la pigmentación al reverso de cada colonia fue variable entre el color marrón, amarillo y rojizo, especialmente observadas en el agar Czapeck.

La actividad inhibitoria de las cepas de actinomicetos frente a los patógenos MDR se observa en la Tabla 2. Tal como se puede apreciar el tamaño de los halos de inhibición variaron desde 11 hasta 77 mm de diámetro, siendo, entre otras, las cepas M10-77, I-400A y B1-T61 las más efectivas con 92; 85,7% y 85,2% de inhibición, respectivamente, frente a *S. aureus* ATCC 43300 (meticilino resistente) (Figura 1). Asimismo, se puede apreciar la capacidad inhibitoria de los actinomicetos marinos contra otros patógenos como *S. aureus* MDR (cepa peruana), *E. faecalis* ATCC 51299 (vancomicina resistente) y *E. faecalis* ATCC 29212 (vancomicina sensible). Se destaca el porcentaje

**Tabla 1.** Caracterización de las 29 cepas de actinomicetos marinos evaluados en el presente estudio (aislados de sedimento marino de las bahías de Ancón en Lima e Independencia en Ica).

CEPAS (Código)	Crecimiento (Medio)		Colonia		Pigmento difusible	Origen (Bahía)
	Agar Marino	Agar Czapeck	Micelio aéreo (color)	Reverso de colonia (color)		
M11-105	+++	++	Blanco	Amarillo tenue	-	I
M11-106	+++	++	Blanco	Marrón tenue	-	I
M11-110	+++	++	Blanco-rojizo.	Rojizo	-	I
M11-120	+++	+++	Blanco	Blanco-grisáceo	-	I
M11-121	++	++	Blanquecino	Marrón oscuro	-	I
M11-93	+++	++	Blanco grisáceo	Amarillo tenue	amarillo	I
M11-116	++	+	Blanco	Amarillo	-	I
M10-85	+++	++	Blanco	Blanco grisáceo	-	I
M10-77	+++	++	Grisáceo	Marrón oscuro.	-	I
I-34A	++	++	Blanco	Marrón tenue	-	A
I-34B	++	++	Grisáceo	Marrón tenue.	-	A
I-234	+++	++	Grisáceo	Grisáceo.	-	A
I-434A	++	++	Grisáceo	Grisáceo.	-	A
I-434B	+++	++	Blanco	Marrón tenue	-	A
I-100A	+++	++	Blanco	Plomizo	-	A
I-300A	++	++	Grisáceo	Marrón tenue.	naranja	A
I-300B	+++	+++	Blanco-grisáceo	Grisáceo.	-	A
I-300C	+++	++	Grisáceo	Grisáceo.	-	A
I-400A	++	++	Blanco-grisáceo	Grisáceo.	-	A
II-334C	+++	++	Grisáceo	Plomizo	-	I
III-234C	+++	++	Blanco	Marrón - verde.	Verde	I
III-234E	++	+	Blanco-marrón	Beige - rojo.	Rojizo	I
III-434B	+++	++	Plomizo	Plomizo	-	I
III-200D	++	+	Crema	Marrón claro.	-	I
III-200F	++	+	Crema	Grisáceo.	-	I
III-300A	++	++	Blanco	Marrón rojizo.	Rojizo	I
B1-T61	+++	+++	Blanco -grisáceo.	Marrón rojizo.	Rojizo	I
B1-T7	+++	++	Blanco	Marrón rojizo.	Rojizo	I
B1-T63	+++	+++	Crema - rojizo	Rosáceo	-	I

+: Crecimiento escaso  
 ++: Crecimiento moderado  
 +++: Crecimiento abundante  
 A: Bahía de Ancón (Lima)  
 I: Bahía de Independencia – Paracas (Ica)

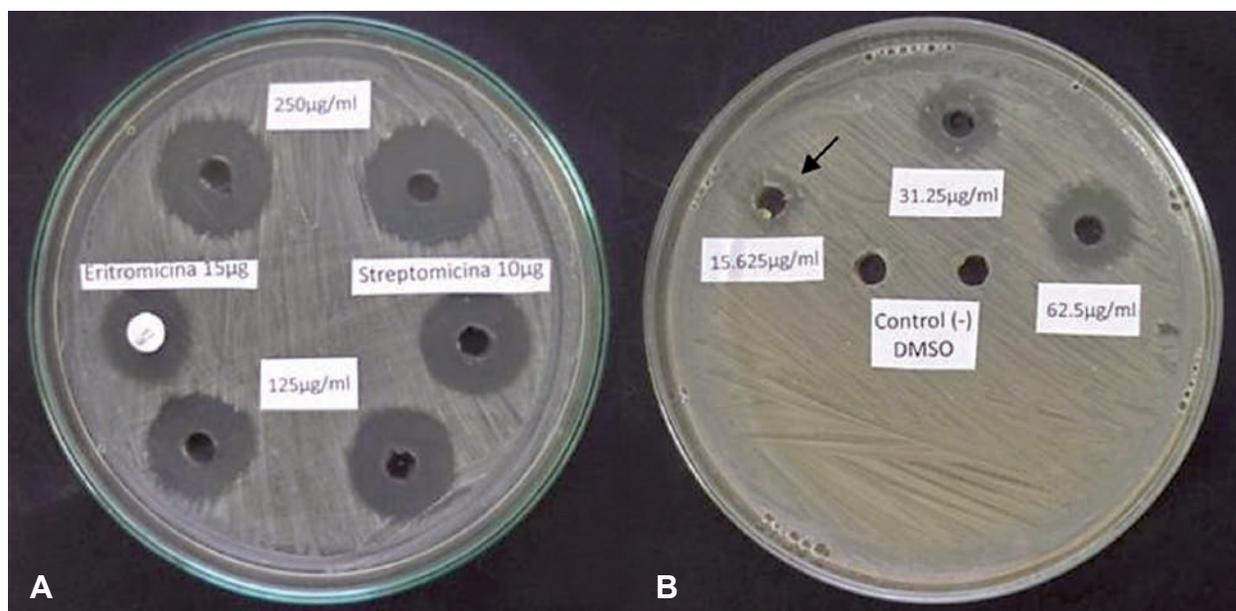


**Figura 1.** Actividad antimicrobiana de dos actinomicetos marinos (M10-77 y I-434B) frente a cepa estándar de *S. aureus* (A y B) y el actinomiceto B1-T61 frente a la cepa peruana de *S. aureus* MDR (C).

**Tabla 2.** Capacidad Inhibitoria de 29 actinomicetos marinos frente a cepas testigo de *S. aureus* y *E. faecalis* multi-drogo-resistentes MDR (expresado en mm de diámetro de halos de inhibición) (Método de doble capa).

CEPAS	<i>S. aureus</i> ATCC 43300 <sup>(a)</sup>	% inhibición <sup>(e)</sup>	<i>S.aureus</i> MDR <sup>(b)</sup> (cepa peruana)	% inhibición	<i>E. faecalis</i> ATCC 51299 <sup>(c)</sup>	% inhibición	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212 <sup>(d)</sup>	% inhibición
M11-105	62	82,2	64	82,8	54	75,9	58	74,1
M11-106	25	28	41	51,2	25	36	41	56,1
M11-110	-	-	-	-	-	-	-	-
M11-120	-	-	-	-	-	-	-	-
M11-121	61	85,2	-	-	60	88,3	43	88,4
M11-93	-	-	-	-	-	-	-	-
M11-116	69	84,1	30	60	-	-	-	-
M10- 85	16	50	-	-	26	53,8	-	-
<b>M10-77</b>	<b>50</b>	<b>92</b>	<b>66</b>	<b>83,3</b>	<b>50</b>	<b>80</b>	<b>55</b>	<b>69,1</b>
I- 34A	16	68,8	21	66,6	32	56,3	26	69,2
I -34B	64	81,3	62	67,7	50	80	-	-
I -234	60	81,6	69	82,6	50	72	55	76,4
I- 434A	67	80,6	71	85,9	-	-	66	83,3
I -434B	61	85,2	65	84,6	56	76,8	55	76,4
I -100A	12	25	15	53,3	-	-	-	-
I -300A	62	79	60	81,7	52	76,9	53	75,5
I -300B	72	81,9	64	78,1	-	-	55	78,2
I -300C	70	-	76	82,9	65	78,5	61	85,2
<b>I -400A</b>	<b>77</b>	<b>85,7</b>	<b>75</b>	<b>81,3</b>	<b>61</b>	<b>85,2</b>	<b>70</b>	<b>84,3</b>
II-334C	69	82,6	67	83,6	-	-	63	79,4
III-234C	-	-	60	83,3	-	-	-	-
III-234E	-	-	-	-	78	80,8	-	-
III- 434B	63	82,5	62	85,5	57	84,2	58	81
III-200D	11	18,2	-	-	-	-	-	-
III-200F	-	-	-	-	-	-	-	-
III-300A	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>B1-T61</b>	<b>62</b>	<b>85,2</b>	<b>68</b>	<b>83,8</b>	<b>48</b>	<b>79,2</b>	<b>66</b>	<b>83,3</b>
B1-T7	-	-	-	-	12	41,7	-	-
B1-T63	-	-	-	-	-	-	-	-

(a) Meticilino-resistente; (b) Multi-drogo-resistente; (c) Vancomicina-resistente; (d) Vancomicina-sensible; (e) Valor hallado (promedio) de la relación del tamaño del halo de actividad y el tamaño de la colonia x 100. Se realizó la prueba por duplicado



**Figura 2.** Actividad inhibitoria del extracto diclorometánico de *Streptomyces* M10 – 77 frente a *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA). Obsérvese que 15,625 µg/mL del extracto (flecha) aún mantiene actividad. Controles positivos (A): eritromicina (15 µg) y estreptomycin (10 µg/mL); control negativo (B): DMSO.

**Tabla 3.** Actividad inhibitoria del extracto diclorometánico (20 mg/ml) de 3 actinomicetos frente a *S. aureus* ATCC 43300 por el método de difusión en pocillo.

Actinomiceto	Diámetro del halo de inhibición (mm)	% de inhibición
M10-77	40	87,5
I-400A	14	64,2
B1-T61	24	79,16
* DMSO (20 µL)	-	-
† Ciprofloxacino (5,0 µg)	35	88,5

\* Control negativo

† Control positivo

de inhibición de las cepas I-434A y I-434B (85,9 y 84,6% respectivamente) frente *S. aureus* MDR cepa peruana (un patógeno aislado de aspirado de catéter y declarado multidrogo-resistente con resistencia a ocho drogas de un total de diez de uso convencional)<sup>(17)</sup>; así como la cepa M11-121 con porcentaje de inhibición mayor a 88% frente a ambas cepas estándar de *E. faecalis*.

El uso de solventes orgánicos para la obtención de principios activos a partir de cultivos es de aplicación frecuente en procesos microbianos. En este estudio, a partir de cultivos en agitación de las cepas elegidas (M10-77, I-400A y B1-T61) se ha logrado recoger extractos crudos utilizando el diclorometano, los cuales mostraron considerable actividad inhibitoria contra *S. aureus* ATCC 43300 (metecilino-resistente) (Tabla 3). El extracto crudo obtenido a partir del actinomiceto cepa M10-77

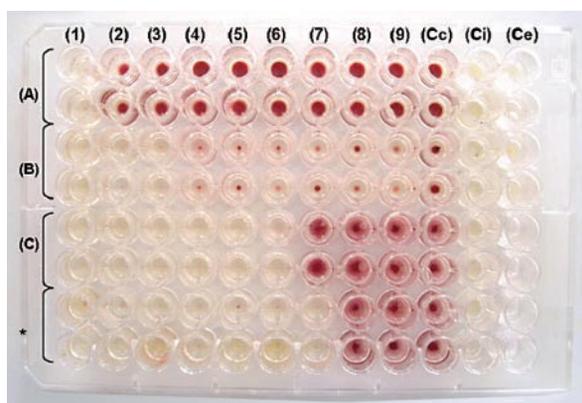
**Tabla 4.** Actividad inhibitoria semicuantitativa de diferentes concentraciones del extracto diclorometánico de *Streptomyces* M10-77 frente a *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) determinado por el método de "pocillo" en placas de agar.

Concentración (µg/mL)	Diámetro del halo de inhibición (mm)
4 000	26
2 000	24
1 000	22
500	20
250	20
125	19
62,5	13
31,25	11,5
15,625	8,0
<b>7,81</b>	<b>6,0</b>
Streptomycin (10 µg) (control positivo)	18
Eritromicina (15 µg) (control positivo)	14
DMSO (control negativo)	5*

Se inoculó 20 µL de la dilución en cada pocillo.

\*: El diámetro del pocillo es de 5 mm.

Se realizó la prueba por duplicado.



**Figura 3.** Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto diclorometánico de la cepa M10-77 frente a patógenos MDR.

**Cepas testigo:** (A): *E. coli* 150 (no descrita en el presente trabajo); (B): *E. faecalis* ATCC 51299 (VRE); (C): *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA).

**Diluciones (µg/mL):** (1): 250; (2): 125; (3): 62,5; (4): 31,7; (5): 15,9; (6): 7,9; (7): 3,9; (8): 1,9; (9): 0,9.

**Controles:** (\*) CMI de vancomicina frente a *S. aureus* ATCC 43300; (Cc): control de crecimiento microbiano; (Ci): control de inhibición por vancomicina (100 µg/mL); (Ce): Control de esterilidad del medio de cultivo.

fue inicialmente probado contra este patógeno mediante el método de "pocillos", cuyos primeros resultados se observan en la Figura 2. En ella, es muy notoria la actividad inhibitoria del extracto crudo a diferentes concentraciones, superando inclusive a antibióticos testigo como eritromicina (15 µg) y estreptomycin (10 µg/mL) (Figura 2 y Tabla 4). Asimismo, utilizando el método de "pocillo" los extractos de los actinomicetos seleccionados que fueron sometidos a pruebas comparativas mostraron nuevamente a la cepa M10-77 con el mayor halo de actividad inhibitoria frente a la cepa estándar de *S. aureus* ATCC 43300, generando un halo de inhibición de hasta 40 mm (equivalente a 87,5% de inhibición) en comparación con el control positivo ciprofloxacino (5 µg) que alcanzó producir un halo de 35 mm de diámetro (88,5% de inhibición) (Tabla 3).

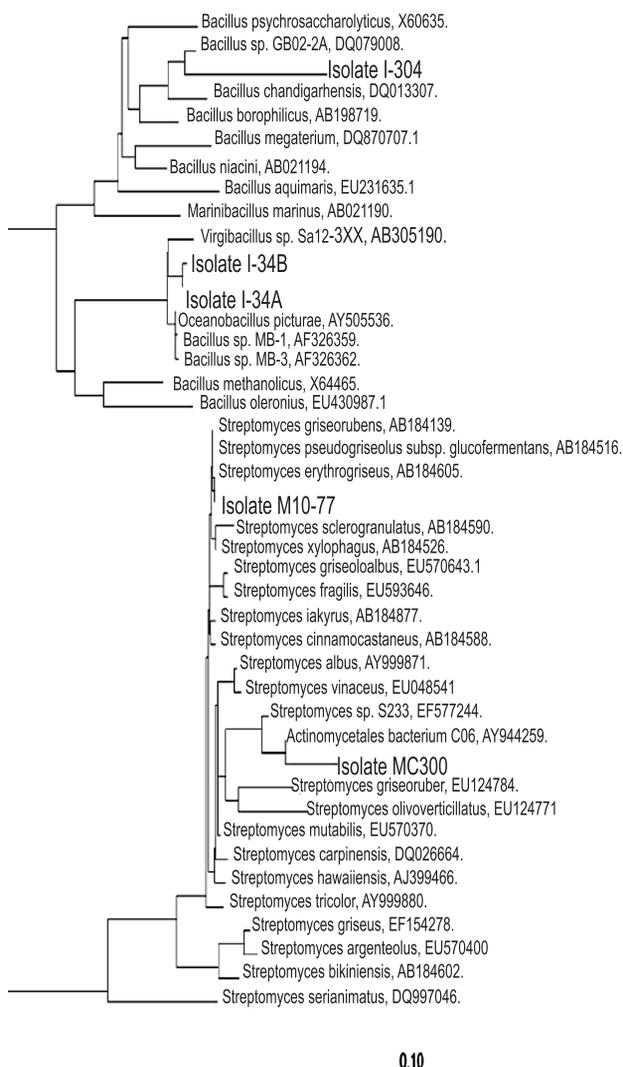
Las pruebas de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) (método de microdilución) de los extractos diclorometánicos obtenidos a partir de los tres actinomicetos con mayor rendimiento antimicrobiano muestran resultados prometedores (Tabla 5). Fue el extracto obtenido de la cepa M10-77 la que brindó mayor rendimiento antimicrobiano, cuyo valor fue calculado en 7,9 y 31,7 µg/mL frente a *S. aureus* ATCC 43300 (metecilino-resistente) y *E. faecalis* ATCC 51299 (vancomicina-resistente) respectivamente (Tabla 5, Figura 3). La actividad biológica expresada como la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos crudos hace referencia a la bioactividad frente a bacterias Gram positivas, en este caso patógeno multidrogo-resistentes. Los valores de las CMI de los tres actinomicetos evaluados en el presente estudio oscilan entre 7,9-125 µg/mL (Tabla 5).

**Tabla 5.** Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) (método de microdilución) de extractos diclorometánicos de 3 actinomicetos marinos frente a cepas de *S. aureus* (MRSA) y *E. faecalis* (VRE)

Cepa testigo	CMI (µg/ml)		
	M10-77	I-400A	B1-T61
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	7,9	31,7	31,7
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	31,7	62,5	125

\* La CMI de vancomicina frente a *S. aureus* ATCC 43300 fue de 3,9 µg/ml

El análisis filogenético de las cepas M10-77 y MC-300 (este último no descrito en el presente trabajo) indica que el actinomiceto marino M10-77 pertenece al grupo de actinobacterias marinas, con porcentaje de similaridad de 99% con la especie *Streptomyces erythrogriseus* (Figura 4).



**Figura 4.** Árbol filogenético del actinomiceto cepa M10-77 aislado de sedimento marino (Bahía de Independencia, Pisco – Perú) presentando su ubicación filogenética en función del análisis de su rRNA 16S. Nivel de similaridad > al 99% a *Streptomyces erythrogriseus*.

## DISCUSIÓN

En la actualidad, la multiresistencia antibiótica pone en peligro el tratamiento de un número creciente de enfermedades infecciosas. Gracias a la participación de actinomicetos productores de metabolitos bioactivos tipo antibiótico es posible contrarrestar a algunos de estos patógenos emergentes. Así tenemos que especies del género *Streptomyces* de origen marino son inconsiderada actinobacterias modelos en la producción de nuevos y promisorias moléculas antimicrobianas.

En el presente estudio se pudo observar una variedad morfológica de colonias de actinomicetos siendo las más frecuentes las circulares con borde liso y las colonias de bordes muy irregulares. Asimismo, las colonias blanco-grisáceas pulverulentas y sin pigmentación en superficie predominaron sobre las demás variedades de colonias; sin embargo, la pigmentación al reverso de cada colonia fue variable entre el color marrón, amarillo y rojizo. Estas características fueron también observadas por Magarvey *et al.*, (2004) <sup>(22)</sup> para actinobacterias que fueron identificadas, en su mayoría, como miembros de la familia *Streptomycetaceae* y *Micromonosporaceae*. Asimismo, Ramesh & Mathivanan (2009) <sup>(23)</sup> señalaron que de un total de 208 actinomicetos aislados de una bahía, 115 presentaron colonias grisáceas, 79 blancas, 6 azuladas, 7 rosáceas y solo una anaranjada; de todos ellos, 183 (87,9%) fueron identificados como *Streptomyces* y 25 pertenecientes a otros géneros. Otros reportes señalan también a *Streptomyces* como el género predominante en ambientes marinos <sup>(24-26)</sup>, aunque actinomicetos como *Actinoplanes*, *Verrucosispora*, *Salinispora*, *Actinomadura*, *Thermomonospora*, *Kocuria*, *Dactylosporangium*, *Virgosporangium*, entre otros también están presentes <sup>(17,22-29)</sup>.

Estos datos resultan muy interesantes en el tratamiento de los MDR emergentes del mundo contemporáneo, especialmente patógenos frecuentes como *S. aureus* metililino-resistentes (MRSA) y *E. faecalis* vancomicina resistentes (VRE). En el Perú, existe escasa literatura científica relacionada con el aislamiento y la actividad antimicrobiana de bacterias marinas. León *et al.* 2007 <sup>(30)</sup> reportaron el aislamiento, caracterización fenotípica y propiedades antimicrobianas frente a patógenos humanos de diez cepas marinas que incluyen a géneros como *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* y dos actinomicetos, todos aislados de invertebrados intermareales de la Bahía de Ancón. Otros reportes señalan la presencia considerable de actinomicetos (aislados de sedimento marino recolectados de diferentes profundidades de la costa central del Perú) con actividad antibacteriana y antifúngica frente a patógenos de origen clínico <sup>(17)</sup>.

Los resultados del presente trabajo confirman el potencial bioactivo de cepas nativas de actinomicetos. Por otro lado, la presencia de MRSA está registrada en varios reportes, entre ellos los trabajos de Mendoza *et al.* (2003) <sup>(31)</sup>. En otras latitudes, Sujatha *et al.*, (2005) <sup>(32)</sup>, describen el aislamiento y la caracterización de *Streptomyces psammoticus* cepa BT-480 productora de un antibiótico poliketide SBR-22 efectiva contra *S. aureus* meticilino-resistentes. Asimismo, Magarvey *et al.*, (2004) <sup>(22)</sup> describen a 17 cepas de actinomicetos aislados de sedimento marino con diversas actividades biológicas, entre ellas inhibitorias de *S. aureus* meticilino - resistentes, *Enterococcus* vancomicina - resistentes, *Cryptococcus neoformans* y *Candida albicans*. Otros investigadores como Saadoun & Gharaibeh (2003) <sup>(33)</sup> aislaron 90 *Streptomyces* de sedimentos, de los cuales el 54% mostraron actividad antimicrobiana remarcable contra *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella* sp y *Shigella* sp; asimismo, Imada *et al.*, (2007) <sup>(34)</sup> de 100 actinomicetos marinos, encontró que 59 presentaban actividad antibacteriana. En el caso particular del presente trabajo (Tabla 2), al menos 23 actinomicetos (89,6%) mostraron actividad inhibitoria contra los patógenos MDR en prueba.

Se considera que el rendimiento de los extractos puede variar dependiendo de la naturaleza química del metabolito y la polaridad del solvente utilizado, siendo el acetato de etilo el más recomendado en la literatura. Vimal *et al.*, (2009) <sup>(35)</sup> caracterizaron una cepa de *Nocardiosis* sp. VITSVK 5 (FJ973467) aislada de sedimento marino, cuya actividad fue considerada como un metabolito de amplio espectro antimicrobiano, determinando además que los extractos obtenidos con éter de petróleo mantenían buen rendimiento contra *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *B. cereus*, y *S. aureus*; en cambio los extractos de acetato de etilo mantenían mejor rendimiento frente a los hongos filamentosos como *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* y *A. niger*, mientras que los extractos clorofórmicos fueron muy efectivos contra las levaduras del género *Candida*. Trabajos similares al presente indican que es necesario probar varios solventes orgánicos y varias cepas indicadoras; así, Leiva *et al.*, (2004) <sup>(36)</sup> utilizando cinco solventes diferentes obtuvo mejores resultados con etilmetilcetona que mostró un rendimiento muy activo contra *Bacillus subtilis*. Patrón de inhibición similar fue demostrado a partir de extractos de acetato de etilo de *Streptomyces* marino RM17 RM42 <sup>(37)</sup>, *Streptomyces* aislados de la Bahía de Bengala <sup>(38)</sup> y *Streptomyces* marinos cepa Merv 1996 y Merv 7409 <sup>(39)</sup>.

Los valores de las CMI de los tres actinomicetos evaluados en el presente estudio oscilan entre 7,9–125 µg/mL (Tabla 5), valores muy similares a otros actinomicetos estudiados en otras latitudes. El-Geny *et al.* (2008) <sup>(39)</sup> reportaron valores de CMI de *Streptomyces* marinos Merv

1996 frente a *B. subtilis* ATCC 6051, *S. aureus* ATCC 6538 y *M. luteus* en 3,6 µg/mL, 8 µg/mL y 2 µg/mL respectivamente. En cambio Manivasagan *et al.* (2009) <sup>(40)</sup> reporta valores entre 16-74 µg/mL para *Streptomyces* sp. PM-32 frente a varios patógenos bacterianos y fúngicos, que incluye a *S. aureus*, *Shigella*, *E. coli*, *Aspergillus*, *Candida*, entre otros. Asimismo, Gorajana *et al.* (2005) <sup>(41)</sup>, reportan valores CMI entre 16 a > 128 µg/mL para *Streptomyces chibaensis* frente a cepas estándar de *Bacillus*, *Staphylococcus*, *E. coli*, *Proteus* y *Pseudomonas*. Sin embargo, Pandey *et al.* (2004) <sup>(42)</sup> señalan que la CMI no es una constante para un agente determinado ya que está influenciada por varios factores. Estos factores incluyen la naturaleza del organismo en prueba, el tamaño del inóculo, la composición del medio de cultivo, tiempo de incubación y otros.

Se conocen aproximadamente 23 000 metabolitos secundarios de origen microbiano, de ellos, 42% son producidos por actinobacterias, 42% por hongos y 16% por otras bacterias. De los aproximadamente 10 000 antibióticos conocidos, los streptomicetos son los principales productores de antibióticos, siendo el género *Streptomyces* productor de aproximadamente el 55% de los antibióticos conocidos a la fecha <sup>(43,44)</sup>.

En los últimos años se han venido realizando estudios específicos de metabolitos producidos por actinomicetos marinos y otras fuentes contra patógenos humanos obteniendo resultados muy satisfactorios e incluso llegando a purificar e identificar nuevas estructuras de compuestos bioactivos, como las neocitreamicinas I y II y la laidlomocina purificadas a partir de cepas nuevas de *Nocardia* y *Streptomyces* respectivamente; las cuales resultaron ser muy activos frente a *S. aureus* meticilina-resistente y *E. vancomicina*-resistentes <sup>(21,38,45,46)</sup>. La producción de estos metabolitos potentes generalmente se les atribuye a nuevos miembros de las llamadas actinobacterias, las cuales son consideradas como las más abundantes que geográficamente se encuentran en suelos y sedimentos marinos, ecosistemas poco explorados <sup>(47)</sup>. Sin embargo, en la búsqueda y obtención de nuevas cepas se encuentran géneros particulares con potencialidades únicas, como es el caso del actinomiceto marino *Salinispora* sp. prolífico productor de compuestos anti-neoplásicos llamado salinosporamida <sup>(48)</sup>. Análisis moleculares y morfológicos posteriores permitirán dilucidar la identidad final de otras cepas en estudio.

El presente trabajo representa un avance en las investigaciones de compuestos bioactivos producidos por actinomicetos de la costa peruana. Trabajos posteriores de purificación de los compuestos activos así como la evaluación de la capacidad sinérgica de los componentes obtenidos con diferentes solventes esperan ser realiza-

dos para conocer el efecto bactericida real frente a los patógenos multidrogo-resistentes así como para determinar si se trata de algún compuesto estructuralmente nuevo. Williams (2009)<sup>(49)</sup> ha señalado que las bacterias marinas representan una fuente prioritaria para el descubrimiento de nuevas clases de compuestos terapéuticos que asegure para los próximos 100 años en la batalla contra los patógenos multidrogo-resistentes.

En conclusión, el sedimento marino de la costa central del Perú es fuente promisorio de numerosas cepas de actinomicetos con gran capacidad de producir compuestos bioactivos capaces de inhibir patógenos tipificados como multidrogo-resistentes tales como *S. aureus* metilicilino resistentes y *E. faecalis* vancomicina resistentes. Esta capacidad inhibitoria solo es comparable a la acción de algunos antibióticos estándares y está ratificada en el presente trabajo por la determinación de bajas dosis de Concentración Mínima Inhibitoria.

## AGRADECIMIENTOS

Al Magíster Jesús Tamariz (Universidad Peruana Cayetano Heredia) por la donación de las cepas MDR, al Dr. Hinsby Cadillo por su apoyo en el análisis filogenético y al Grupo de Estudios de Ecología Marina en la persona del Dr. Juan Tarazona por el apoyo brindado en la colecta de las muestras de sedimento marino.

## Contribuciones de Autoría

JL participó en la concepción y diseño del trabajo, análisis de datos y encargado de preparar el manuscrito; JA, fue el encargado del aislamiento de las cepas, pruebas de CMI; RR participó en procesos de fermentación; DLC, participó en el aislamiento de actinomicetos y pruebas de antagonismo; NA, fue la encargada de pruebas en el laboratorio; GT y MG participaron en la obtención de extractos con solventes orgánicos.

## Fuente de Financiamiento

Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos a través del Proyecto: "Actinomicetos Marinos: producción y caracterización de metabolitos de interés biotecnológico" (Código: 091001112).

## Conflictos de Interés

Los autores manifiestan no tener conflictos de interés en la publicación de este artículo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fenical W, Jensen PR. Strategies for the discovery of secondary metabolites from marine bacteria: Ecological perspectives. *Ann Rev Microbiol.* 1994;48:559-84.
2. Fenical W. New Pharmaceuticals from marine organisms. *Trends Biotechnol.* 1997;5(9):339-41.
3. WHO. Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Geneva: WHO; 2001.
4. Oskay M, Tamer AU, Azeri C. Antibacterial activity of some actinomicetes isolated from farming soils of Turkey. *African J. Biotechnol.* 2004;3(9):441-6.
5. Prashith Kekuda, Shobha KS, Onkarappa R. Fascinating diversity and potent biological activities of Actinomycete metabolites. *J Pharmacy Res.* 2010;3(2):250-6.
6. Doern GV, Pdaller MA, Erwin ME, Brueggemann AB, Jones RN. The prevalence of fluoroquinolone resistance among clinically significant respiratory tract isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States and Canada – 1997 results from the Sentry Antimicrobial Surveillance Program. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1998;32(4):313-6.
7. Alanis AJ. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? *Arch Med Res.* 2005;36:697-705.
8. Enright MC. The evolution of a resistant pathogen the case of MRSA. *Curr Opin Pharmacol.* 2003;3(5):474-9.
9. Bozdogan B, Esel D, Whitener C. Antibacterial susceptibility of a vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* strain isolated at the Hershey Medical Center. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52:864-8.
10. Chang S, Sievert DM, Hageman JC. Infection with vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* containing the *vanA* resistance gene. *N Engl J Med.* 2003;348:1342-7.
11. Gould IM. The Epidemiology of antibiotic resistance. *Int J Antimicrob Agents.* 2008;32(1):S2-9.
12. Levy SB, Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat Med.* 2004;10(12):S122-9.
13. Wenzel RP. The antibiotic pipeline-challenges, cost, and values. *N Engl J Med.* 2004;351:523-6.
14. Urban C, Segal-Mauer S, Rahal JJ. Considerations in control and treatment of nosocomial infections due to multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis.* 2003;36:1268-74.
15. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, Mohapatra S, Casellas JM, Goessens H, et. al. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of extended spectrum beta-lactamase production in nosocomial infections. *Ann Intern Med.* 2004;140:26-32.
16. Fenical W, Jensen P. Developing a new resource for drug discovery: marine actinomycete bacteria. *Nat Chem Biol.* 2006;2(12):666-73.
17. León J, Liza L, Soto I, Cuadra DL, Patiño L, Zepa R. Actinomicetes bioactivos de sedimento marino de la costa central del Perú. *Rev Per Biol.* 2007;14(2):259-70.
18. Westerdahl A, Olsson J, Kjelleberg S, Conway P. Isolation and characterization of turbot (*Scophthalmus maximus*) associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1991;57(8):2223-8.
19. León J, García-Tello P. Cepas nativas del bacterioneuston marino y su actividad inhibitoria de bacterias ictiopatógenas. *Rev Per Biol.* 1998;5(1):47-64.
20. Zheng L, Lin W, Yan X, Chen H. A primary study on antimicrobial and cytotoxic activity of marine bacteria. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao.* 2004;15(9):1633-6.

21. Peoples A, Zhang Q, Millet W, Rothfeder MT, Pescatore BC, Madden AA, et al. Neocitreamicins I and II, Novel Antibiotics with Activity Against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* and Vancomycin-Resistant Enterococci. *J Antibiot* (Tokyo). 2008;61(7):457-63.
22. Magarvey NA, Keller JM, Bernan V, Dworkin M, Sherman DH. Isolation and characterization of novel marine-derived actinomycete taxa rich in bioactive metabolites. *Appl Environ Microbiol*. 2004;70(12):7520-9.
23. Ramesh S, Mathivanan N. Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes. *World J. Microbiol Biotechnol*. 2009;25:2103-11.
24. Kokare CR, Mahadik KR, Kadam SS, Chopade BA. Isolation of bioactive marine actinomycetes from sediments isolated from Goa and Maharashtra coastlines (west coast of India). *Indian J Mar Sc*. 2004;33:248-56.
25. Fiedler HP, Bruntner C, Bull AT, Ward AC, Goodfellow M, Potterat O, et al. Marine actinomycetes as a source of novel secondary metabolites. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2005;87:37-42.
26. Ramesh S, Jayaprakashvel M, Mathivanan N. Microbial status in seawater and coastal sediments during pre- and post-tsunami periods in the Bay of Bengal, India. *Mar Ecol*. 2006;27:198-203.
27. Jensen P, Dwight R, Fenical W. The distribution of actinomycetes in near-shore tropical marine sediments. *Appl Environ Microbiol*. 1991;57:1102-8.
28. Maldonado LA, Fragoso-Yañez D, Pérez-García A, Rosellón-Druker J, Quintana ET. Actinobacterial diversity from marine sediments collected in México. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2008;95:111-20.
29. Mincer TJ, Jensen PR, Kauffman CA, Fenical W. Wide spread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in oceans sediments. *Appl Environ Microbiol*. 2002;68:5005-11.
30. León J, Liza L, Soto I, Torres M, Orosco A. Bacterias marinas productoras de compuestos antibacterianos aisladas a partir de invertebrados intermareales. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2010;27(2):215-21.
31. Mendoza CA, Velásquez R, Mercado L, Ballón J, Maguñía C. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* sensible, con sensibilidad "BORDERLINE" y resistentes a la meticilina. *Rev Med Hered*. 2003;14(4):181-5.
32. Sujatha P, Bapi Raju KV, Ramana T. Studies on a new marine streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Res*. 2005;160(2):119-26.
33. Saadoun I, Gharaibeh R. The *Streptomyces* flora of Badia región of Jordan and its potential as a source of antibiotics active against resistant bacteria. *J Arid Environ*. 2003;53: 65-71.
34. Imada C, Koseki N, Kamata M, Kobayashi T, Hamada-Sato N. Isolation and characterization of antibacterial substances produced by marine actinomycetes in the presence of seawater. *Actinomycetologica*. 2007;21:27-31.
35. Vimal V, Rajan BM, Kannabiran K. Antimicrobial activity of marine actinomycete, *Nocardioopsis* sp. VITSVK 5 (FJ973467). *Asian J Med Sci*. 2009;1(2):57-63.
36. Leiva S, Yañez M, Zaror L, Rodríguez H, García-Quintana H. Actividad antimicrobiana de Actinomycetales aislados desde ambientes acuáticos de sur de Chile. *Rev. Med. Chile*. 2004;132:151-9.
37. Remya M, Vijayakumar R. Isolation and characterization of marine antagonistic actinomycetes from west coast of India. *Faceta universitatis Series. Medicine and biology*. 2008;15(1):13-9.
38. Peela S, Kurada B, Terli R. Studies on antagonistic marine actinomycetes from the Bay Bengal. *World J Microbiol Biotech*. 2005;21:583-5.
39. El-Gendy MAA, Shaaban M, El-Bondkly AM, Shaaban KA. Bioactive benzopyrone derivatives from new recombinant fusant of marine *Streptomyces*. *Appl Biochem Biotechnol*. 2008;150:85-96.
40. Manivasagan p, Gnanan S, Sivakumar K, Thangaradjou T, Vijayalaksmi S, Balasubramanian T. Antimicrobial and cytotoxic activities of an actinobacteria (*Streptomyces* sp. PM-32) isolated from an offshore sediments of the Bay of Bengal in Tamilnadu. *Adv Biol Research*. 2009;3(5-6):31-6.
41. Gorajana A, Kurada B, Peela S, Jangam P, Vinjamuri S, Poluri E, Zeek A. 1-Hydroxy-1-norresistomycin, a new cytotoxic compound from a marine actinomycete, *Streptomyces chibaensis* AUBN1/7. *J Antibiot*. 2005;58(8):526-9.
42. Pandey B, Ghimire P, Agrawal VP. Studies on the antibacterial activity of actinomycetes isolated from the Khumbu region of Mt. Everest. *Int Confer Great Himalayas*. Kathmandu University, Canada. January. 2004. p. 12-5.
43. Lazzarini A, Cavaletti L, Toppo C, Marinelli F. Rare genera of Actinomycetes of potential producers of new antibiotics. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2000;78:399-405.
44. Berdy J. Bioactive microbial metabolites. A personal view. *J Antibiot*. 2005;58(1):1-26.
45. Yoo JC, Kim JH, Ha JY, Park NS, Sohng JK, Lee JY, et al. Production and biological activity of Laidlomycin, anti-MRSA/VRE antibiotic from *Streptomyces* sp. CS684. *J Microbiol*. 2007;45(1):6-10.
46. Fukumoto A, Kim YP, Matsumoto A, Takahashi Y, Shiomi K, Tomoda H, Omura S. Cyslabdan, a new potentiator of imipenem activity against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, produced by *Streptomyces* sp. K04-0144. *J Antibiot*. 2008;61:1-6.
47. Ward AC, Bora N. Diversity and biogeography of marine actinobacteria. *Curr Opin Microbiol*. 2006;9:1-8.
48. Jensen PR, Williams PG, Oh DC, Zeigler L, Fenical W. Species-specific secondary metabolite production in marine actinomycetes of the genus *Salinispora*. *Appl Exper Microbiol*. 2006;73(4):1146-52.
49. Williams, PG. Panning for chemical gold: marine bacteria as a source of new therapeutics. *Trends Biotechnol*. 2009;27:45-52.

---

**Correspondencia:** Jorge León Quispe.

Dirección: Ciudad Universitaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Venezuela s/n, Lima 1, Perú.

Correo electrónico: [jorgeleonq@yahoo.com](mailto:jorgeleonq@yahoo.com)