

BUSQUEDA DE SUSTANCIAS ANTIBIOTICAS EN EL SUELO DE ALGUNAS REGIONES DEL PAIS

I. AISLAMIENTO DE CEPAS DE MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE SUSTANCIAS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA, DE 12 MUESTRAS DE TIERRA.

Roberto Pinzón, Químico Farmacéutico, Doctor en Farmacia, Profesor Titular, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional.

RESUMEN

Se analizaron 12 muestras de tierra recolectadas en diferentes regiones del país y de ellas se aislaron 43 cepas de microorganismos productores de sustancias con actividad antimicrobiana. Las cepas aisladas se ensayaron frente a siete microorganismos testigos y algunas, como las correspondientes al orden actinomicetales, inhibieron el crecimiento de casi todos estos microorganismos. Las cepas fueron identificadas preliminarmente. Sobre algunas existen estudios relacionados con la producción de antibióticos; de las restantes no se encontró información acerca de su actividad antimicrobiana.

SUMMARY

Twelve soils samples collected in different colombian regions were analyzed. Forty three strains of antimicrobial producing microorganisms were isolated. The strains were assayed against seven reference microorganisms. Some of the strains belonging to the actinomycetales inhibited growing of almost all of the reference microorganisms. The strains were preliminary identified. There are not studies on the antibiotic productions of all the strains isolated, but some of them have been studied.

INTRODUCCION

La mayoría de las sustancias antimicrobianas, y en particular los antibióticos, son compuestos químicos producidos especialmente por hongos, bacterias, algas, líquenes y actinomicetos.

El descubrimiento de nuevos agentes antiinfecciosos reviste especial interés pues son numerosas las enfermedades causadas por microorganismos en los humanos, en los animales y en las plantas, y cada día es más frecuente el fenómeno de resistencia bacteriana a las sustancias empleadas para combatir esta clase de afecciones.

Si bien es cierto que la síntesis ha jugado un papel importante en el desarrollo de estas sustancias, han sido los estudios efectuados a partir de microorganismos los que más han contribuido al conocimiento de los antibióticos.

El presente trabajo trata de los resultados obtenidos en la primera etapa de un estudio orientado hacia la búsqueda de nuevas sustancias con actividad antimicrobiana en muestras de tierra recolectadas en diferentes regiones del país. La investigación fue patrocinada por Colciencias y la Universidad Nacional.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestras de tierra

Las muestras de tierra fueron recolectadas en diferentes sitios del país, en lugares habitados y en regiones que no habían tenido la influencia de cultivos, fumigaciones o tratamientos especiales que pueden alterar la flora microbiana. Las muestras fueron recogidas en frascos de vidrio ámbar y se mantuvieron en estos recipientes hasta el momento de ser estudiadas. Los lugares de procedencia de las muestras son los siguientes:

Bahía Solano, Departamento del Chocó
Saban de Bogotá, aproximadamente a 30 km al norte de la ciudad
Puerto Nariño, Comisaría del Amazonas
San Juan del Cesar, Departamento de la Guajira
Aguachica, Departamento del Cesar
Alrededores del Volcán Galeras, Departamento de Nariño
Cueva de los Guácharos, Departamento del Cauca
Lebrija, Departamento de Santander
Bucaramanga, Departamento de Santander
El Socorro, Departamento de Santander
Barbosa, Departamento de Santander
Tunja, Departamento de Boyacá

Microorganismos testigos

Para los ensayos de actividad se emplearon siete microorganismos testigos: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Sarcina lutea*, *Bacillus anthracis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella tifpy*.

La escogencia de los microorganismos testigos se hizo teniendo en cuenta su comportamiento frente

a la coloración de Gram, su morfología y además, que el cultivo y el mantenimiento de las cepas fueran relativamente sencillos.

Aislamiento de cepas de microorganismos productores de sustancias con actividad antimicrobiana.

El aislamiento de las cepas de microorganismos productores de sustancias con actividad antimicrobiana se hizo mediante el empleo de dos métodos: Inoculación directa de las muestras de tierra y Siembra densa en placas de agar inoculado (1).

Purificación de las cepas de microorganismos productores de sustancias con actividad antimicrobiana, aisladas de las muestras de tierra.

Para la purificación de las cepas aisladas se utilizaron dos métodos diferentes: Siembra en estrías en superficie y Siembra por diluciones (2,3).

Comprobación de la actividad antimicrobiana de las cepas de microorganismos aisladas.

La comprobación de la actividad antimicrobiana de las cepas de microorganismos aisladas de las muestras de tierra se realizó siguiendo el método de las estrías. El procedimiento empleado fue el siguiente: se prepararon cajas de Petri con agar nutritivo o con agar Sabouraud estéril y se inocularon con los microorganismos testigos, en una proporción aproximada del 4%. En cada caja se sembró uno de los microorganismos productores de sustancias con actividad antimicrobiana, aislados en los ensayos anteriores, haciendo una estría horizontal en el centro de la caja; las cajas se incubaron a 28°C ó a 37°C. Se efectuaron observaciones a las 24, 48 y 72 horas; luego se sacaron las cajas de la incubadora, se dejaron durante una semana a la temperatura ambiente y se observaron nuevamente.

Identificación preliminar de los microorganismos productores de sustancias con actividad antimicrobiana.

Para la identificación preliminar de los microorganismos aislados se tuvo como primera consideración la procedencia de los mismos, lo cual daba una primera orientación acerca de los géneros a que podían pertenecer, o sea aquellos característicos del suelo o generalmente contaminantes de él. El procedimiento utilizado comprende el estudio de las características morfológicas y fisiológicas de los microorganismos, y fue el siguiente: se comprobó la pureza del cultivo por medio de observación microscópica. Se efectuó la coloración de Gram y, en algunos casos, la de Ziehl-Nielsen y se apreciaron características morfológicas. Se realizaron las siguientes pruebas: requerimientos nutricionales, para ello se sembraron los microorganismos en medios simples y en medios enriquecidos; requerimiento de oxígeno para determinar si los microorganismos eran aerobios o anaerobios; movilidad de

los microorganismos; degradación de la glucosa y de la lactosa por los microorganismos; siembras en medios diferenciales; siembras en agar sangre con el fin de comprobar si los microorganismos causaban hemólisis; fermentación de azúcares: fructosa, sacarosa, manitol, glucosa, xilosa, arabinosa, maltosa, inositol y lactosa; pruebas de la catalasa, de la ureasa, del indol, del rojo de metilo, de la reducción de nitratos y de la leche tornasolada; crecimiento a 65°C; determinación de la temperatura óptima de crecimiento; empleo de sueros específicos (4, 5, 6, 7).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 12 muestras de tierra se aislaron 43 capas de microorganismos que presentaron buena actividad antimicrobiana. De los métodos empleados, presentó mayores ventajas el de siembra densa en placa de agar inoculado, pues permitió obtener colonias suficientemente separadas, lo cual facilitó su posterior purificación.

Para la comprobación de la actividad antimicrobiana de las cepas de microorganismos aislados de las muestras de tierra, se realizaron varios ensayos con cada una de ellas, en las condiciones previamente establecidas. Los resultados obtenidos nos permitieron comprobar que todas las cepas aisladas presentan actividad por lo menos frente a dos microorganismos testigos, y algunas frente a la casi totalidad.

En el desarrollo de los métodos empleados para la identificación preliminar de las cepas de microorganismos productores de sustancias con actividad antimicrobiana se obtuvieron los siguientes resultados: ocho cepas correspondieron a *Bacillus cereus*, seis a *Pseudomonas aeruginosa*, cuatro a *Actinomyces sp.*, cuatro a *Bacillus sp.*, tres a *Bacillus stearothermophilus*, tres a *Bacillus subtilis*, tres a *Bacillus megaterium*, dos a *Bacillus brevis*, dos a *Pseudomonas sp.*, dos a *Nocardia sp.*, dos a *Penicillium sp.*, dos a *Corynebacterium sp.*, una a *Bacillus firmus* y una a *Geotrichum sp.*

Las dos cepas correspondientes al género *Nocardia* presentaron una marcada actividad frente a casi todos los microorganismos testigos, lo cual confirma la importancia de este género desde el punto de vista de producción de sustancias con actividad antimicrobiana. Igual afirmación puede hacerse de las cepas de actinomycetes, las cuales mostraron muy buena actividad frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Los resultados obtenidos confirman, por otra parte, la actividad antimicrobiana de las sustancias producidas por el *Bacillus cereus*, el *Bacillus megaterium*, la *Pseudomonas aeruginosa* y el *Bacillus subtilis*. (8,9).

No se encontró información acerca de la actividad antimicrobiana de las sustancias producidas por algunos de los restantes microorganismos aislados. Sin embargo, todos ellos presentaron actividad frente a varios de los microorganismos testigos empleados.

AGRADECIMIENTOS

A María Ludivia Gómez, Myriam Lucía Rodríguez, Cecilia Olarte, Martha Contreras, María Constanza González, Lucy Amparo Solano, María Claudia Segura y Elsa Aguirre, quienes a través del desarrollo de sus tesis para optar al título de Químico-Farmacéutico hicieron posible la realización del presente trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. WAKSMAN, S., *Microbial Antagonisms and Antibiotics Substances*, The Commonwealth Fund, New York, 1974.
2. CERCOS, A.P., *Los Antibióticos y sus Aplicaciones Agropecuarias*, Salvat Editores S.A., Barcelona, 1967.
3. GIRARD, H., *Técnicas de Microbiología Agrícola*, Editorial Acribia, Zaragoza, 1964.
4. CARPENTER, J., *Microbiología*, Editorial Interamericana, México, 1974.
5. LENNETTE, E.H., SPAULDING, E.H. y TRUANT, J.P., *Manual of Clinical Microbiology*, American Society for Microbiology, Washington, 1974.
6. BUCHANAN, R.E. y Col., *Manual of Determinative Bacteriology*, Bergey's, Editorial Board, Baltimore, 1974.
7. MAC FADDIN, J.F., *Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica*, Editorial Panamericana, México, 1980.
8. KORZYBSKI, T., KOWSZYK, S. y Col., *Antibiotics*, Pergamon Press, 1967.
9. GLASBY, J.S., *Enciclopedia de Antibióticos*, Editorial AC., Madrid, 1978.