

## Artículo original

# Actividad antimicrobiana y sinérgica de metabolitos producidos por *Streptomyces erythrogriseus* M10-77 de origen marino

Juan Aponte Ubillus<sup>a</sup>, Jorge León Quispe<sup>a,\*</sup>, Rosario Rojas Durán<sup>b</sup>, Stephanie Montero Trujillo<sup>a</sup>,  
Liliana Loayza Salazar<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Ecología Microbiana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

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

Recibido 19 de enero de 2015; aceptado 22 de mayo de 2015

**Resumen:** Los metabolitos de un actinomiceto de origen marino, identificado como *Streptomyces erythrogriseus* cepa M10-77, fueron evaluados por su capacidad antimicrobiana y sinérgica con antibióticos convencionales. Las pruebas de antagonismo se realizaron frente a patógenos multidrogosresistentes (MDR) de origen clínico, siendo muy efectivos principalmente frente a especies patógenas de *Staphylococcus* y *Enterococcus*. Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de extractos diclorometánicos frente a los patógenos *S. aureus* 1094, *S. epidermidis* 1093 y *Staphylococcus* coagulasa negativo 348, siendo estos valores de 3,9; 15,7 y 1,9 µg/mL respectivamente. Los componentes del extracto diclorometánico fueron fraccionados parcialmente, obteniéndose hasta 4 fracciones orgánicas (I, II, III, IV), las que mostraron actividades inhibitorias de la cepa referencial *S. aureus* ATCC 43300. Los bioensayos frente a *S. aureus* meticilino resistente (MRSA) mostraron actividad sinérgica de la fracción II del extracto con antibióticos betalactámicos y aminoglucósidos, resaltando la repotenciación de la actividad de la bencilpenicilina en 128 veces el valor basal; así como de la gentamicina en 8 veces sobre el valor basal. *S. erythrogriseus* cepa M10-77 resultó ser un productor de metabolitos antibacterianos de alta potencia y con actividad sinérgica con antibióticos de referencia médica.

**Palabras clave:** actinomicetos marinos, drogorresistencia, moléculas bioactivas, sinergia, *Streptomyces*.

## Antimicrobial and synergetic activity of metabolites produced by marine origin *Streptomyces erythrogriseus* M10-77

**Abstract:** Metabolites of a marine actinomycete, identified as *Streptomyces erythrogriseus* M10-77 strain were evaluated for antimicrobial and synergistic activity with conventional antibiotics. Antagonism tests were conducted against multidrug resistant (MDR) pathogens of clinical origin, being very effective mainly against pathogenic *Staphylococcus* and *Enterococcus*. Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) of dichloromethane extracts were determined against pathogenic *S. aureus* 1094, *S. epidermidis* and coagulase-negative *Staphylococcus* 1093 348, these values being 3.9; 15.7 and 1.9 µg/mL respectively. The components of dichloromethane extracts were fractionated partially yielding four organic fractions (I, II, III, IV), which showed inhibitory activity against the reference strain *S. aureus* ATCC 43300. The bioassays against *S. aureus* methicillin-resistant (MRSA) produced synergistic activity of the extract fraction II with beta-lactams and aminoglycoside antibiotics, highlighting the upgrading of the activity of penicillin at 128 times above the baseline and gentamicin 8-fold above baseline. *S. erythrogriseus* M10-77 strain proved to be a producer of antibacterial metabolites with high power and synergistic activity with antibiotics of medical use.

**Keywords:** marine actinomycetes, multi-drug resistance, bioactive molecules, synergism, *Streptomyces*.

\* Correspondencia:

E-mail: jorgeleonq@yahoo.com

### Introducción

Los actinomicetos son bacterias saprófitas ambientales que forman estructuras filamentosas llamadas hifas y jue-

gan un rol muy importante en el ciclo natural de la materia orgánica y en especial en el metabolismo del carbón [1]. Estos microorganismos han sido asociados predominantemente con el hábitat terrestre; sin embargo, investigaciones

basadas en nuevas técnicas de cultivos y herramientas moleculares señalan, cada vez más, su presencia en ecosistemas marinos [2-4]. En los últimos años, nuevos métodos de cultivo permitieron el aislamiento de actinomicetos marinos que incluyen especies de los géneros *Dietzia*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Salinispora*, *Marinophilus*, *Solwaraspora*, *Salinibacterium* y *Verrucosipora* [5-7]. La literatura especializada señala diversidad de actinomicetos marinos con capacidad de producir nuevos y únicos compuestos bioactivos; sin embargo, el género que ha predominado es *Streptomyces* [7]. Las especies de *Streptomyces* son ampliamente reconocidas por su potencial biotecnológico, siendo los responsables de la producción de los dos tercios del total de las moléculas microbianas actualmente comercializadas en el mercado mundial [8]. Los estudios referidos a la producción antibiótica por *Streptomyces* comenzaron alrededor de 1940 y continúan en la actualidad [9,10], debido principalmente a la necesidad de encontrar nuevos fármacos eficaces contra bacterias multidrogasresistentes (MDR). La búsqueda de nuevos fármacos a partir de actinomicetos marinos adquiere vital importancia, especialmente teniendo en cuenta que este grupo podría tener la maquinaria genética y bioquímica para la producción de nuevos antibióticos. En el presente trabajo se evalúa el potencial antibacteriano y sinérgico de los metabolitos extracelulares que produce el actinomiceto marino identificado como *Streptomyces erythrogriseus* M10-77.

## Materiales y métodos

**Cepas testigo:** Las cepas patógenas MDR de origen clínico fueron obtenidas de un centro hospitalario de emergencias en Lima, Perú. Cepas gramnegativas: *Pseudomonas aeruginosa* 303, *Escherichia coli* 150, *Enterobacter aerogenes* 171, *Acinetobacter* spp. 134; cepas grampositivas: *Staphylococcus aureus* 1.094, *S. epidermidis* 1.093, *Staphylococcus coagulasa* negativo 348 y *Enterococcus* spp. 239.

Cepas referenciales fueron proporcionadas por el Dr. Jesús Tamariz (Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú): *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) ATCC 43300 y *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 (vancomicina resistente).

**Cultivo y mantenimiento de *S. erythrogriseus* M10-77:** La cepa en estudio fue aislada de una muestra de sedimento marino recogida a 150 m de profundidad en la Bahía de Independencia, Paracas, Ica, Perú. Alícuotas de la muestra fueron sembradas en Agar Marino (MA) e incubadas a 28 °C por un periodo de 2 semanas, formando colonias duras, blanco-grisáceas, con el reverso marrón oscuro y sin pigmento difusible en el medio (Figura 1). Una vez aislada, la cepa fue mantenida en MA suplementado con glicerol al 20% (v/v). La caracterización morfológica de *Streptomyces* M10-77 fue realizada por tinción Gram y siembra en medios ISP 3 (agar avena), ISP 4 (agar almidón-sal) e ISP 5 (agar glicerol-asparagina). Posteriormente, la identificación

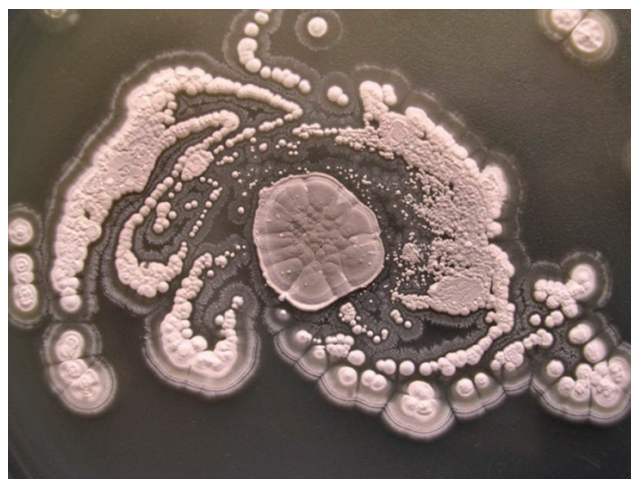


Figura 1. Colonias de *Streptomyces* cepa M10 77 en Agar Marino.

molecular fue llevada a cabo vía análisis filogenético del gen ARNr 16s detallado previamente por León y col. [11].

**Ensayos de actividad antagonista a cepas testigo:** La actividad antagonista de *S. erythrogriseus* M10-77 frente a las cepas testigo se evaluó por el método de “doble capa” [12]. Previamente, la cepa M10-77 fue cultivada en MA a una temperatura de 30 °C durante 7 días. A continuación, una segunda capa de agar tripticasa soya (TSA) conteniendo un cultivo de 18 h ( $10^6$  UFC/mL) de la cepa testigo fue adicionada sobre la primera capa de cultivo. Una vez solidificada la segunda capa de agar, las placas fueron incubadas por 24 horas a 37 °C. Pasado el tiempo, se realizaron las lecturas correspondientes observando y midiendo el tamaño de los halos de actividad antagonista. Las pruebas se hicieron por triplicado frente a cada cepa testigo.

**Fermentación:** La obtención de extractos orgánicos a partir de la cepa M10-77 se realizó según las recomendaciones de Adinarayana *et al.* [13]. Se generaron cultivos iniciadores en 50 mL de Caldo Marino (MB) suplementado con almidón al 1% (p/v) y glucosa al 0,5% (p/v) en matraces de 250 mL de capacidad. La incubación se hizo en agitación constante de 200 rpm, durante 48 h, a temperatura de 28 °C. A partir del cultivo iniciador se inocularon 5 mL a un matraz de 1.000 mL conteniendo 200 mL del mismo medio. Se incubó durante 6 días en las mismas condiciones descritas previamente. Después de la fermentación el cultivo se centrifugó (5.000 rpm, 25 min) y el sobrenadante se decantó en frascos estériles para su procesamiento.

**Extracción de metabolitos bioactivos:** El sobrenadante (200 mL) se sometió a extracción con solventes orgánicos de diferentes polaridades (diclorometano, acetato de etilo y butanol). Cada una de las fases orgánicas obtenidas se concentró a presión reducida usando un evaporador rotatorio (50 rpm, 40 °C). La actividad antibacteriana de los extractos orgánicos sólidos (uno por cada solvente) fueron evaluados por el método de difusión en pocillo [11].

**Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto activo:** Se realizó siguiendo la metodología de Karthy *et al.* [14] con algunas modificaciones. Se preparó una suspensión bacteriana de cepas testigo (0,5 escala de Mc Farland) a partir de cultivos en crecimiento exponencial. El extracto diclorometánico se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% para obtener una solución madre (2 mg/mL). Se preparó diluciones consecutivas (1:2) en microplacas de 96 pocillos a partir de la solución madre (0,05 mL por pocillo) con solución salina estéril. Se añadió caldo tripticasa soya (0,04 mL) de doble concentración (2X) y finalmente, 0,01 mL de la suspensión bacteriana. Se obtuvo un volumen final de 0,1 mL por pocillo. La microplaca se incubó a 37 °C por 18-24 h. Luego de este tiempo se adicionó 0,02 mL de 2,3,5-trifenil cloruro de tetrazolio (TTC; 5 mg/mL) a cada pocillo. El viraje de color amarillo a rojo se consideró como crecimiento microbiano. DMSO 5% y estreptomycin 100 µg/mL fueron los controles. De manera similar se determinó la CMI de algunos antibióticos de referencia. Todo el procedimiento se realizó por duplicado.

**Fraccionamiento parcial del extracto activo por cromatografía en columna:** Se sometió a fermentación el cultivo M10-77 hasta obtener 10 L de sobrenadante. El extracto se obtuvo según la metodología antes descrita. Los componentes del extracto se fraccionaron por cromatografía en capa fina (TLC) en columnas de vidrio de 2,5 x 35 cm. Se utilizó como solventes de arrastre el diclorometano y éter de petróleo (9:1). Las bandas en la TLC aparecieron en la mezcla diclorometano:metanol (95:5). Los compuestos aislados se agruparon en 4 fracciones con base en la polaridad. El peso seco de cada fracción se registró con el fin de determinar la proporción de cada componente. Se determinó la CMI de las fracciones. Para la prueba de actividad se utilizó *S. aureus* ATCC 43300.

**Bioensayo de sinergismo con antibióticos referenciales:** Se realizó un estudio comparativo del efecto de antibióticos convencionales suplementado con el extracto activo de *Streptomyces* M10 77 en concentraciones no bactericidas. Este bioensayo se realizó según las indicaciones de Fukumoto *et al.* [15]. Las fracciones se diluyeron a 1/4 de su valor de CMI, de modo que los extractos no ejercieran ninguna actividad bactericida en el ensayo. Betalactámicos (bencilpenicilina, ceftriaxona y cefotaxima) y aminoglucósidos (estreptomycin y gentamicina) fueron los antibióticos probados. Se determinó la CMI de cada antibiótico solo y suplementado con cada una de las fracciones diluidas. Para determinar la probable actividad sinérgica se calculó la Concentración Inhibitoria Fraccional (CIF), utilizando la siguiente ecuación:

$$CIF = \frac{CMI_{\text{Antibiótico+Fracción orgánica}}}{CMI_{\text{Antibiótico}}}$$

$$\text{Radio de potenciación} = \frac{1}{CIF}$$

Los parámetros indicadores de sinergismo fueron el radio de potenciación y el CIF

Una actividad sinérgica se puso de manifiesto si el valor de CIF era igual o inferior a 0,5 (equivalente a radio de potenciación  $\geq 2$ ). La cepa de prueba para este bioensayo fue *S. aureus* ATCC 43300. Los ensayos se realizaron por triplicado.

## Resultados

Los resultados de las pruebas del antagonismo por el método de “doble capa” se muestran en la tabla 1. Fue evidente una fuerte actividad antimicrobiana contra bacterias grampositivas, exhibiendo contra ellas halos de actividad superiores a 70 mm de diámetro (Figura 2). Si bien en el presente trabajo las evaluaciones se realizaron con cepas estándar y de origen clínico, se observa la marcada actividad frente a bacterias grampositivas y una mediana actividad frente a gramnegativas.

Una vez realizado el proceso fermentativo para

Tabla 1. Actividad inhibitoria de *Streptomyces* M10-77 frente a bacterias patógenas grampositivas y gramnegativas de origen hospitalario, evaluadas por el método de “doble capa”.

Cepas testigo MDR	Procedencia	Halos de inhibición* (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> 1094	Secreción bronquial	64± 0,15
<i>S. epidermidis</i> 1093	Orina	58±0,00
<i>Staphylococcus coagulasa</i> negativo 348	Secreción vaginal	70±0,18
<i>Enterococcus</i> sp. 239	Orina	72±0,20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 303	Aspirado traqueal	34±0,12
<i>Escherichia coli</i> 302	Secreción cutánea	19±0,16
<i>Acinetobacter</i> sp. 134	Secreción bronquial	19±0,14
<i>Enterobacter aerogenes</i> 171	Secreción faríngea	19±0,20
** <i>S. aureus</i> ATCC 43300	-	50±0,00
*** <i>E. faecalis</i> ATCC 51299	-	50±0,00

\*Halos de inhibición promedio  $\pm$  desviación estándar (n=3). \*\*Cepa referencial metilino resistente. \*\*\*Cepa referencial vancomicina resistente.

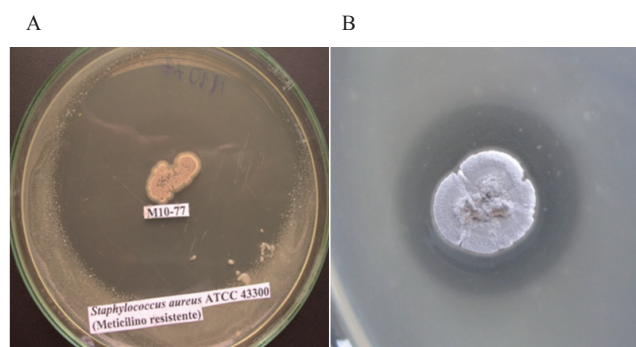


Figura 2. Actividad inhibitoria de *Streptomyces* cepa M10-77 contra *S. aureus* ATCC 43300 (A) y *E. coli* 302 (B) por la prueba de doble capa.

*Streptomyces* M10-77, el sobrenadante fue procesado con solventes químicos. De los tres solventes orgánicos ensayados, el extracto diclorometánico tuvo mayor rendimiento en la recuperación de compuestos bioactivos. Este hecho ratificó los resultados del *screening* de actividad en placa de la cepa *S. aureus* ATCC 43300. Los extractos de acetato de etilo y butanol mostraron poca o ninguna actividad contra las bacterias en prueba. Los ensayos posteriores se realizaron sólo a partir del extracto diclorometánico.

Los resultados de la CMI del extracto diclorometánico de *Streptomyces* M10 77 se puede observar en la tabla 2. Esta prueba cuantitativa refleja el efecto marcado hacia las bacterias grampositivas que se vio en los resultados previos del ensayo de “doble capa”.

El fraccionamiento parcial por cromatografía en columna del extracto permitió obtener 4 fracciones activas frente a *S. aureus* ATCC 43300. La placa resumen de la cromatografía en columna mostró cerca de una docena de compuestos presentes en el extracto activo (datos no mostrados). Los compuestos de mediana polaridad pudieron ser separados

Tabla 2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto diclorometánico de *Streptomyces* M10-77 frente a patógenos multidrogosresistentes (MDR) de origen hospitalario.

Cepas de origen clínico	CMI (µg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i> 1094	3,9
<i>S. epidermidis</i> 1093	15,7
<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i> 348	1,9
<i>Enterococcus</i> sp. 239	62,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 303	62,5
<i>Escherichia coli</i> 302	250
<i>Acinetobacter</i> sp. 134	62,5
<i>Enterobacter aerogenes</i> 171	250
Cepas referenciales	
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	7,9
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	31,7

de manera más eficiente y agrupados en las fracciones I – III. Por otro lado, el mayor conjunto de compuestos se agruparon en la fracción más polar (IV) que presenta alrededor de 6 compuestos. Si bien la fracción III fue la más abundante (200 mg) y la fracción II la menos abundante (20 mg), ésta última fue la única que mostró capacidad sinérgica con los antibióticos referenciales usados frente a la cepa testigo *S. aureus* ATCC 43300.

Los valores de CMI (µg/mL) obtenidos de las cuatro fracciones son comparables: I (15,8), II (125), III (31,3) y IV (31,3). Al observar los valores individuales y al contrastar con el del extracto total, se nota que los valores han disminuido, indicando que entre las fracciones existe cierta dependencia para magnificar el poder bactericida del extracto total.

Los resultados del ensayo de sinergia de la fracción II se muestran en la tabla 3. Los valores de concentración fraccionaria inhibitoria (CIF) con antibióticos betalactámicos y aminoglucósidos son menores de 0,5 para los casos ensayados.

Tabla 3. Actividad sinérgica de la fracción II del extracto activo de *Streptomyces* M10-77 con antibióticos estándar. Cepa testigo: *S. aureus* ATCC 43300.

	Ab	Ab + FII	CIF
Betalactámicos			
Bencil penicilina	3,9	<0,03	0,008
Cefotaxima	3,9	0,12	0,031
Ceftriaxona	7,9	0,24	0,031
Aminoglucósidos			
Estreptomina	15,8	3,9	0,250
Gentamicina	>2000	250	0,125

Ab: efecto del antibiótico solo. Ab + FII: Antibiótico más Fracción II (1/4 CMI). CIF: Concentración Inhibitoria Fraccional.

## Discusión

La cepa de *S. erythrogriseus* M10-77 es una especie marina con potencial para la producción de diversos metabolitos secundarios. Dalisay *et al.* reportaron el aislamiento de 47 cepas de *Streptomyces* marinas productoras de metabolitos activos [16]. El análisis químico realizado sobre los metabolitos aislados permitió la identificación parcial de análogos de novobiocina con marcada actividad frente a MRSA. En China, el cultivo y aislamiento biodirigido de moléculas antibacterianas provenientes de una cepa marina de *Streptomyces antibioticus* permitió la identificación de cuatro nuevas moléculas provenientes de la familia de las Indamicinas [17]. Así también, otros estudios en diversas regiones geográficas reportaron la producción de nuevos compuestos activos del tipo alcaloides y nucleósidos a partir de *Streptomyces* marinos [18,19]. En conjunto, estos estudios son una muestra de la riqueza de metabolitos

secundarios producidos por este grupo microbiano. Estudios posteriores orientados a la ecología de este grupo microbiano podrían realizarse con el objetivo de conocer si esta cepa pertenece al grupo de actinomicetos del clado filogenético MAR, que presentan requerimientos marinos obligados [20]. Así, trabajos similares confirmaron que una cepa del género *Micromonospora* tenía al sodio y al magnesio como elementos limitantes para la producción de antibióticos [21].

En el screening se observa una marcada actividad frente a bacterias grampositivas y sensiblemente menor frente a gramnegativas. Esta diferencia podría deberse, bien a la selección adaptativa de *Streptomyces*, que conlleva a la producción de antibióticos frente a microorganismos ecológica y filogenéticamente relacionados [9], o bien a que las bacterias gramnegativas poseen mecanismos de resistencia eficaces que neutralizan la acción de los antibacterianos producidos por actinomicetos. Haste *et al.* muestra la producción de etamicina por la cepa de actinomiceto marino CNS-575, y a partir de sus resultados concluye que la actividad del antibiótico purificado es muy potente frente a cepas de *S. aureus*, y reducida frente a cepas como *P. aeruginosa* o *Salmonella* spp [22].

Una revisión de la literatura [17,22,23] señala que los medios de enriquecimiento para actinomicetos pueden variar en cuanto a su composición; sin embargo, el caldo marino, que contiene una fuente carbonada, cloruro de sodio, sales minerales propias del agua de mar, más adición de asparagina, arginina o fenilalanina permite un rendimiento óptimo de producción de biomasa y sus metabolitos. Para la extracción de los metabolitos, los autores mencionados utilizaron acetato de etilo, sin embargo en este trabajo el diclorometano fue el solvente de mayor rendimiento. Teniendo en cuenta el rendimiento mostrado por el extracto crudo de M10-77, podemos afirmar que los compuestos activos generados presentan una potencial aplicación para el desarrollo de nuevos antibióticos, necesiéndose estudios futuros para verificar este potencial.

El análisis preliminar de TLC y el fraccionamiento parcial señalan que varios son los compuestos bioactivos responsables de la actividad antibacteriana. Estudios de genomas de *Streptomyces coelicolor* y *Streptomyces avermitilis* indican que poseen múltiples grupos genéticos vinculados con la producción de antibióticos asociados, tanto a plásmidos como a cromosomas [24]. Esto verifica que las cepas de *Streptomyces* tienen la capacidad de producir varios antibióticos de manera constitutiva o inducida.

En los últimos años hay una tendencia a estudiar metabolitos que actúan en sinergia con antibióticos de referencia. Uno de los ampliamente conocidos es el ácido clavulánico, producido por *Streptomyces clavigerus* [25]. Se trata de un inhibidor de betalactamasas, usado con frecuencia junto a amoxicilina, un derivado de la penicilina [26]. Diferentes estudios muestran la acción de nuevas drogas, eficaces sobre MRSA y de su posible acción sinérgica con otros antibióticos. Así, Mainardi muestra las principales combinaciones de antibióticos que

combaten de manera efectiva las infecciones por *S. aureus*, señalando que, por lo general, las combinaciones sinérgicas de glucopéptidos y betalactámicos presentan una acción bacteriostática y bactericida frente a MRSA [27]. A pesar de esta referencia sobre familias de antibióticos, existen compuestos naturales y drogas no antibióticas que pueden generar sinergismo con antibióticos conocidos [28,29]. Fukumoto *et al.*, reportan el hallazgo del cyslabdan, un diterpeno con gran efecto potenciador de los carbapenemas producido por *Streptomyces* sp. K04-0144 [15]. Por otro lado, Shin *et al.* reportaron el hallazgo del 1 acetil beta carbolina, un alcaloide con capacidad potenciadora de beta lactámicos, producida por una cepa de *Streptomyces* de origen marino [30].

La bibliografía consultada indica que los estudios de las moléculas sinérgicas producidas por actinomicetos están relacionadas con inhibidores de mecanismos de resistencia (ácido clavulánico), compuestos complementarios que tienen un mecanismo de acción similar (estreptograminas) o también de compuestos con mecanismos de acción y sitios blanco diferentes [5]. Estos datos permiten evidenciar la enorme diversidad metabólica de los actinomicetos. En este sentido, en nuestro caso se podría pensar que la sinergia de la fracción II con los aminoglucósidos y betalactámicos sería explicado presuntivamente por la presencia de algún compuesto capaz de inhibir la síntesis de pared celular o que permita una mejor permeabilización del antibiótico referencial. Vakulenko y Mobashery evidenciaron este hecho en sus trabajos experimentales de sinergia con aminoglucósidos [31]. Taddei *et al.* concluyeron que dos cepas de la misma especie de *Streptomyces* pueden producir diferentes compuestos independientemente de su fuente de aislamiento [32]; por lo que M10-77 podría constituir una variante de *S. erythrogriseus* con una diversidad metabólica aun no explorada. El presente trabajo representa un aporte preliminar del descubrimiento de nuevos metabolitos secundarios, por lo que ninguna afirmación acerca de la naturaleza de los compuestos activos encontrados puede aceptarse en su totalidad hasta que no se obtengan las moléculas purificadas y se realicen los estudios experimentales para conocer el mecanismo de acción y eficacia clínica de los mismos.

## Conclusión

Los resultados del presente trabajo señalan que *S. erythrogriseus* cepa M10-77 tiene una fuerte actividad inhibitoria de amplio espectro frente a patógenos drogorresistentes de origen clínico. Las pruebas preliminares de caracterización de sus metabolitos secundarios señalan que son varios los compuestos involucrados en la respuesta inhibitoria; además, tales compuestos tendrían actividad sinérgica cuando actúan en conjunto o junto a antibióticos betalactámicos y aminoglucósidos.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Vicerrectorado de Investigación (VRI) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú, por el financiamiento parcial de este estudio a través del Fondo de Fomento de Tesis de Grado de la Facultad de Ciencias Biológicas.

## Conflictos de interés

Los autores manifiestan no tener conflictos de intereses.

## Referencias

- Hopwood D. Practical Streptomyces Genetics. 2da edition. Norwich, England: John Innes Foundation. 2000. ISBN 0-7084-0623-8.
- Helmke E, Weyland H. *Rhodococcus marinonascens* sp. nov., an actinomycete from the sea. Int J Syst Bacteriol. 1984; 34:127-38.
- Moran MA, Rutherford LT, Hodson RE. Evidence for indigenous *Streptomyces* populations in a marine environment determined with a 16S rRNA probe. Appl Environ Microbiol. 1995; 61:3695-700.
- Jensen PR, Dwight R, Fenical W. Distribution of actinomycetes in near-shore tropical marine sediments. Appl Environ Microbiol. 1991; 57:1102-08.
- Challis G, Hopwood D. Synergy and contingency as driving forces for the evolution of multiple secondary metabolite production by *Streptomyces* species. PNAS. 2003; 100: 1455-61
- Stach JE, Maldonado LA, Ward AC, Bull A, Goodfellow M. *Williamsia maris* sp. nov., a novel actinomycete isolated from the Sea of Japan. Int J Syst Evol Microbiol. 2004; 54:191-4.
- Jensen PR, Mincer TJ, Williams PG, Fenical W. Marine actinomycete diversity and natural product discovery. Antonie Van Leeuwenhoek. 2005; 87:43-8.
- Podust L, Bach H, Kim Y, Lamb D, Arase M, Sherman D. Comparison of the 1.85 Å structure of CYP154A1 from *Streptomyces coelicolor* A3(2) with the closely related CYP154C1 and CYPs from antibiotic biosynthetic pathways. Protein Science. 2004; 13:255-68.
- Waksman S, Woodruff B. *Actinomyces antibioticus*, a new soil organism antagonistic to pathogenic and non-pathogenic bacteria. J Bacteriol. 1941; 42:231-49.
- Waksman S, Lechevalier H. Neomycin, a new antibiotic against streptomycin resistant bacteria, including tuberculosis organisms. Science. 1949; 109:305-7.
- León J, Aponte J, Rojas R, Cuadra D, Ayala N, Tomás G, Guerrero M. Estudio de actinomicetos marinos con capacidad antimicrobiana frente a cepas *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (MRSA) y *Enterococcus* - vancomicina resistentes (VRE). Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2011; 28:237-46.
- León J, Liza L, Soto I, Cuadra D, Patiño L, Zerpa R. Actinomycetes bioactivos de sedimento marinos de la costa central del Perú. Rev Per Biol. 2007; 14:259-70.
- Adinarayana G, Venkatesan M, Saisha V, Bapiraju K, Sujatha P, Prenkumar J. Resistoflavine, cytotoxic compound from a marine actinomycete, *Streptomyces chibaensis* AUBN1/7. Microbiol Res. 2007; 162:322-7.
- Karthy E, Ranjitha P, Mohankumar A. Antimicrobial potential of plant seed extracts against multidrug resistant methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MDR-MRSA). Int Jour Biol. 2009; 1: 34-40.
- Fukumoto A, Kim Y, Matsumoto A, Takahashi Y, Shiome K, 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.
- Dalisay DS, Williams DE, Wang XL, Centko R, Chen J, Andersen J. Marine sediment-derived *Streptomyces* bacteria from British Columbia, Canada are a promising microbiota resource for the discovery of antimicrobial natural products. PLoS ONE. 2013; 8(10): e77078
- Lian XY, Zhang Z. Indanomycin-related antibiotics from marine *Streptomyces antibioticus* PTZ0016. Nat Prod Res. 2013; 27:2161-7.
- Jiao W, Zhang F, Zhao X, Hu J, Suh J-W. A Novel alkaloid from marine-derived actinomycete *Streptomyces xinghaiensis* with broad-spectrum antibacterial and cytotoxic activities. PLoS ONE. 2013; 8(10): e75994.
- Bu YY, Yamazaki H, Ukai K, Namikoshi M. Antimycobacterial nucleoside antibiotics from a marine-derived *Streptomyces* sp. TPU1236A. Mar Drugs. 2014; 12:6102-12.
- Mincer TJ, Jensen P, Kauffman CA, Fenical W. Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. Appl Environ Microbiol. 2002; 68:5005-11.
- Imada C, Koseki N, Kamata N, 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
- Haste N, Pereda V, Maloney K, Tran D, Jensen P, Fenical W. Activity of the streptogramin antibiotic etamycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Antibiot. 2010; 63:219-24.
- Sujatha P, Bapi Raju K, Ramana T. Studies on a new marine streptomycete BT 408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Microbiol Res. 2005; 160:119-26.
- Hsiao N, Kirby R. Comparative genomics of *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces cattleya*, *Streptomyces maritimus* and *Kitasatospora aureofaciens* using a *Streptomyces coelicolor* microarray system. Antonie Van Leeuwenhoek. 2008; 93:1-2.
- Brown AG, Butterworth D, Cole M, Hanscomb G, Hood JD, Reading C, Roinson GN. Naturally occurring

- $\beta$ -lactamase inhibitors with antibacterial activity. J Antibiot. 1976; 29: 668-9.
26. Gil M. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Rev Chil Infect. 2000; 17: 145-52.
  27. Mainardi J. Associations d'antibiotiques pour le traitement des infections a *Staphylococcus aureus*. Med Mal Infect. 1997; 27 Especial: 217-24.
  28. Ejim L, Farha M, Falconer S, Wildenhain J, Coombes B, Tyers M. Combinations of antibiotics and nonantibiotic drugs enhance antimicrobial efficacy. Nat Chem Biol. 2011; 7:348-50.
  29. Hemaiswarya S, Doble M. Potential synergism of natural products in the treatment of cancer. Phytoter. Res. 2006; 20:239-49.
  30. Shin H, Lee H, Lee D. The synergistic antibacterial activity of 1-acetyl- $\beta$ -carboline and lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). J Microbiol Biotechnol. 2010; 20:501-5.
  31. Vakulenko S, Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. Clin Microbiol Rev. 2003; 16:430-50.
  32. Taddei A, Valderrama M, Giarrizzo J, Rey M, Castelli C. Chemical screening: A simple approach to visualizing *Streptomyces* diversity for drug discovery and further research. Res Microbiol. 2006; 157:291-7.