

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIBACTERIANA Y/O SANITIZANTE DE EXTRACTOS
DE PLANTAS DE *Sambucus spp* Y *Salvia spp* FRENTE A *Acinetobacter baumannii* y
*Pseudomonas aeruginosa***

ANDERSON ROMAN NASAMUEZ NARVAEZ

Director (a)
Adriana Maria Del Socorro Correa
Bacterióloga MSc, PhD
Director (a)
Jorge Enrique Hernandez Carvajal
Químico, MSc en ciencias farmacéuticas

Universidad Santiago de Cali
Facultad de Ciencias Básicas
Programa de Microbiología
Cali, Colombia
2022

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIBACTERIANA Y/O SANITIZANTE DE EXTRACTOS DE PLANTAS DE *Sambucus spp* Y *Salvia spp* FRENTE A *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIBACTERIANA Y/O SANITIZANTE DE LOS EXTRACTOS DE PLANTAS DE *Sambucus spp* Y *Salvia spp* FRENTE A *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*

ANDERSON ROMAN NASAMUEZ NARVAEZ

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de: Microbiólogo

Director (a)

**Adriana María Del Socorro Correa
Bacterióloga MSc, PhD**

Director (a)

**Jorge Enrique Hernandez Carvajal
Químico, MSc en ciencias farmacéuticas**

**Línea de Investigación:
Microbiología Clínica**

**Grupo de Investigación:
Microbiología, Industria y Ambiente (GIMIA)**

**Universidad Santiago de Cali
Facultad de Ciencias Básicas
Programa de Microbiología
Cali, Colombia
2021**

IMPACTOS

Relacione el (los) impacto(s) que presentó el Trabajo de Grado

IMPACTO	PRODUCTO	BENEFICIARIO(S)
Económico		
Responsabilidad social	Documento de trabajo	Comunidad indígena.
Científico	Documento de trabajo	Comunidad científica
Indicadores de Gestión		
Tecnológico		
Técnico		
Ambiental		
Social		
Cultural		

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIBACTERIANA Y/O SANITIZANTE DE LOS
EXTRACTOS DE PLANTAS DE *Sambucus spp* Y *Salvia spp* FRENTE A *Acinetobacter
baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*

**Anderson Roman Nasamuez Narvaez¹, Kriss Dayana Pantoja Pulido¹, Jorge Enrique
Hernandez Carvajal¹, Adriana Maria Del Socorro Correa².**

¹ grupo de Investigación en Microbiología, Industria y Ambiente (GIMIA). Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Santiago de Cali. Campus Pampalinda Calle 5 # 62-00. Santiago de Cali. Colombia

RESUMEN

Los extractos obtenidos de las diferentes plantas han mostrado ser una alternativa para obtener nuevos compuestos con capacidad antibacteriana o sanitizante, que podrían ser usados como tratamiento de diferentes enfermedades provocadas por bacterias, sustituyendo ciertos antibióticos conocidos, implementados frente a algunos microorganismos multi-drogo resistentes que afectan a la población. El propósito de este trabajo es evaluar el potencial antibacteriano de los extractos naturales de *Sambucus spp* y *Salvia spp*, plantas empleadas tradicionalmente por comunidades nativas, frente *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*. Para ello se realizó la recolección de las plantas en Villagarzón – Putumayo, las cuales fueron sometidas a procesos de extracción por ultrasonico y por Soxhlet, con posterior medición de la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar. No se encontró actividad antimicrobiana con los extractos evaluados frente a ninguna de las bacterias analizadas.

Palabras clave: *Sambucus spp.*, *Salvia spp.*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, extractos de plantas medicinales, multi-drogo resistente.

ASSESSMENT OF THE ANTIBACTERIAL AND/OR SANITIZING CAPACITY OF ELDER AND
Salvia spp PLANT EXTRACTS AGAINST *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas
aeruginosa*

ABSTRACT

The extracts obtained from the different plants have shown to be an alternative to obtain new compounds with antibacterial or sanitizing capacity, which could be used as a treatment for different diseases caused by bacteria, substituting certain known antibiotics, implemented against some multi-drug resistant microorganisms that affect the population. The purpose of this work is to evaluate the antibacterial potential of natural extracts from *Sambucus spp* and *Salvia spp*, plants traditionally used by native communities, against *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. For this, the plants were collected in Villagarzón - Putumayo, which were subjected to ultrasonic and Soxhlet extraction processes, with subsequent measurement of antimicrobial activity by the agar diffusion method. No antimicrobial activity was found with the extracts evaluated against any of the bacteria analyzed.

Keywords: *Sambucus spp*, *Salvia spp*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, medicinal plant extracts, multi-drug resistant.

1. INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional heredada por comunidades nativas del mundo y de nuestro país ha aportado remedios naturales obtenidos de las plantas, las cuales “esconden un poder curativo” y este ha sido transmitido por generaciones en nuestras comunidades. En la antigüedad se empleaban plantas para el tratamiento de diferentes enfermedades e infecciones, en la actualidad, estos se siguen empleando, sin embargo, con el tiempo se han perfeccionado los métodos de extracción e implementación de estos remedios naturales. Estudios señalan extractos de plantas con una actividad antibacteriana, la cual abre la posibilidad hacia una alternativa de obtención de nuevos compuestos con capacidad antibacteriana o sanitizante, que podrían ser usados como tratamiento natural y efectivo de enfermedades infecciosas, reemplazando a algunos antibióticos conocidos, los cuales al transcurso del tiempo han perdido eficiencia frente a ciertos microorganismos multidrogo resistentes (MDR) que afectan a la población [1]. La OMS en un comunicado de prensa El 27 de febrero de 2017 en Ginebra [2], dio a conocer una lista de patógenos prioritarios resistentes a diferentes antibióticos, entre estos se encuentran *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* MDR,[2] y las cuales han demostrado tener una alta tasa de diseminación [3].

En el caso de *A. baumannii* es un cocobacilo Gram-negativo que pertenece al filo *Proteobacteria*, aerobio estricto, e inmóvil. [4]. El estudio de *A. baumannii* del cual se estimó que más de un millón de infecciones son causadas por este microorganismo y un 50% de estos son resistentes a carbapenémicos [5], por otro lado, esta bacteria puede presentar resistencia a diferentes tipos de antibióticos, estando presente en cualquier parte del mundo. Entre marzo de 2009 y 2010 en Cali, Colombia, en la unidad de cuidados intensivos (UCI) se analizaron 52 aislados, del cual un 63.6% de los aislados corresponden a *A. baumannii* [6]. Otro estudio realizado entre los años de 2012 a 2017 donde se recibieron 279 muestras de las cuales el 13.6% corresponde a *A. baumannii* con una resistencia a diferentes tipos carbapenemasas tipo OXA. [7]

Por otra parte, *Pseudomonas aeruginosa*, un bacilo Gram negativo móvil distribuido en el ambiente, se presenta con altas tasas de resistencia a los carbapenémicos [8]. generada en un 80% por plásmidos exógenos, los cuales contienen genes de resistencia frente a diferentes familias de antibióticos, ya que esta bacteria puede almacenar varios plásmidos [9]. Los mecanismos de resistencia a antibióticos son conocidos, dentro de estos se destacan: bombas de flujo, alteraciones en la permeabilidad y modificación del sitio blanco, entre otras [10]. Colombia no es ajena a esta problemática. En el estudio realizado entre los años de 2012 a 2017 se recibieron 279 muestras de las cuales el 34.7% corresponden a *Pseudomonas con* una resistencia a diferentes tipos carbapenemasas VIM. [7]

La problemática de la MDR de estos microorganismos, evidencia la necesidad de alternativas para su control, presentándose como alternativa los metabolitos extraídos de plantas [11]. De acuerdo con el informe 2017 del Real Jardín Botánico de Kew (“Royal Botanic Gardens, Kew”)[12] más de 28 mil plantas son utilizadas con propósitos medicinales, algunas de estas plantas podrían ser usadas para enfrentar la crisis de resistencia antimicrobiana a múltiples antibióticos.

Estudios experimentales con bacterias gramnegativas. *E. coli* y *P. aeruginosa* obtenidas del Laboratorio Referencial de la Dirección Regional de Salud de Amazonas en el cual se emplearon 24 extractos vegetales de *Passiflora ligularis* ‘granadilla’, *Sambucus spp* peruvianus ‘*Sambucus spp*’, *Desmodium molliculum* ‘pie de perro’, *Urtica dioica* ‘ortiga’, *Malva silvestris*

'malva' y *Lomatia ligularis* 'palpar', para realizar el tamizaje fitoquímico, del cual se obtuvieron 18 extractos acuosos y 18 extractos alcohólicos para determinar el efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano. Los resultados obtenidos mostraron que el efecto inhibitorio por *Sambucus* spp fue de un 46.7%, *Pasiflora ligularis* en un 13.3%, malva silvestre en un 33.3% y *lomatia ligularis* en un 40% con respecto a Gentamicina empleada como control, la cual inhibió en un 100% el crecimiento bacteriano. En los extractos obtenidos se encontraron compuestos como: esteroides, flavonoides, cardiotónicos, taninos y antocianinas.[13]

Por otro, la universidad técnica de Pereira realizó el estudio de 24 tipos de especies de plantas de la región cafetera de Colombia, las plantas se recolectaron de los departamento de Risaralda, Caldas y Quindío, y se probaron con bacterias entre la cuales se encontraban *A. baumannii* y *P. aeruginosa*, de estas 34 plantas solo 17 extractos tuvieron un efecto inhibitorio, estos fueron procedentes de especies de plantas como: *Alchornea*, *Mabea montana*, *S. trachypipum*, *Peperomia acuminata*, entre otras más.(del Pilar Rodríguez et al., 2021) evidenciando que estas pueden ser empleadas e investigadas para el desarrollo de nuevos métodos de control ya sea como antibiótico, bactericida, bacteriostático y/o sanitizante. Frente a diferentes microorganismos MDR.

Otros estudios han demostrado que ciertos compuestos taninos y no taninos de algunas plantas, tienen efecto inhibitorio en el crecimiento de *A. baumannii* resistentes a múltiples fármacos, extractos de plantas como *Magnolia officinalis*, *Mahonia bealei*, *Rabdosia rubescens*, *Rosa rugosa*, *Rubus chingii*, *Scutellaria baicalensis* y *Terminalia chebula*. El extracto de estas inhibió en un 40% el crecimiento de esta bacteria, por lo cual no es difícil creer que esta sea una alternativa eficaz para el control de cepas resistentes. [14]

Especialmente en las comunidades nativas en el departamento del Putumayo, Colombia, la *Salvia* spp y el *Sambucus* spp son utilizados constantemente para el uso medicinal y estudios previos muestran que extractos derivados de *Salvia* spp [15] y *Sambucus* spp [18] poseen propiedades antibacterianas, que actúan contra bacterias Gram positivas y Gram negativas.

De acuerdo a lo expuesto previamente, el objetivo del presente proyecto fue evaluar la capacidad antibacteriana y/o sanitizante de los extractos de plantas de las especies nativas *Sambucus* spp y *Salvia* spp frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* en el departamento del Putumayo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio investigativo se realizó con el fin de evaluar dos especies de plantas empleadas por la comunidad residente de villagarzón putumayo y la comunidades nativas que también residen en este municipio, para este estudio se utilizaron hojas de la planta *Sambucus* spp y *Salvia* spp.

2.1 Recolección de las plantas: Las plantas fueron recolectadas en Villagarzón – Putumayo, durante los meses de enero hasta marzo, considerados épocas de lluvia. Para su recolección se tuvieron en cuenta las características fenotípicas de las hojas de acuerdo a la descripción y conocimiento de los residentes y del municipio de Villagarzón, La recolección fue realizada de jardines de casas ya que la especie se prolifera muy rápido en cualquier suelo. Una vez recolectadas las plantas fueron almacenadas en bolsas sellables y transportadas a la ciudad de Cali para su procesamiento.

Las plantas, ya en el laboratorio de la Universidad Santiago de Cali, fueron separadas las hojas de los tallos y secadas en un horno a una temperatura de 40°C por un tiempo de aproximadamente 4 días en bandejas de aluminio, en un horno a una temperatura de 40°C para un secado controlado, evitando así alterar o dañar sus componentes. Durante el secado se las hojas se cambiaron de posición, entre una vez o dos veces al día para obtener un secado uniforme en todas las hojas.

2.2 Preparación de los extractos:

Después del secado, la hoja se trituró en una licuadora de forma intermitente, hasta reducir el tamaño de la hoja en partículas de menor tamaño de entre 0.1mm a 0.3mm sin convertir las hojas totalmente en polvo. Teniendo las hojas trituradas se pasó a la extracción por dos métodos: Ultrasonido y Soxhlet, con diferentes tipos de solventes como hexano, Cloroformo, etanol, metanol y agua, los cuales presenta diferente polaridad, para así obtener compuestos de alta, mediana y baja polaridad.

2.2.1 Ultrasonido:

Esta metodología se realizó una extracción en dos partes con dos tipos de solventes, el primero fue hexano y una segunda extracción con una mezcla de solventes de cloroformo:acetona:agua (2:1:1).

En la primera parte se realizó un desengrase de la hoja con hexano obteniendo compuestos apolares, para esto se pesó un total de 20.05 de la hoja triturada de sauco y depositó Becker, para seguido a esto añadir el solvente (hexano) en una cantidad que cubriera 3 cm por encima hoja (marco) en este caso se necesitaron 400 ml de hexano. Se llevó a ultrasonido por 15 minutos, terminado el tiempo, se filtró con papel filtro Whatman No. 1 y se repitió el proceso dos veces más (Figura 5) añadiendo nuevo solvente en misma proporción inicial (400 ml de hexano). Las hojas (Marco) resultante de este proceso se secaron a temperatura ambiente



para realizar su segunda parte con la mezcla de solventes (Figura 5).

Figura 5. Extracción por ultrasonido con solvente hexano.

En la segunda parte se tomó la hoja triturada resultante de la primera extracción (Marcó) por ultrasonido con hexano. Se realizó la mezcla de cloroformo:metanol:agua en proporciones (2:1:1) en la cual se mezcló 300 ml de cloroformo, 150ml de acetona y 150ml de agua, para la conformación del solvente a emplear. Se adiciona al marco (Figura 6) y se llevó a ultrasonido por 15 min, terminado el tiempo se filtró, este proceso se repitió un total de 3 veces. Obteniendo así una solución de diferentes densidades, posterior a esto se realizó la separación de las diferentes fases por decantación (Figura 7).



Figura 6. Ultrasonido, marco más mezcla de solventes (cloroformo:acetona:agua).

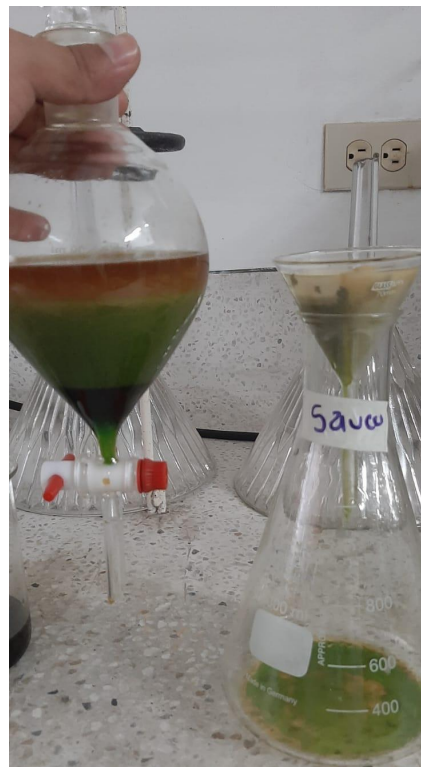


Figura 7. Separación de las diferentes fases observadas por decantación.

Los extractos obtenidos de Hexano, Cloroformo y Agua, se llevaron a un rota evaporador para evaporar el solvente y concentrar el extracto, para así permitirnos preparar soluciones a ciertas concentraciones necesarias para los análisis microbiológicos.

Continuando con el proceso de concentración de los extractos, el extracto acuoso obtenido de la segunda parte de la mezcla de tres solventes se liofilizó en un equipo Labconco FreeZone® en la Universidad Santiago de Cali.

Terminando esta primera fase de extracción por ultrasonido, se procedió a realizar la extracción por un segundo método, en este caso por Soxhlet.

2.2.2 Soxhlet: La extracción por Soxhlet se realizó implementado dos diferentes disolventes: acetato de etilo y etanol, obteniendo dos tipos de aceites diferentes. En este proceso se realizó el empaquetado y amarrado del Marco en filtros para café, después de su empaquetado, se ingresaron el equipo de soxhlet y se realizó el montaje del equipo (Figura 8) las temperaturas empleadas para este proceso fueron las estipuladas por el punto de ebullición de los disolventes, en este caso Acetato de etilo de 77°C y Etanol 78°C. Finalmente los extractos obtenidos se concentraron en rota evaporador (Figura 9), para preparación de soluciones a concentraciones necesarias para análisis microbiológicos.



Figura 8. Montaje del equipo soxhlet



Figura 9. Concentración de extracto en Rotaevaporador.

Todos los extractos obtenidos se almacenaron en frascos, rotulados y guardados en nevera, sin luz directa que pueda alterar los compuestos (Figura 10) hasta su uso en los diferentes ensayos.



Figura 10. Extractos rotulados y almacenados.

2.3 Evaluación microbiológica de los extractos:

La evaluación para la determinación de la capacidad inhibitoria, se realizó una prueba previa por el método Kirby-Bauer, para lo cual se prepararon las soluciones de los extractos en sus concentraciones más altas, diluyendo 0,5 g del extracto en 300 μ L de dimetilsulfóxido (DMSO), para posteriormente agregar 700 μ L de agua obteniendo una concentración de 0,5 g/mL (500mg/mL), de cada una de las soluciones preparadas, finalmente se inocularon discos en blanco con 20 μ L, obteniendo una concentración de 5000 μ g en cada sensidisco, partiendo de este experimento, para evidenciar una posible actividad inhibitoria. Asimismo según los datos obtenidos de esta prueba previa, continuar con ensayos de dilución en microplaca para determinar la concentración inhibitoria mínima (MIC).

El esquema que se implementó para la colocación de los sensidiscos se presenta en la (figura 2).

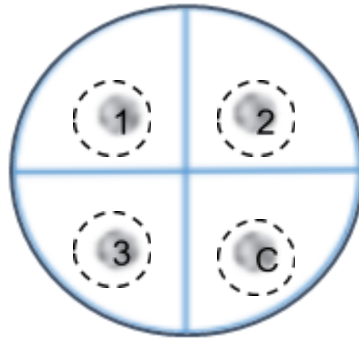


Figura 2. Esquema de posición de los sensidiscos, discos 1, 2 y 3 son impregnados con 20 microlitros (μ) del extracto, disco © se impregnó con 20 μ L del solvente empleado en los extractos como control..

3. RESULTADOS

3.1 Recolección de las plantas: Se recolectaron aproximadamente 3 kilos de cada una de las plantas. La planta conocida como *Salvia spp* blanca (Figura 2) se presenta en hojas grandes dentadas, con un tallo grueso que presenta un centro blanco, se encuentra en la región fría y tropical del Putumayo. La planta llamada *Sambucus spp* (Figura 3) presenta una hoja un borde aserrado, su tallo es verde al final de sus ramas presenta flores pequeñas y blancas, se encuentra en la región tropical del Putumayo.



Figura 2. Especie: *Sambucus spp*
Procedencia: Villagarzón - Putumayo



Figura 3. Especie: *Salvia spp* blanca
Procedencia: Villagarzón - Putumayo



Figura 4. Ejemplares para identificación de especie en herbario.

3.2 Extractos Obtenidos: Los extractos obtenidos por ultrasonido con diferentes solventes empleados se presentan en la tabla 1 (*Sambucus spp*) y tabla 2 (*Salvia spp*). En la tabla 3 (*Sambucus spp*) y tabla 4 (*Salvia spp*) se encuentran los compuestos obtenidos por Soxhlet, cada tabla muestra la gráfica de rendimiento de los extractos obtenidos en relación a peso de la hoja seca triturada, Gráfica 1 (*Sambucus spp*) y Gráfica 2 (*Salvia spp*) rendimiento por ultrasonido y Gráfica 3 (*Sambucus spp*) y Gráfica 4 (*Salvia spp*) rendimiento por Soxhlet.

Solvente	Sambucus (ultrasonido)		
	Peso hoja seca (g)	Peso neto extracto (g)	% rendimiento
Hexano	20,05	0,31	2%
Cloroformo	20,05	0,72	4%
Agua	20,05	3,44	17%

Tabla 1. Extractos obtenidos a partir de *Sambucus spp* por ultrasonido.

Solvente	Salvia (ultrasonido)		
	Peso hoja seca (g)	Peso neto extracto (g)	% rendimiento
Hexano	20,2	0,57	3%
Cloroformo	20,2	2,04	10%
Agua	20,2	2,6	13%

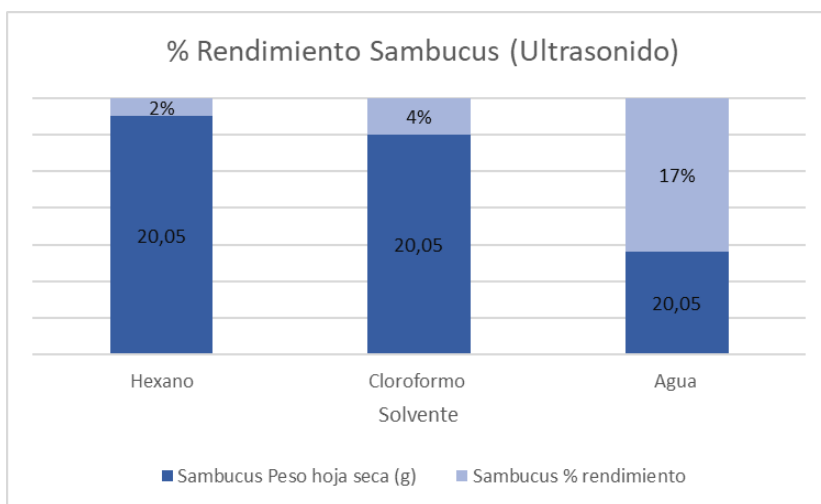
Tabla 2. Extractos obtenidos a partir de *Salvia spp* por ultrasonido.

Solvente	Sambucus (Soxhlet)		
	Peso hoja seca (g)	Peso neto extracto (g)	% rendimiento
Etanol	28,65	8,02	28%
Acetato de Etilo	60,14	6,46	11%

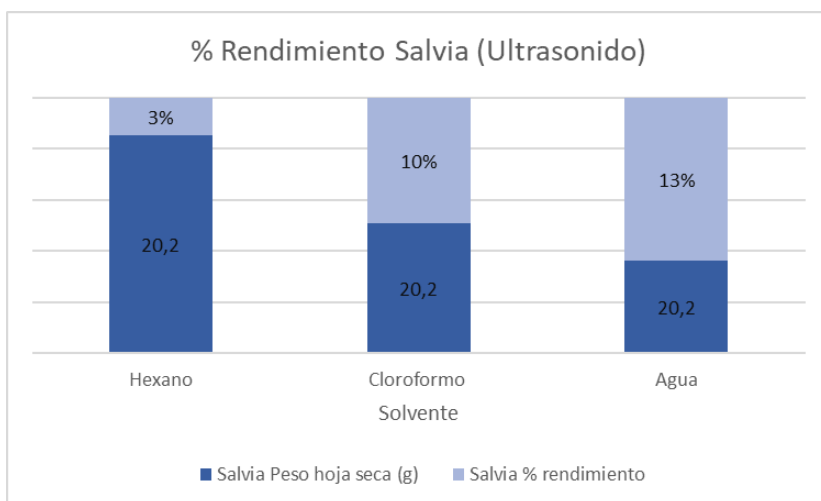
Tabla 3. Extractos obtenidos a partir de *Sambucus spp* por Soxhlet.

Solvente	Salvia (Soxhlet)		
	Peso hoja seca (g)	Peso neto extracto (g)	% rendimiento
Etanol	25,32	4,99	20%
Acetato de Etilo	46,73	8,09	17%

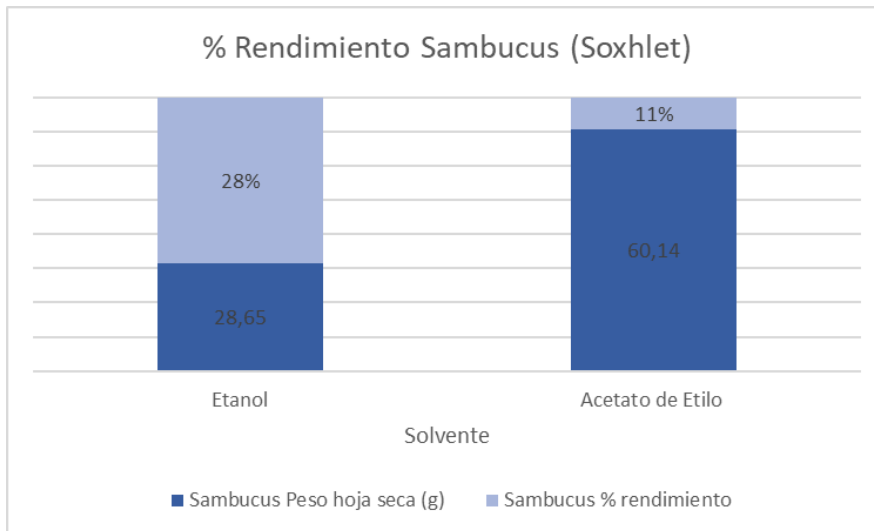
Tabla 4. Extractos obtenidos a partir de *Salvia spp* por Soxhlet.



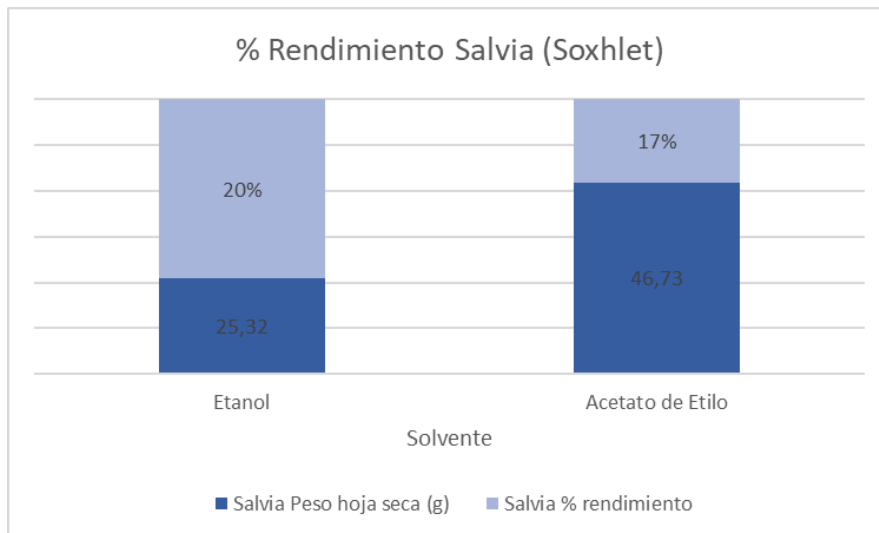
Gráfica 1. Porcentaje de rendimiento *Sambucus spp spp* en relación al peso inicial de la hoja seca por Ultrasonido.



Gráfica 2. Porcentaje de rendimiento *Salvia spp spp* en relación al peso inicial de la hoja seca por Ultrasonido.



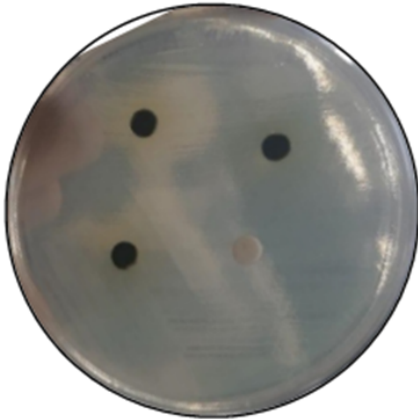
Gráfica 1. Porcentaje de rendimiento *Sambucus spp* en relación al peso inicial de la hoja seca por Soxhlet.



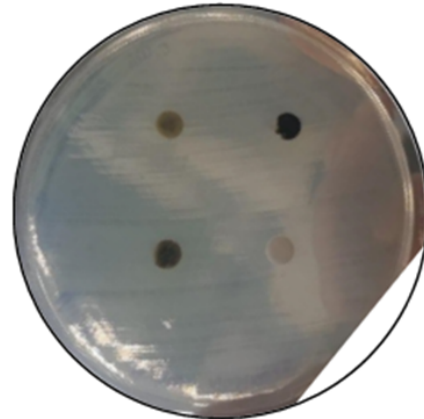
Gráfica 1. Porcentaje de rendimiento *Salvia spp* en relación al peso inicial de la hoja seca por Soxhlet.

3.3 Evaluación microbiológica de los extractos:

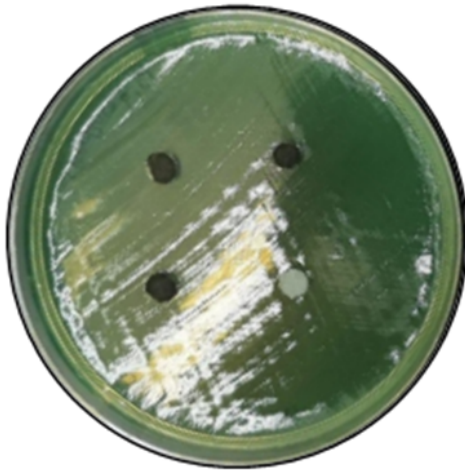
La evaluación de los extractos se realizó partiendo de las concentraciones más altas en este caso de 50000 µg, sin observar ningún halo de inhibición de los diferentes extractos, arrojando el mismo resultado en todos los ensayos, partiendo de este experimento se evidencio que la actividad inhibitoria de estos extractos fue negativa por ende los ensayos en microdilución en microplaca para encontrar la concentración inhibitoria mínima (MIC), no fueron realizados al obtener resultados negativos en los ensayos por Kirby-Bauer.



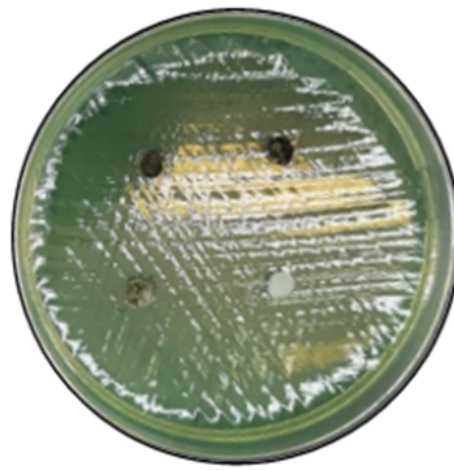
A. baumannii frente a *Sambucus*.



A.baumannii frente a *Salvia*.



P. aeruginosa frente a *Sambucus*.



P. aeruginosa frente a *Salvia*.

En la tabla 5 (extractos de *Sambucus* spp evaluados) y 6 (extractos de *Salvia* spp evaluados) se presenta el resultado de todos los ensayos realizados con los extractos, en el cual se empleó sensidiscos en blanco con la solución impregnada cinco minutos antes de ser depositados sobre el césped bacteriano.

Extracto de Sambucus evaluado	Especie bacteriana	
	<i>A. baumannii</i>	<i>P. baumannii</i>
<i>Hexano</i>	(N)	(N)
<i>Etanol</i>	(N)	(N)
<i>Acetato de Etilo</i>	(N)	(N)
<i>Cloroformo</i>	(N)	(N)
<i>Agua</i>	(N)	(N)
(N): No presenta ningún efecto inhibitorio (Negativo).		
(+: Presenta actividad inhibitoria positiva (Positivo)		

Tabla 5. Extractos de Sambucus spp evaluados frente a *A. Baumannii* y *P. aeruginosa*.

Extracto de Salvia evaluado	Especie bacteriana	
	<i>A. baumannii</i>	<i>P. baumannii</i>
<i>Hexano</i>	(N)	(N)
<i>Etanol</i>	(N)	(N)
<i>Acetato de Etilo</i>	(N)	(N)
<i>Cloroformo</i>	(N)	(N)
<i>Agua</i>	(N)	(N)
(N): No presenta ningún efecto inhibitorio (Negativo).		
(+: Presenta actividad inhibitoria positiva (Positivo)		

Tabla 5. Extractos de Salvia spp evaluados frente a *A. Baumannii* y *P. aeruginosa*.

4. DISCUSIÓN

El resultado de los análisis realizados evidencia que los diferentes tipos de extractos (Polares, medianamente polares y de baja polaridad) obtenidos a partir de solventes como hexano, cloroformo, etanol, acetona, acetato de etilo y agua de variedades de plantas *Sambucus* spp y *Salvia* spp del departamento del Putumayo, no presentaron ninguna actividad antibacteriana, la concentración de los compuestos, puede alterar los extractos al no obtener un rendimiento óptimo de los metabolitos antibacterianos presentes en los extractos obtenidos, sin embargo los métodos de extracción empleados, juegan un papel importante ya que estos pueden alterar los mismos compuestos, Soxhlet al realizarlo a una temperatura de punto de ebullición de los solventes, puede que este sea óptimo para estos pero puede alterar los compuestos de la planta. Por otro lado la extracción ultrasonido, es un medio no invasivo en el cual los metabolitos no son sometidos a ningún estrés por temperatura.

sin embargo todos estos procesos pasan por un proceso final en el que se concentran por roto evaporación en el cual hay que evaporar los solventes, este proceso puede alterar los compuestos necesarios o así mismo estos pueden ser arrastrados por el mismo solvente, por lo cual se realiza a una temperatura baja y en vacío, sin embargo este es el punto en el que todos los extractos tienen que pasar. Sin embargo en otros estudios los solventes son tan volátiles como los son el cloroformo, hexano y etanol que en otros estudios solo son dejados en campanas para que estos se evaporen por sí mismos, evitando así someter a un estrés los extractos ya obtenidos.

Debido a estos resultados, se realizaron experimentos adicionales utilizando la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 que posee fenotipo sensible, sin embargo, los resultados obtenidos fueron los mismos.

El departamento de microbiología, Islamic Azad University evaluaron *Salvia officinalis* frente a frente a *P. aeruginosa* obteniendo una concentración inhibitoria mínima 33,75 mg/mL, Debido a que en este estudio se obtuvieron resultados positivos de actividad antibacteriana, se definió realizar una prueba empleado la metodología de extracción utilizada por ellos y tener una técnica de comparación. Este procedimiento incluye la extracción por Soxhlet con etanol a tiempos controlados de 8 horas [17]. No se evidenció ningún efecto inhibitorio en los nuevos ensayos.

El Grupo de Biotransformación de la Universidad de Antioquia en Medellín, en la cual encontró un efecto inhibitorio en la especie *Salvia spp officinalis*, la cual posee flores moradas muy diferente a nuestro espécimen vegetal por lo cual podemos inferir que la especie varía y que la variedad sometida no presenta ningún efecto antibacteriana en comparación y ensayo a la metodología de contraste.[15]

Sambucus spp, tiene una actividad antibacteriana, sin embargo sus compuestos tienen una mayor eficacia como antioxidantes, para *Sambucus spp* el tiempo de recolección y la madurez de la planta afecta la maduración y obtención de los compuestos necesarios, *Sambucus spp* se desarrolla en suelos húmedos o semihúmedos, y necesita ser regado, además de la necesidad de luz solar para un mejor desarrollo,[18] por esto es necesario recordar que la composición, concentración y localización de los metabolitos de la planta se ven afectados por las condiciones ambientales que lo rodean.

Este estudio se realizó con plantas silvestres de *Sambucus spp* las cuales no tienen ninguna intervención humana, esta se ha desarrollado con los recursos que ha encontrado presentes en el suelo. Se ha identificado que los compuestos taninos alteran la forma en que las bacterias asimilan ciertos metabolitos inhibiendo así su crecimiento, sin embargo estos pueden encontrarse en mayor proporción si la planta se encuentra en suelo ricos de nutrientes, esto puede influir notablemente en los resultados obtenidos en la investigación [18]. Los extractos de esta planta también han sido probados con bacterias susceptibles, sin mutaciones, en genes de resistencia a ningún antibiótico, obteniendo resultados positivos lo cual demuestra que frente a bacterias sensibles puede ser eficaz pero por el contrario a bacterias resistentes no genera ningún efecto[19].

Por otro lado, *Salvia spp* en estudios realizados se evidencia actividad inhibitoria por parte de *Salvia officinalis* es la más mencionada en estudios antimicrobianos sin embargo la cantidad de especies (más de 9000 especies) nos amplía una búsqueda en alguna especie con las mismas capacidades inhibitorias [15]. En México se realizó un estudio con *Salvia spp amarissima* de la cual se obtuvieron extractos hexánico, metanólico y acuoso. los cuales no mostraron ningún efecto inhibitorio en los siguientes microorganismos; Gram negativos como: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* y *Shigella flexneri*, también se sometieron a microorganismos Gram positivos como: *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* y *Bacillus subtilis*. los cuales no mostraron ningún efecto inhibitorio, por ende, se puede corroborar que no todas las diferentes especies de *Salvia spp* tienen actividades inhibitorias [20].

4. CONCLUSIONES

Las plantas obtenidas de la región del Putumayo de *Sambucus* spp y *Salvia* spp y sus diferentes extractos (polares, apolares y medianamente polares) no presentan actividad inhibitoria y/o sanitizante frente a las cepas bacterianas de *A. baumannii* y *P. aeruginosa* (análisis microbiológico), por lo cual se evidencia que la implementación de estas para el control de bacterias posiblemente multidrogo resistentes no es una opción viable.

La comparación y ensayo con una metodología para la extracción de compuestos de la planta, ya probada frente a una especie vegetal de una diferente especie en este caso *Salvia* spp *officinalis* a comparación de nuestra *Salvia* spp *blanca* no presenta ningún resultado diferente a los ya obtenidos anteriormente. Por otro lado, Las especies de *Salvia* spp distribuidas en todo el mundo son más de 9000 especies, la *Salvia* spp obtenida del departamento del Putumayo proviene de un clima húmedo tropical, en suelos donde antes prevalecían siembras de coca, al contrario de *Salvia* spp *Salvia* spp *officinalis* es de origen mediterráneo, donde crece de forma espontánea y nace sobre suelos calcáneos [21].

5. LIMITACIONES

No se identificaron taxonómicamente las plantas.

AGRADECIMIENTOS

A sus padres, hermanas, Marianita del Socorro Narvaez, Roman Arturo Nasamuez, Angie Tatiana Nasamuez y Maryory Andrea Nasamuez por ser uno de los motivos más grandes de lograr concluir con esta etapa.

A Kriss Dayana Pantoja y Luisa Ospina con quienes construí el anteproyecto y parte de la parte experimental.

A mis tutores actuales por permitirme culminar este proceso lleno de altibajos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] F. de la H. Restrepo, M. Martínez, O. Pacheco, H. Quijada, A. Blandón, and G. Sanabria, "2015 Boletín epidemiológico semana 03," *Instituto Nacional de Salud*, Jan. 2015, Accessed: May 07, 2022. [Online]. Available: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2015%20Boletin%20epidemiologico%20semana%2003.pdf>

[2] OMS, "Resistencia a los antibióticos," Jul. 31, 2020. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibioticos> (accessed Nov. 22, 2019).

[3] C. Hernández-Gómez *et al.*, "Evolución de la resistencia antimicrobiana de bacilos Gram negativos en unidades de cuidados intensivos en Colombia," *Biomedica*, vol. 34, no. SUPPL.1, pp. 91–100, 2014, doi: 10.7705/biomedica.v34i0.1667.

- [4] M. Ángeles Marcos, "ACINETOBACTER BAUMANII," Barcelona, 2019. Accessed: May 09, 2022. [Online]. Available: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/acinetobacter.pdf>
- [5] D. M. Sievert *et al.*, "Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated with Healthcare-Associated Infections Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010," *Infection Control & Hospital Epidemiology*, vol. 34, no. 1, pp. 1–14, Jan. 2013, doi: 10.1086/668770.
- [6] R. F. Gómez, A. Castillo, and M. Chávez-Vivas, "Characterization of multidrug-resistant *Acinetobacter* ssp. strains isolated from medical intensive care units in Cali - Colombia," *Colombia Medica*, vol. 48, no. 4, pp. 181–188, 2017, doi: 10.25100/cm.v48i4.2858.
- [7] M. Guerra-Sarmiento, F. Ruíz-Martin Leyes, L. Arzuza-Ortega, and R. Maestre-Serrano, "Characterization of multiresistant gram-negative bacilli, isolated in patients hospitalized in health institutions in Barranquilla (Colombia)," Barranquilla, Mar. 2021. [Online]. Available: www.revinf.cl
- [8] OMS, "Infección por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos – México," Mar. 05, 2019. <https://www.who.int/emergencias/disease-outbreak-news/item/5-march-2019-carbapene-m-resistant-p-aeruginosa-mex-en> (accessed May 08, 2022).
- [9] J. O. Durich, "resistencia bacteriana a los atibioticos," *Medicina Integral*, vol. 36, Dec. 2000.
- [10] L. B. Rice, "Progress and Challenges in Implementing the Research on ESKAPE Pathogens," *Infection Control & Hospital Epidemiology*, vol. 31, no. S1, pp. S7–S10, Nov. 2010, doi: 10.1086/655995.
- [11] M. v Ovalle, S. Y. Saavedra, and M. N. González, "Resultados de la vigilancia nacional de la resistencia antimicrobiana de enterobacterias y bacilos Gram negativos no fermentadores en infecciones asociadas a la atención de salud, Colombia, 2012-2014," *Biomédica*, vol. 37, pp. 473–85, 2017, doi: 10.7705/biomedica.v34i2.3432.
- [12] G. kew, "Hay más de 28 mil plantas medicinales en el mundo: Kew Gardens," May 25, 2017. <https://www.ciudadania-express.com/2017/salud/hay-mas-de-28-mil-plantas-medicinales-en-el-mundo-kew-gardens> (accessed May 12, 2022).
- [13] M. del Pilar Rodríguez Quezada, O. A. Gamarra Torres, and F. Romel Pérez Azahuanche, "Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos de seis plantas medicinales usadas en Amazonas," Peru, Jul. 2021. Accessed: May 09, 2022. [Online]. Available: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7747848>
- [14] Y. Miyasaki, J. D. Rabenstein, J. Rhea, M.-L. Crouch, and U. M. Mocek, "Isolation and Characterization of Antimicrobial Compounds in Plant Extracts against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*," *PLoS ONE*, vol. 8, no. 4, p. 61594, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0061594.

- [15] L. Guevara, C. Hernández, L. Guevara, G. Corona, J. V. Rosas, and B. Irvias, "Propiedades antimicrobianas de la Salvia (*Salvia officinalis*) sobre bacterias Gram negativas," *E-Gnosis.Udg.Mx*, vol. 1, no. 1, pp. 80–82, Oct. 2017, Accessed: Jan. 19, 2020. [Online]. Available: <http://www.e-gnosis.udg.mx/index.php/trabajosinocuidad/article/view/299>
- [16] J. P. M. León Silvia, "Efecto antibacteriano In Vitro del extracto etanólico de hojas de *Sambucus peruviana* 'Sauco' sobre streptococcus mutans ATCC 25175," universidad nacional de trujillo, 2018. Accessed: Jan. 19, 2020. [Online]. Available: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10005>
- [17] E. Mosafa, S. Yahyaabadi, and M. Doudi, "In-Vitro Antibacterial Properties of Sage (*Salvia officinalis*) Ethanol Extract against Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*," 2013. [Online]. Available: www.zjrms.ir
- [18] A. de Salazar Sánchez Universidad Del Quindío Facultad Educación Programa De Licenciatura En Biología Y Educación Ambiental, "ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Sambucus nigra* (SAUCO) Estudiante," 2019.
- [19] N. Omidpanah, M. Valifard, M. Esmaeili, R. Yousefi, and A. Moghadam, "Antioxidant and Antibacterial Properties of the Essential Oils of Two Iranian Medicinal Plants: *Zhumeria majdae* and *Salvia mirzayanii*," *Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies*, vol. 1, no. 1, p. 51, Oct. 2015, doi: 10.18869/nrip.jamsat.1.1.51.
- [20] C. Esmeralda *et al.*, "Estudio preliminar fitoquímico y de la actividad antimicro-biana de *Salvia amarissima* Ort.," Nov. 2010.
- [21] T. Ortega, E. Carretero, and Á. Villar del Fresno, "Salvia. Fitoquímica, Farmacología y terapéutica.," *FARMACIA PROFESIONAL*, vol. 16, no. 7, pp. 59–64, Jul. 2002, Accessed: May 07, 2022. [Online]. Available: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-salvia-fitoquimica-farmacologia-terapeutica-13034818>