

Actividad antimicrobiana de extractos de plantas frente a *Staphylococcus* aislados de pacientes con conjuntivitis bacteriana

Antimicrobial Activity of Plant Extracts against Isolated *Staphylococcus* Infection in Patients with Bacterial Conjunctivitis

Atividade antimicrobiana de extratos vegetais contra *Staphylococcus* isolados de pacientes com conjuntivite bacteriana

Recibido: 23 de febrero del 2021 • **Aprobado:** 17 de octubre del 2022

Doi: <https://doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/revsalud/a.10242>

Para citar este artículo: Pabón LC, Granados Flórez J, Rodríguez Álvarez MF, Hernández-Rodríguez P, Velasco WJ. Actividad antimicrobiana de extractos de plantas frente a *Staphylococcus* aislados de pacientes con conjuntivitis bacteriana. Rev Cienc Salud. 2023;21(1):1-14. <https://doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/revsalud/a.10242>

Ludy C. Pabón B., Qca., MSc¹

Juliana Granados Flórez, Opt.²

Martha Fabiola Rodríguez Álvarez, Bacter., MSc, PhD²

Patricia Hernández-Rodríguez, BSc, Esp., MSc, PhD^{3*}

Wendy Johana Velasco, Biol.³

1 Escuela de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad de La Salle (Colombia).

2 Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de La Salle (Colombia).

3 Programa de Biología, Escuela de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad de La Salle (Colombia).

Ludy C. Pabón B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8723-0436>.

Juliana Granados Flórez, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0458-8406>

Martha Fabiola Rodríguez Álvarez, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1237-9305>

Patricia Hernández-Rodríguez, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1730-9648>

Wendy Johana Velasco, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1169-0994>

* Autora de correspondencia: phernandez@unisalle.edu.co

Resumen

Introducción: *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* son los principales agentes etiológicos de las conjuntivitis bacterianas, que al tratarse con antibióticos de manera empírica, incrementan la resistencia antimicrobiana después de exposiciones repetidas. Se están buscando alternativas naturales para el tratamiento de infecciones bacterianas autolimitadas de la conjuntiva. **Objetivo:** determinar la actividad antimicrobiana de ocho extractos de las plantas frente a bacterias aisladas de pacientes con conjuntivitis bacterianas. **Materiales y métodos:** se tomaron muestras de 15 pacientes con conjuntivitis bacterianas. Se cultivaron en agar sangre y chocolate durante 24 h a 37°C y se identificaron mediante el sistema automatizado VITEK y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por el método de Kirby-Bauer. A cada aislamiento identificado con el género *Staphylococcus* se le evaluó su susceptibilidad frente a siete extractos: *Ocimum basilicum*, *Sambucus nigra* L., *Delphinium elatum*, *Calendula officinalis*, *Bixa orellana* (parte aérea y fruto independiente), *Clinopodium brownei* y *Laurus nobilis*, con un uso tradicional reportado para el tratamiento de infecciones oculares. **Resultados:** las bacterias aisladas con más frecuencia fueron *S. epidermidis*, *S. hominis* y *S. aureus*, las cuales presentaron resistencia antimicrobiana a oxacilina, tetraciclinas y eritromicina. Todos los aislamientos fueron inhibidos por los extractos de *O. basilicum* (CMI: >0.9 mg/mL) y *L. nobilis* (CMI: hasta 15 mg/mL). **Conclusión:** los extractos de *C. officinalis* y *D. elatum* tuvieron actividad antimicrobiana solo frente a los aislados con mayor sensibilidad antimicrobiana. Los extractos etanólicos de *O. basilicum* y *L. nobilis* pueden ser una alternativa de tratamiento de las infecciones de la conjuntiva.

Palabras clave: conjuntivitis; *Staphylococcus*; extracto de plantas; actividad antimicrobiana.

Abstract

Introduction: *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* are the primary etiological agents of bacterial conjunctivitis which are empirically treated with antibiotics. This results in an increase in antimicrobial resistance due to repeated exposure. Currently, natural treatment alternatives are being sought for self-limited bacterial infections of the conjunctiva. **Objective:** To determine the antimicrobial activity of eight extracts from Colombian plants against bacteria isolated from patients with bacterial conjunctivitis. **Materials and methods:** Samples were taken from 15 patients with bacterial conjunctivitis which were grown on blood and chocolate agar for 24 h at 37°C. These samples were identified by the VITEK automated system and antimicrobial susceptibility tests by the Kirby Bauer method. Each isolate identified with the genus *Staphylococcus* was evaluated for susceptibility to the following eight plant extracts of seven plant: *Ocimum basilicum* (basil), *Sambucus nigra* L. (elderberry), *Delphinium elatum* (belladonna), *Calendula officinalis* (marigold), *Bixa orellana* (annatto) (aerial part and independent fruit), *Clinopodium brownei* (pennyroyal), and *Laurus nobilis* (laurel), with traditional use previously reported for treating eye infections. **Results:** The most frequently isolated bacteria were *S. epidermidis*, *S. hominis*, and *S. aureus*, which exhibited antimicrobial resistance mainly to oxacillin, tetracyclines, and erythromycin. All isolates were inhibited by *O. basilicum* extracts (MIC > 0.9 mg/mL) and *L. nobilis* (MIC < 15 mg/mL). **Conclusion:** The extracts of *C. officinalis* y *D. elatum* showed antimicrobial activity only against isolates with higher antimicrobial sensitivity. Ethanolic extracts of *O. basilicum* y *L. nobilis* can be used as an alternative treatment for infections of the anterior segment of the eye.

Keywords: Conjunctivitis; *Staphylococcus*; plant extract; antimicrobial activity.

Resumo

Introdução: *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* são os principais agentes etiológicos da conjuntivite bacteriana, estes são tratados empiricamente com antibióticos, causando aumento da resistência antimicrobiana após repetidas exposições aos mesmos. Atualmente, estão sendo estudadas alternativas naturais para o tratamento de infecções bacterianas autolimitadas da conjuntiva. **Objetivo:**

determinar a atividade antimicrobiana de oito extratos de sete vegetais contra bactérias isoladas de pacientes com conjuntivite bacteriana. *Materiais e métodos*: foram retiradas amostras de 15 pacientes com conjuntivite bacteriana. As amostras foram cultivadas em ágar sangue e ágar chocolate por 24 horas a 37°C e os isolados foram identificados pelo sistema automatizado VITEK, além de testes de suscetibilidade antimicrobiana pelo método Kirby Bauer. Cada isolado identificado como sendo pertencente ao gênero *Staphylococcus* foi avaliado quanto à suscetibilidade a oito extratos vegetais: *Ocimum basilicum* (manjeriço), *Sambucus nigra L.* (sabugueiro), *Delphinium elatum* (belladona), *Calendula officinalis* (calêndula), *Bixa orellana* (urucum; parte aérea e fruto independente), *Clinopodium brownei* (poejo) e *Laurus nobilis* (louro), anteriormente relatados como uso tradicional para o tratamento de infecções oculares. *Resultados*: as bactérias mais frequentemente isoladas foram *S. epidermidis*, *S. hominis* e *S. aureus*, que apresentaram resistência antimicrobiana principalmente à oxacilina, tetraciclina e eritromicina. Todos os isolados foram inibidos por extratos de *O. basilicum* (CIM: >0,9 mg/mL) e *L. nobilis* (CIM: até 15 mg/mL). *Conclusão*: os extratos de *C. officinalis* e *D. elatum* apresentaram atividade antimicrobiana apenas contra os isolados com maior sensibilidade antimicrobiana. Os extratos etanólicos de *O. basilicum* e *L. nobilis* podem ser uma alternativa de tratamento para infecções conjuntivais.

Palavras-chave: conjuntivite; Staphylococcus; extrato vegetal; atividade antimicrobiana.

Introducción

Staphylococcus aureus, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* son los patógenos que con mayor frecuencia causan las conjuntivitis bacterianas (1-3). Sin embargo, existe una amplia variedad de bacterias oportunistas, especialmente de la microbiota de piel y mucosas, que está asociada con infecciones de la superficie ocular, y dentro de las cuales el *Staphylococcus epidermidis* es la especie de estafilococos coagulasa negativos (ECN) más identificada (>50%) en la conjuntivitis bacteriana 75% (4,5). Otras especies de ECN, como *S. hominis*, *S. haemolyticus* y *S. warneri*, también se han documentado como agentes causales de patologías oculares (6,7).

El género *Staphylococcus* tiene más de 50 especies, de las cuales el *S. aureus* es el patógeno más significativo del grupo, caracterizado por la presencia diversos genes de virulencia y por su capacidad de adquirir rápidamente resistencia a los antimicrobianos (RAM) (8,9), por lo que para la Organización Mundial de la Salud es una de las bacterias prioritarias para la vigilancia de RAM (8).

Por lo general, las infecciones bacterianas de la conjuntiva son autolimitadas, por lo que, en la mayoría de los casos, no se realiza una identificación microbiológica ni pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, aunque sí se formulan antibióticos tópicos, de acuerdo con la clínica del paciente, los cuales son de venta libre en el comercio de muchos países. De esta manera, la RAM de las bacterias aisladas de infecciones o de la microbiota del ojo se asocian con el tiempo y con la regularidad en la administración de antimicrobianos, lo cual aumenta así la tasa de resistencia a estos fármacos (10,11).

Los programas de monitoreo de la RAM, *Antibiotic Resistance Monitoring in Ocular Microorganisms* y *Tracking Resistance in U.S.*, coinciden en que el microorganismo más prevalente fue el *S. aureus*, al ser en un alto porcentaje meticilino resistente (SAMR) (>40 %) y por presentar una alta resistencia a macrólidos, quinolonas y aminoglucósidos. Igualmente, más del 50% de los ECN fueron meticilino resistentes y más del 60% de estas bacterias también tenían resistencia a azitromicina y ciprofloxacina (12,13). En una revisión de la literatura de la RAM en aislados oculares, se encontró que en América (Estados Unidos, México, Colombia, Cuba, Venezuela, Brasil y Paraguay), el *S. aureus* y los ECN son resistentes principalmente a macrólidos y betalactámicos (14).

El incremento en la RAM en las bacterias patógenas, oportunistas y comensales ha llevado a que frente al *S. aureus* se busquen alternativas de tratamiento en las plantas medicinales. En este sentido, se han identificado varios extractos de plantas con actividad antimicrobiana. A manera de ejemplo, se encuentra los de *Euterpe oleracea* de hojas de diferentes especies de *Ocimum*, con altas concentraciones terpenoides, que además potencian la actividad antibiótica de la norfloxacina (15-17); los de semillas de *Lycium shawii* y *Phyllanthus emblica*, con cantidades considerables de alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides, que destruyen la pared de la bacteria (18); los aceites esenciales de *Laurus nobilis*, que inhiben la formación de biopelículas, y los de *Persicaria pensylvanica*, con efecto bactericida (19,20).

Dada la amplia distribución y la creciente RAM de las diferentes especies de *Staphylococcus* y su importancia en la salud de la superficie ocular, el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos de las plantas frente a especies de este género, aisladas de pacientes con conjuntivitis bacteriana, para identificar especies que en un futuro puedan ser consideradas alternativas en el tratamiento tópico de las infecciones de la conjuntiva.

Materiales y métodos

Aislamiento e identificación

En la clínica de Optometría de la Universidad de La Salle (Bogotá, Colombia) se diagnosticaron 15 pacientes, teniendo en cuenta los siguientes criterios de inclusión: manifestaciones clínicas de conjuntivitis bacterianas y que no tuvieran tratamiento con antibiótico en el momento de la recolección del material de análisis. A cada uno se le realizó frotis de la conjuntiva tarsal inferior con un escobillón estéril, el cual se inoculó en un tubo con medio de transporte Stuart, COPAN (Innovation, Italia).

Las muestras se transportaron en un plazo menor a 24 horas al laboratorio y se cultivaron en agar sangre y chocolate durante 24 h a 37 °C. Las colonias se identificaron con coloración de Gram y se procedió a realizar repique en agar tripticasa de soya. Las colonias aisladas se llevaron a una concentración de 1.5×10^8 bacterias/mL en una solución salina estéril al 0.45 % con un pH de 7.0 (Biomerieux, Marcy l'Etoile, Francia), la cual se determinó con el Densicheck Plus (BioMerieux) en el rango de medida entre 0.44 y 0.56 unidades de la Escala de McFarland, para su posterior identificación en el sistema automatizado VITEK® (Biomerieux, Marcy l'Etoile, Francia), con el uso de las tarjetas VITEK® 2-GP (referencia 21342).

En resumen, a cada tubo con la suspensión bacteriana se le colocó la respectiva tarjeta y se llevó a la primera cámara del equipo, donde se llenó la tarjeta mediante vacío. De esta forma, la dilución de la bacteria se distribuyó en los 64 sustratos para medir las actividades metabólicas, como acidificación, alcalinización e hidrólisis enzimática. Así, la tarjeta se incubó en la segunda cámara del equipo a 35.5 ± 1.0 °C, donde cada 15 min el equipo realizó una lectura de transmitancia a tres diferentes longitudes de onda del espectro visible, para interpretar las reacciones de turbidez o colorimétricas en cada uno de los 64 sustratos.

Al finalizar la incubación (18 a 24 h), de manera automatizada, el equipo determinó si cada reacción fue positiva, negativa o débil. Finalmente, el *software* del equipo reconoció el microorganismo, comparando los resultados con bases de datos de los productos de identificación construidos con un gran número de cepas de microorganismos perfectamente caracterizados, provenientes de fuentes clínicas, colecciones de cultivo públicas (ATCC) y universitarias, para dar la identificación del género y especie de los aislamientos bacterianos.

Test de susceptibilidad antimicrobiana

A las bacterias identificadas como *Staphylococcus* se les realizó antibiograma utilizando el método de Kirby-Bauer, descrito por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (21), en el cual las bacterias seleccionadas se sembraron por agotamiento en agar tripticasa de soya durante 24 h a 37 °C. Posteriormente, cada aislamiento se llevó a una concentración de 1.5×10^8 bacterias/mL.

Así mismo, 100 µL de la dilución de las bacterias se adicionó en agar Mueller-Hinton y se sembró de manera masiva. Luego se colocaron los sensidiscos individuales recomendados por el CLSI para el género *Staphylococcus*: oxacilina (1 mg), cefoxitina (30 mg), eritromicina (15 mg), gentamicina (10 mg), tobramicina (10 mg), tetraciclina (30 mg), ciprofloxacina (5 mg) y vancomicina (30 mg) (Oxoid Ltda., Reino Unido). Las cajas se incubaron a 37 °C durante 24 h y se midieron los halos de inhibición alrededor de los sensidiscos. Los tamaños de las zonas de inhibición se interpretaron como: R (resistente), I (resistente intermedio) y S (sensible), teniendo en cuenta los puntos de corte reportados por el CLSI (21).

Extractos de plantas

De acuerdo con el análisis cuantitativo de la información etnomedicinal, se seleccionaron siete plantas: laurel, albahaca, sauco, poleo, caléndula, belladona y achiote (hojas y fruto), por ofrecer el mayor factor de consenso entre informantes de plazas de mercado de Bogotá para el tratamiento de infecciones oculares (22). Estas provienen de varios municipios del país y se adquirieron de manera comercial en plazas de mercado de Bogotá y un ejemplar de cada una de las especies fue depositado en Herbario-Museo de La Salle (Bogotá, Colombia) para su identificación taxonómica (tabla 1).

Tabla 1. Identificación taxonómica, procedencia y número de colección del material vegetal empleado en el estudio

Nombre científico	Familia	Nombre común	Nombre de la plaza de mercado*	Código de herbario
<i>Ocimum basilicum</i>	Lamiaceae	Albahaca	Ferías	15421
<i>Calendula officinalis</i>	Asteraceae	Caléndula	Engativá	15422
<i>Delphinium elatum</i>	Ranunculaceae	Sauco	Ferías	15424
<i>Sambucus nigra L.</i>	Adoxaceae	Belladona	Restrepo	15426
<i>Clinopodium brownei</i>	Lamiaceae	Poleo	Restrepo	15432
<i>Laurus nobilis</i>	Lauraceae	Laurel	Restrepo	15433

* Lugar donde fue adquirido el material vegetal.

Para la obtención de los extractos, se utilizaron 500 g del material vegetal limpio, molido y seco; posteriormente, el material se sometió a maceración en frío con etanol al 96 % durante 15 días en una proporción 1:2. Semanalmente, se removió el solvente por destilación a presión reducida a 200 mbar y 50 °C para obtener los extractos crudos.

Actividad antimicrobiana de los extractos de plantas

La actividad antimicrobiana de los extractos de las plantas se llevó a cabo mediante la técnica de microdilución en un microplaca de 96 pozos. El ensayo de inhibición del crecimiento se adaptó del reportado por Famuyide et al. (23). Para esto, los extractos se disolvieron en dimetilsulfóxido al 10 % (DMSO) (Sigma Aldrich) a una concentración final de 60 mg/mL, de la cual se dispensó un volumen de 100 µL en cada pozo de la placa. Posteriormente, se adicionaron 100 µL de la bacteria a una concentración de 1.5×10^8 bacterias/mL en medio BHI (Merck), para un volumen final de 200 µL.

Para cada aislamiento se utilizaron los siguientes controles: medio de cultivo BHI y DMSO al 10 %, ciprofloxacina a 100 mg/mL (Oxoid), y como control de esterilidad se utilizó el medio de cultivo sin bacteria. Cada uno de los ensayos con los extractos y controles se realizó por triplicado. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. Finalizado el tiempo de incubación,

se adicionaron 40 μ L de resazurina 2mg/mL (Sigma, Aldrich), un revelador que cambia de color frente a la cantidad de dióxido de carbono producido durante el metabolismo bacteriano, donde un color rosado indicaba viabilidad del cultivo, y el color azul, que no hubo crecimiento bacteriano.

A los extractos que presentaron actividad antimicrobiana frente al 100% de los aislamientos se les determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI), mediante diluciones dobles seriadas en un rango de 30 mg/mL a 0.9 mg/mL. La CMI se consideró la concentración más baja de la dilución del extracto ensayado necesaria para inhibir el crecimiento visible de las bacterias con resazurina. Como controles para todas las técnicas empleadas en esta investigación, se utilizaron las cepas: ATCC® 43300 de SAMR (positiva al gen *mecA*) y ATCC® 25923 SAMS (negativa al gen *mecA*).

Análisis estadístico

Los datos se organizaron y tabularon. Se calcularon las medidas de tendencia central, además de que se establecieron frecuencias de los microorganismos aislados.

Consideraciones éticas

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de La Salle, a través del Acta 027 del 16 de noviembre de 2016, donde se evidenciaba su participación libre y voluntaria, su conocimiento del objetivo de la investigación, los procedimientos y los riesgos que estos podían causar.

Resultados

De los 15 pacientes se obtuvieron 12 aislamientos del género *Staphylococcus*: *S. epidermidis* (41.7%), *S. hominis* (25%), *S. aureus* (25%), y un aislamiento (8.3%) de *S. warneri*. Este último fue sensible a todos los antibióticos analizados, mientras que el *S. aureus* fue la especie que presentó la mayor RAM, principalmente a oxacilina, tetraciclinas y vancomicina. Las especies de ECN, *S. hominis* y *S. epidermidis*, fueron resistentes principalmente a eritromicina (figura 1). Los perfiles de RAM mostraron un aislamiento SARM y tres multirresistentes (tabla 2).

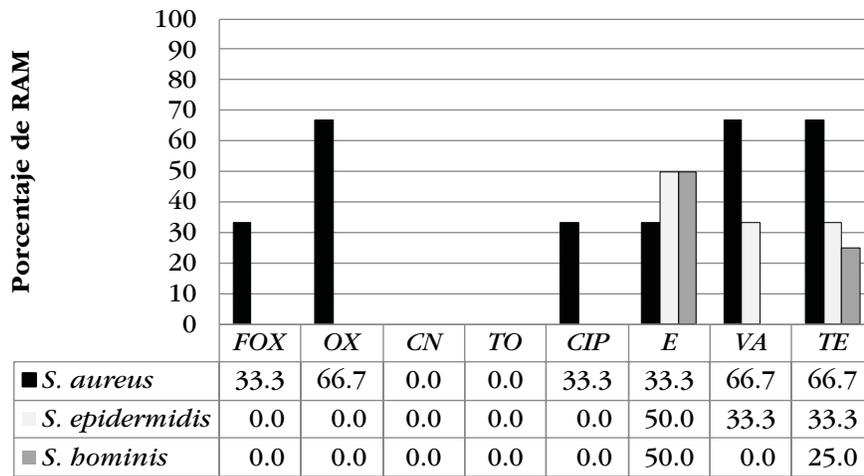


Figura 1. Resistencia antimicrobiana de especies de *Staphylococcus* aisladas de pacientes con conjuntivitis

FOX: cefoxitina, OXA: oxacilina, VAN: vancomicina, GEN: gentamicina, TOB: tobramicina, CIP: ciprofloxacina, E: eritromicina, TE: tetraciclina, RAM: resistencia antimicrobiana.

Tabla 2. Actividad antimicrobiana de ocho extractos de plantas frente a cada especie de *Staphylococcus* aislada de pacientes con conjuntivitis

Aislamiento	<i>O. basilicum</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>S. nigra</i>	<i>D. elatum</i>	<i>C. brownei</i>	<i>C. officinalis</i>	<i>B. orellana (PA)</i>	<i>B. orellana (F)</i>	Perfil de RAM*	Fenotipo*
<i>S. aureus</i> (SARM)	IC	IC	C	C	C	C	C	C	FOX, OXA, E	MR
<i>S. aureus</i>	IC	IC	C	C	C	C	C	C	OXA, VAN, TE	MR
<i>S. epidermidis</i>	IC	IC	C	C	C	C	C	C	E, VAN, TE	MR
<i>S. aureus</i>	IC	IC	C	C	C	IC	C	C	CIP, TE	
<i>S. hominis</i>	IC	IC	C	C	C	C	C	C	E, TE	
<i>S. epidermidis</i>	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC	VAN, TE	
<i>S. epidermidis</i>	IC	IC	IC	IC	IC	C	C	C	E	
<i>S. hominis</i>	IC	IC	C	C	C	IC	C	C	E	
<i>S. epidermidis</i>	IC	IC	IC	C	IC	C	IC	IC		
<i>S. hominis</i>	IC	IC	IC	C	C	C	C	C		
<i>S. epidermidis</i>	IC	IC	C	IC	IC	IC	IC	C		
<i>S. warneri</i>	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC	IC		
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	IC	IC	C	C	C	C	C	C	FOX, OXA, E, CN, VAN	MR
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	IC	IC	C	C	C	C	C	C		

*Se muestra el perfil de resistencia antimicrobiana (RAM) de cada aislamiento y las cepas ATCC.

FOX: cefoxitina; OXA: oxacilina; VAN: vancomicina; GEN: gentamicina; TOB: tobramicina; CIP: ciprofloxacina; E: eritromicina; TE: tetraciclina; IC: inhibición del crecimiento bacteriano; C: crecimiento bacteriano; MR: fenotipo multirresistente.

Los extractos de *L. nobilis* y *O. basilicum* presentaron actividad antimicrobiana frente a todos los aislamientos de *Staphylococcus*, incluso frente a los multirresistentes. Los extractos de *S. nigra*, *C. brownei* y *C. officinalis* presentaron actividad antimicrobiana frente a 5 aislamientos, y los de *D. elatum* y *B. orellana*, frente a 4 aislamientos. En general, los extractos analizados tuvieron menor actividad antimicrobiana frente a las bacterias multirresistentes (tabla 2).

La tabla 3 muestra las CMI de los extractos de las plantas que presentaron actividad antimicrobiana frente al 100% de los aislamientos de *Staphylococcus*. El extracto de *L. nobilis* tuvo una CMI menor a 0.9 mg/mL para todos los aislamientos, y para el extracto de *O. basilicum* se obtuvieron valores de CMI que oscilaron entre 0.9 y 15 mg/mL (tabla 3).

Tabla 3. CMI de los extractos etanólicos de *L. nobilis* y *O. basilicum*, frente a especies de *Staphylococcus* aisladas de pacientes con infección ocular

Aislamiento	<i>L. nobilis</i>	<i>O. basilicum</i>
mg/mL		
<i>S. aureus</i> (SARM)	<0.9	15
<i>S. aureus</i>	<0.9	7.5
<i>S. aureus</i>	<0.9	15
<i>S. epidermidis</i>	<0.9	<0.9
<i>S. epidermidis</i>	<0.9	<0.9
<i>S. epidermidis</i>	<0.9	7.5
<i>S. epidermidis</i>	<0.9	7.5
<i>S. epidermidis</i>	<0.9	7.5
<i>S. hominis</i>	<0.9	7.5
<i>S. hominis</i>	<0.9	7.5
<i>S. hominis</i>	<0.9	15
<i>S. warneri</i>	<0.9	<0.9
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	1.8	15
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<0.9	15

Discusión

Los microorganismos más aislados en los pacientes con conjuntivitis fueron *S. epidermidis* y *S. aureus*, resultados que concuerdan con lo reportado en el 2005, en el estudio realizado en la Clínica de Optometría de la Universidad de La Salle, donde el 43% de los casos de conjuntivitis fueron ocasionados por *S. epidermidis*, y el 30%, por *S. aureus* (5).

Adicionalmente, los resultados encontrados en esta investigación coinciden con lo indicado en la literatura sobre el tema, donde la mayor resistencia de *Staphylococcus* aislados de infecciones oculares se presenta frente a los betalactámicos, macrólidos y tetraciclinas (24,25).

El extracto de *O. basilicum* tuvo la mayor actividad antimicrobiana frente a todos los aislados clínicos de *Staphylococcus*, incluso los multirresistentes. Esta planta es muy utilizada en todo el mundo para múltiples afecciones, gracias a la diversidad de compuestos que contiene, como antocianinas, ácido cafeico, ácido rosmarínico, flavonas, alanina, arginina, metionina, ácido ascórbico, ácido aspártico, fitosteroles, tiamina, esculetina, riboflavina, ácido glutámico, entre otros (26,27). El contenido de estos compuestos varía de acuerdo con las condiciones climatológicas y geográficas y genera una respuesta que puede potenciar la actividad antimicrobiana de las especies (28), como se pudo evidenciar al comparar los resultados de este estudio con los reportados por Hernández y Rodríguez, en el 2001, quienes obtuvieron una CMI de 8.3 mg/mL para *O. basilicum*, y de 4.19 mg/mL para los dos microorganismos: *S. aureus* y *S. epidermidis* (29). De forma similar al presente trabajo, también se ha documentado actividad antimicrobiana para extractos crudos metanólicos de *O. basilicum* a una concentración de 0.5 mg/mL (30).

El extracto obtenido de *L. nobilis* fue el otro que presentó actividad antimicrobiana frente a todas las bacterias estudiadas en esta investigación, aunque en concentraciones más altas que la *O. basilicum*, ya que la CMI estuvo en un rango entre 7.5 y 15 mg/mL. Estos valores son similares a la CMI de 10 mg/mL reportada para el aceite esencial de esta planta frente a *S. aureus* ATCC 25923 o frente a aislados clínicos de *S. aureus*, con un valor en el rango entre 15.6 y 31.3 mg/mL, y en los cuales se ha atribuido la actividad de este aceite a la presencia de 1.8-cineole, un compuesto con prometedora actividad antimicrobiana e inhibidor en la formación de biopelículas (19,31).

Se han confirmado científicamente los efectos terapéuticos de la caléndula frente a infecciones de piel y mucosas, acompañados de propiedades antiinflamatorias reconocidas tradicionalmente y confirmadas para esta especie vegetal, como se observó en un estudio en que los extractos obtenidos de la caléndula presentaron una actividad antimicrobiana significativa, lo cual se correlaciona con los reportes previos (32). Estos hallazgos demuestran el potencial terapéutico de los extractos de plantas como alternativa terapéutica de uso oftálmico tanto en animales como en humanos. Por lo tanto, los resultados de esta investigación son relevantes, debido a que orientan la búsqueda de principios activos en estas plantas para ser evaluados frente a *S. aureus* y *S. epidermidis*, los principales agentes etiológicos de las infecciones de la superficie ocular y, de esta forma, obtener una alternativa medicinal que ayude a disminuir el uso de antibióticos tópicos, principalmente en infecciones autolimitadas, como las conjuntivitis bacterianas.

Este incremento en las tasas de RAM ha generado la búsqueda de alternativas que minimicen los efectos adversos de los antibióticos. En este sentido, las plantas medicinales se

constituyen en una excelente estrategia por su baja toxicidad y bajo costo y porque reducirían la RAM (33). Esto explica la importancia de los resultados obtenidos en este estudio, que evidenciaron el potencial de los extractos obtenidos de las plantas medicinales y dieron alcance a los objetivos propuestos en esta investigación.

En este sentido, es importante continuar con otros estudios que estén orientados a la identificación de los compuestos bioactivos de las especies con mayor potencial antimicrobiano; así como otros orientados hacia la estandarización de extractos, con el fin de determinar si el perfil químico y el potencial biológico cambian significativamente con el tipo de material (cultivo o silvestre), tiempo de colecta, lugar de colecta, entre otros aspectos.

Se concluye con la evidencia encontrada que los extractos de plantas *O. basilicum*, *L. nobilis* y *C. officinalis* presentan alta actividad antimicrobiana frente a bacterias aisladas de infecciones oculares, incluso aquellas que presentaron multirresistencia antimicrobiana, al ofrecer una posible propuesta medicinal con varias alternativas que se deben estudiar.

Agradecimientos

Las autoras agradecen a la Universidad de La Salle, por la financiación del proyecto.

Contribución de los autores

Ludy C. Pabón B: contribución en la concepción y diseño experimental, trabajo de laboratorio, obtención de datos e información, análisis e interpretación de resultados; planeación, diseño, elaboración, revisión y aprobación final de la versión final artículo que se aceptó para publicar.

Juliana Granados Flórez: toma de muestras, trabajo de laboratorio, obtención de datos e información; planeación, diseño, elaboración, revisión y aprobación final de la versión final artículo que se aceptó para publicar.

Martha Fabiola Rodríguez Álvarez: contribución en la concepción y diseño experimental, trabajo de laboratorio, obtención de datos e información, análisis e interpretación de resultados; planeación, diseño, elaboración, revisión y aprobación final de la versión final artículo que se aceptó para publicar.

Patricia Hernández-Rodríguez: contribución en la concepción y diseño experimental, trabajo de laboratorio, obtención de datos e información, análisis e interpretación de resultados; planeación, diseño, elaboración, revisión y aprobación final de la versión final artículo que se aceptó para publicar.

Wendy Johana Velasco: trabajo de laboratorio, obtención de datos e información; planeación, diseño, elaboración, revisión y aprobación final de la versión final artículo que se aceptó para publicar.

Conflicto de intereses

Ninguno declarado.

Referencias

1. Bharathi MJ, Ramakrishnan R, Shivakumar C, Meenakshi R, Lionalraj D. Etiology and antibacterial susceptibility pattern of community-acquired bacterial ocular infections in a tertiary eye care hospital in south India. *Indian J Ophthalmol*. 2010;58(6):497-507.
2. Balikoglu-Yilmaz M, Esen AB, Yilmaz T, Taskin U, Taskapili M, Faruk Oktay M, et al. Bacteriological profile in conjunctival, lacrimal sac, and nasal specimens and conjunctival normalization time following external, endoscopic, and transcanalicular multi-diode laser dacryocystorhinostomy. *Arq Bras Oftalmol*. 2016;79(3):163-70. <https://doi.org/10.5935/0004-2749.20160049>
3. Iwalokun BA, Oluwadun A, Akinsinde KA, Niemogha MT, Nwaokorie FO. Bacteriologic and plasmid analysis of etiologic agents of conjunctivitis in Lagos, Nigeria. *J Ophthalmic Inflamm Infect*. 2011 Sep;1(3):95-103.
4. Chirinos-Saldaña P, Graue-Hernández EO, Hernández-Camarena JC, Navas A, Ramírez-Miranda A, de León LRD, et al. Perfil microbiológico y sensibilidad a antibióticos de microorganismos aislados de infecciones conjuntivales en el Instituto de Oftalmología Fundación Conde de Valenciana. Reporte del año 2012. *Rev Mex Oftalmol*. 2014;88(2):73-7. <https://doi.org/10.1016/j.mexoft.2014.01.001>
5. Hernández-Rodríguez P, Quintero G, Mesa D, Molano R, Hurtado P. Prevalencia de *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* en pacientes con conjuntivitis. *Univ Sci*. 2005;10(2):47-54.
6. Aoki R, Fukuda K, Ogawa M, Ikeno T, Kondo H, Tawara A, et al. Identification of causative pathogens in eyes with bacterial conjunctivitis by bacterial cell count and microbiota analysis. *Ophthalmology*. 2013;120(4):668-76. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.10.001>
7. Mantadakis E, Maraki S, Michailidis L, Gitti Z, Pallikaris IG, Samonis G. Antimicrobial susceptibility of Gram-positive cocci isolated from patients with conjunctivitis and keratitis in Crete, Greece. *J Microbiol Immunol Infect*. 2013;46(1):41-7.
8. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect*. 2007;13(3):222-35. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01573.x>

9. Velázquez-Guadarrama N, Olivares-Cervantes AL, Salinas E, Martínez L, Escorcía M, Oropeza R, et al. Presence of environmental coagulase-positive staphylococci, their clonal relationship, resistance factors and ability to form biofilm. *Rev Argent Microbiol.* 2017;49(1):15-23. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.08.006>
10. Dave SB, Toma HS, Kim SJ. Changes in ocular flora in eyes exposed to ophthalmic antibiotics. *Ophthalmology.* 2013;120(5):937-41. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.11.005>
11. Chuang C-CC, Hsiao C-HH, Tan H-YY, Ma DH-KK, Lin K-KK, Chang C-JJ, et al. *Staphylococcus aureus* ocular infection: methicillin-resistance, clinical features, and antibiotic susceptibilities. *PLoS One.* 2012;7(8):1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042437>
12. Asbell PA, Sanfilippo CM, Pillar CM, DeCory HH, Sahn DF, Morris TW. Antibiotic resistance among ocular pathogens in the United States five-year results from the Antibiotic Resistance Monitoring in Ocular Microorganisms (ARMOR) surveillance study. *JAMA Ophthalmol.* 2015;133(12):1445-54.
13. Haas W, Pillar CM, Torres M, Morris TW, Sahn DF. Monitoring antibiotic resistance in ocular microorganisms: results from the Antibiotic Resistance Monitoring in Ocular microorganisms (ARMOR) 2009 surveillance study. *Am J Ophthalmol.* 2011;152(4):567-74. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2011.03.010>
14. Martín Algarra LV, Sánchez Rocha MC, Roldón Correa G, Rodríguez MF. Perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias aisladas de infecciones y de la microbiota ocular. *Cienc Tecnol Salud Vis y Ocul.* 2018;16(2):33-44. <https://doi.org/10.19052/sv.5301>
15. Dias-Souza MV, dos Santos RM, Cerávolo IP, Cosenza G, Ferreira Marçal PH, Figueiredo FJB. Euterpe oleracea pulp extract: chemical analyses, antibiofilm activity against *Staphylococcus aureus*, cytotoxicity and interference on the activity of antimicrobial drugs. *Microb Pathog.* 2018;114:29-35. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.006>
16. Oyedemi SO, Oyedemi BO, Coopoosamy RM, Prieto JM, Stapleton P, Gibbons S. Antibacterial and norfloxacin potentiation activities of *Ocimum americanum* L. against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *South African J Bot.* 2017;109:308-14. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.12.025>
17. Runyoro D, Ngassapa O, Vagionas K, Aligiannis N, Graikou K, Chinou I. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of four *Ocimum* species growing in Tanzania. *Food Chem.* 2010;119(1):311-6. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.028>
18. Tayel AA, Shaban SM, Moussa SH, Elguindy NM, Diab AM, Mazrou KE, et al. Bioactivity and application of plant seeds' extracts to fight resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Ann Agric Sci.* 2018;63(1):47-53. <https://doi.org/10.1016/j.aoad.2018.04.006>
19. Merghni A, Marzouki H, Hentati H, Aouni M, Mastouri M. Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. *Curr Res Transl Med.* 2016;64(1):29-34.
20. Abdi RD, Kerro Dego O. Antimicrobial activity of *Persicaria pensylvanica* extract against *Staphylococcus aureus*. *Eur J Integr Med.* 2019;29(356):100921. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2019.05.007>
21. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27.^a ed. Wayne, PA; 2017.

22. Pabón LC, Rodríguez MF, Hernández-Rodríguez P. Plantas medicinales que se comercializan en Bogotá (Colombia) para el tratamiento de enfermedades infecciosas. *Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat.* 2017;16(6):529-46.
23. Famuyide IM, Aro AO, Fasina FO, Eloff JN, McGaw LJ. Antibacterial and antibiofilm activity of acetone leaf extracts of nine under-investigated south African *Eugenia* and *Syzygium* (Myrtaceae) species and their selectivity indices. *BMC Complement Altern Med.* 2019;19(1):1-13.
24. Grzybowski A, Brona P, Kim SJ. Microbial flora and resistance in ophthalmology: a review. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2017;255(5):851-62.
25. Fariña N, Samudio M, Carpinelli L, Nentwich MM, de Kaspar HM. Methicillin resistance and biofilm production of *Staphylococcus epidermidis* isolates from infectious and normal flora conjunctiva. *Int Ophthalmol.* 2017 Aug;37(4):819-25.
26. Mahajan N, Rawal S, Verma M, Poddar M, Alok S. A phytopharmacological overview on *Ocimum* species with special emphasis on *Ocimum sanctum*. *Biomed Prev Nutr.* 2013;3(2):185-92. <https://doi.org/10.1016/j.bionut.2012.08.002>
27. Balasubramani S, Moola AK, Vivek K, Kumari BDR. Microbial pathogenesis formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (*Culex quinquefasciatus*). *Microb Pathog.* 2018;125:475-85. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.10.017>
28. Hussain AI, Anwar F, Hussain Sherazi ST, Przybylski R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem.* 2008;108(3):986-95.
29. Hernández L, Rodríguez M. Actividad antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. *Rev Cuba Plantas Med.* 2001;6(2):44-7.
30. Khan I, Ahmad K, Khalil AT, Khan J, Khan YA, Saqib MS, Umar MN, Ahmad H. Evaluation of antileishmanial, antibacterial and brine shrimp cytotoxic potential of crude methanolic extract of Herb *Ocimum basilicum* (Lamiaceae). *J Tradit Chin Med.* 2015;35(3):316-22. [https://doi.org/10.1016/S0254-6272\(15\)30104-7](https://doi.org/10.1016/S0254-6272(15)30104-7)
31. Da Silveira SM, Luciano FB, Fronza N, Cunha A, Scheuermann GN, Vieira CRW. Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7°C. *LWT - Food Sci Technol.* 2014;59(1):86-93.
32. Ministerio de la Protección Social de Colombia. Vademécum colombiano de plantas medicinales [internet]. Bogotá; 2008. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/Forms/DispForm.aspx?ID=14336>
33. Roumy V, Celidonio J, Macedo R, Bonneau N, Samaillie J, Azaroual N, et al. Plant therapy in the Peruvian Amazon (Loreto) in case of infectious diseases and its antimicrobial evaluation. *J Ethnopharmacol.* 2020;249:112411. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112411>