



**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Eichhornia crassipes* Y
Lemna gibba FRENTE A BACTERIAS PATÓGENAS EN ANIMALES DE
PRODUCCIÓN**

**MARIA ALEJANDRA CAVIEDES CARDOZO
DANIELA CRUZ GARCÍA**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C. 2018**



**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Eichhornia crassipes* Y
Lemna gibba FRENTE A BACTERIAS PATÓGENAS EN ANIMALES DE
PRODUCCIÓN**

LIGIA CONSUELO SÁNCHEZ LEAL.

Asesor interno

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C. 2018**

DEDICATORIA

*A Dios por ser la fe y la fuerza que nos impulsa, la felicidad,
Tranquilidad y serenidad en cada momento de esta etapa
Que esta próxima a culminar.*

*A nuestros familiares,
No hay un día en el que no le agradezcamos a Dios
El gran apoyo que nos han aportado,
Nos sentimos afortunadas por estar rodeadas
De personas tan valiosas.*

*“Yo hago lo que tú no puedes,
y tú haces lo que yo no puedo.
Juntos podemos hacer grandes cosas”
Madre Teresa de Calcuta.*

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra. Ligia Consuelo Sánchez Leal y a la Dra. Ruth Páez. , docentes de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, por brindarnos la oportunidad de realizar y culminar este importante proceso.

A la Dra. Leidy Yohana Méndez Báez, por su inigualable confianza y ayuda, al Dr. Edison Tello, por su apoyo e inigualable acompañamiento durante la realización del proyecto.

A la Universidad de la sabana, al grupo de Bioprospección, por permitirnos realizar el proceso experimental en sus instalaciones y brindarnos las herramientas necesarias, al semillero CEPARIUM, por enriquecer nuestros conocimientos y brindarnos las cepas ATCC. A INCUBACOL por la donación de la cepa REC 581-H, a la Sra. Rebeca Garcia Espinel por permitirnos tomar la muestra MB4, para hacer posible la ejecución de este proyecto.

A la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, entidad responsable de nuestra formación académica, por brindarnos las bases teóricas y prácticas para la realización del presente proyecto.

A nuestros padres, amigos y todos aquellos que de una u otra forma contribuyeron a la culminación de este proyecto, nuestros más sinceros agradecimientos.

CONTENIDO

INTRODUCCION

1. OBJETIVOS.....	19
1.1 GENERAL.....	19
1.2 ESPECIFICOS.....	19
2. ANTECEDENTES.....	20
3. MARCO TEORICO.....	27
3.1 ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN ANIMALES DE PRODUCCION.....	27
3.1.1 Mastitis bovina.....	27
3.1.2 Colibacilosis.....	28
3.1.3 Infección en aves.....	28
3.1.4 Agentes etiológicos.....	29
3.2 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y RESISTENCIA MICROBIANA.....	31
3.3 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA.....	32
3.3.1 Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).....	32
3.3.2 Microdilución en caldo.....	33
3.3.3 Método de difusión.....	33
3.4 ESPECIES VEGETALES.....	33
3.4.1 <i>Eichhornia crassipes</i>	33
3.4.2 <i>Lemna gibba</i>	35
3.5 Sustancias Fitoquímicas.....	37
3.6 Extractos vegetales.....	37
3.7 Métodos De Extracción de Metabolitos.....	38
3.7.1 Método Soxhlet.....	40
3.7.2 Rotavapor.....	40
4. DISEÑO METODOLOGICO.....	42
4.1 Tipo de investigación.....	42
4.2 Hipótesis.....	42
4.3 Variables e indicadores.....	42
4.4 Técnica y procedimientos.....	43
4.4.1 Recoleccion y clasificación del material vegetal.....	44
4.4.2 Obtención de extractos vegetales.....	45
4.4.3 Elaboración de protocolo para la obtención de extractos orgánicos en las plantas macrófitas (<i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i>).....	47
4.4.4 Conservación de cepas ATCC.....	47
4.4.5 Actividad antibacteriana.....	48
5. RESULTADOS.....	51
5.1 Protocolo para la obtención de extractos orgánicos en las plantas macrófitas (<i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i>).....	51
5.2 Actividad antibacteriana.....	53
5.2.1 Determinación de controles de calidad.....	53
5.2.2 Método de difusión en agar.....	57

5.2.3 Método de dilución en microplaca.....	65
6. DISCUSION.....	74
7. CONCLUSIONES.....	82

REFERENCIAS

ANEXOS

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Control de antibióticos sintéticos.....	32
Tabla 2. Descripción técnica de <i>Eichhornia crassipes</i>	34
Tabla 3. Descripción técnica de <i>Lemna gibba</i>	36
Tabla 4. Objetivos, variables, indicadores y resultados esperados.....	43
Tabla 5. Panel de cepas.....	48
Tabla 6. Controles de crecimiento y solventes.....	49
Tabla 7. Control de crecimiento de la cepas control ATCC y cepas patógenas.....	53
Tabla 8. Control de sensibilidad con antibióticos sintéticos. Halos de inhibición en mm de los antibióticos sintéticos frente a los diferentes microorganismos.....	54
Tabla 9. Control de sensibilidad con antibióticos sintéticos. Halos de inhibición en mm de los antibióticos sintéticos frente a <i>Salmonella</i> spp (ME3).	55
Tabla 10. Control de sensibilidad con antibióticos sintéticos. Halos de inhibición en mm de los antibióticos sintéticos frente a cepas <i>Staphylococcus</i>	55
Tabla 11. Comportamiento del control positivo y negativo.....	56
Tabla 12. Actividad antibacteriana sobre Cepas del genero <i>Staphylococcus</i>	63
Tabla 13. Actividad antibacteriana sobre Enterobacterias.....	64
Tabla 14. Concentración mínima inhibitoria en µg/ml por duplicado, de los extractos frente a los diferentes cepas bacterianas.....	72

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Características morfológicas de <i>Eichhornia crassipes</i>	34
Figura 2. Planta <i>Lemna gibba</i>	35
Figura 3. Dispositivo de extracción soxhlet.....	40
Figura 4. Rotaevaporador.....	41
Figura 5. Esquema general de las técnicas y procedimientos.....	44
Figura 6. Laguna Chicaque.....	45
Figura 7. Extracción.....	47
Figura 8. Controles de crecimiento de las cepas controles.....	53
Figura 9. Controles de crecimientos de las cepas patógenas.....	54
Figura 10. Control de sensibilidad con antibióticos sintéticos.....	55
Figura 11. Cepas control. Control negativo con DMS (-), y control positivo con antibiótico comercial Gentamicina 10 µg (+).....	56
Figura 12. Cepas patógenas. Control negativo con DMS (-), y control positivo con antibiótico comercial Gentamicina 10 µg (+).....	57
Figura 13. Actividad antibacteriana de <i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i> . Frente a C1.S.A. ATCC 35556.....	57

Figura 14. Actividad antibacteriana de <i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i> . Frente a C2.E.C. ATCC 35218.....	58
Figura 15. Actividad antibacteriana de <i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i> . Frente a C3. S.E. ATCC 12228.....	59
Figura 16. Actividad antibacteriana de <i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i> . Frente a REC 581-H.....	60
Figura 17. Actividad antibacteriana de <i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i> Frente a MC2.....	61
Figura 18. Actividad antibacteriana de <i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i> . Frente a ME3 S. sp.....	62
Figura 19. Actividad antibacteriana de <i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i> . Frente a MB4 S.A.....	62
Figura 20. Relación del tamaño del halo en mm frente a las diferentes concentraciones de los extractos, en cepas del genero <i>Staphylococcus</i>	63
Figura 21. Relación del tamaño del halo frente a las diferentes concentraciones de los extractos en cepas de Enterobacterias.....	65
Figura 22. Microdilución en placa de extractos vs muestra C1, ensayo por duplicado...	66
Figura 23. Microdilución en placa de extractos vs muestra C2, ensayo por duplicado.....	67
Figura 24. Microdilución en placa de extractos vs muestra C3, ensayo por duplicado.....	68

Figura 25. Microdilución en placa de extractos vs muestra REC 581-H, ensayo por duplicado.....	69
Figura 26. Microdilución en placa de extractos vs muestra MC2, ensayo por duplicado.....	69
Figura 27. Microdilución en placa de extractos vs muestra ME3, ensayo por duplicado.....	70
Figura 28. Microdilución en placa de extractos vs muestra MB4-1, ensayo por duplicado.....	71
Figura 29. Concentraciones mínimas inhibitorias del extracto de partes vegetales pertenecientes a <i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i> frente a las muestras de Enterobacterias.....	72
Figura 30. Concentraciones mínimas inhibitorias del extracto de partes vegetales pertenecientes a Buchón de agua y Lenteja de agua frente a las muestras del genero <i>Staphylococcus</i>	73

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Permiso de recolección del material vegetal para investigación

Anexo 2. Hojas de vida de la *Staphylococcus aureus* ATCC 35556

Anexo 3. Hojas de vida de la *Escherichia coli* ATCC 35218

Anexo 4. Hoja de vida de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

Anexo 5. Hoja de vida de REC 581-H

Anexo 6. Hoja de vida de *Escherichia coli* K 88

Anexo 7. Hoja de vida de *salmonella* spp

Anexo 8. Hoja de vida de *staphylococcus aureus*

Anexo 9. Prueba control del disolvente dimetilsulfóxido.



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Eichhornia crassipes* Y
Lemna gibba FRENTE A BACTERIAS PATÓGENAS EN ANIMALES DE
PRODUCCIÓN**

RESUMEN

Los antibióticos empleados en el tratamiento de enfermedades en animales de producción, se han vuelto ineficaces por la resistencia bacteriana. Se quiere aprovechar la biodiversidad de Colombia en flora, con el fin de desarrollar alternativas para combatir la resistencia bacteriana. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antibacteriana de los extractos orgánicos de las plantas macrófitas *Eichhornia crassipes* (Buchón de agua) y *Lemna gibba* (Lenteja de agua), sobre microorganismos patógenos de origen animal *Escherichia coli* K88, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, aislada en bovinos, cepa donada por incubacol y *Escherichia coli* en aves. Los controles fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 35556, *Escherichia*

coli ATCC 35218, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. La metodología incluyó el establecimiento del protocolo de secado del material vegetal, la extracción de los metabolitos, identificación de las cepas bacterianas utilizando pruebas bioquímicas y determinación de la actividad antibacteriana de los extractos en concentraciones de 2000 µg/ml, 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml y 100 µg/ml. Se realizaron pruebas de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en microplaca y pruebas de difusión radial en agar. Los resultados evidenciaron que las cepas fueron sensibles a los extractos de *Lemna gibba* y *Eichhornia crassipes*, en particular las cepas de *Staphylococcus*. Se concluye que los extractos de *Lemna gibba* y *Eichhornia crassipes*, tienen actividad antibacteriana frente a bacterias patógenas en veterinaria. A futuro, se espera determinar el compuesto que realiza la acción y probarlo de nuevo con las mismas cepas para proponerlo como una alternativa de tratamiento, aprovechando la biodiversidad en flora colombiana.

Palabras claves: Extractos orgánicos, antibacteriano, metabolitos, plantas macrofitas.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas con el tratamiento de microorganismos patógenos de origen animal, es la multiresistencia a los antibióticos convencionales implementados en la producción ganadera en el país, generando grandes pérdidas económicas y la resistencia bacteriana en la población humana.

La Organización Mundial de la Salud, OMS, considera esta situación como una problemática de salud pública, debido a la falta de control, ya que no existe una reglamentación oficial sobre límites máximos en residuos de medicamentos veterinarios que puedan estar presentes en estos alimentos. En Colombia, aunque el ICA regula y controla límites máximos del Codex Alimentarius, no hay cobertura adecuada sobre el particular (1). Por esta razón, es necesario buscar nuevas alternativas antibióticas de origen natural para el tratamiento de enfermedades bacterianas que afecten el sector ganadero y de esta manera, disminuir los residuos de medicamentos nocivos para la salud que proviene de los alimentos cárnicos y derivados.

Con relación a las plantas macrófitas seleccionadas para este estudio, el Buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) y la Lenteja de agua (*Lemna gibba*), son variedades que crecen sin control en cuerpos de agua y causan una disminución en la captación de oxígeno. Estudios previos han demostrado que estas plantas presentan actividad fitorremediadora y capacidad antibacteriana (2). Se sabe que presentan gran variedad de sustancias, producto del metabolismo secundario como respuesta a un estímulo, consideradas como una alternativa a los tratamientos con antibióticos convencionales. Esta propiedad es una alternativa a los productos comerciales que se encuentran en el mercado y que por el uso indiscriminado los hace ineficaces, debido a que las bacterias presentan mecanismos de resistencia que cada vez son más preocupantes para la salud de la población.

Adicionalmente, una amplia gama de medicamentos veterinarios y de pesticidas son usados indiscriminadamente en los sistemas de producción agropecuaria, ha dejado

residuos en los alimentos, causando un aumento en la resistencia bacteriana a ciertos fármacos de diferente naturaleza. Esta problemática, obliga a los investigadores a buscar nuevas alternativas para el engorde y productividad del ganado y para los tratamientos de patógenos bacterianos que disminuyan las tasas de multiresistencia, bajen el nivel de residuos en los productos cárnicos y otros derivados que consume el hombre y así, disminuir el riesgo en la salud pública (1).

En Colombia, las enfermedades infecciosas constituyen una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en animales, generando así, grandes pérdidas económicas a nivel mundial. Por ejemplo, la mastitis, es una problemática muy común que afecta la producción lechera (3), la cual ha venido en aumento por la resistencia bacteriana. La Universidad Nacional de Colombia, determinó que el uso de antibióticos como la ampicilina sulbactam, amoxicilina, ácido clavulínico, gentamicina y Nitrofurantoína ya presentan un porcentaje de resistencia que oscila entre 7,7% y 12,5%, en humanos y que están asociados al consumo de alimentos con residuos de antibióticos o por contacto directo con animales de producción (4).

A pesar de la antigüedad de las regulaciones internacionales existentes relacionadas con alimentos, Colombia no cuenta con una política integral de inocuidad de alimentos que garantice la ausencia o baja presencia de sustancias antibióticas. Si bien, hay algunos controles por parte del ICA, quien aplica los criterios y límites máximos del Codex Alimentarius, en algunos casos las normas norteamericanas y europeas, específicamente con relación a aditivos, residuos de plaguicidas y medicamentos de uso veterinario en los alimentos, falta una reglamentación oficial que determine los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Sin embargo, no existe un seguimiento riguroso sobre la calidad de los medicamentos veterinarios y agroquímicos en Colombia, probablemente debido al debilitamiento institucional de entidades como el Instituto Colombiano de Investigación Agropecuaria (ICA) (1, 2, 5).

El presente proyecto tuvo como objetivo la búsqueda de metabolitos a partir de las plantas macrofitas como *Lemna gibba* y *Eichhornia crassipes*, con posible actividad antibacteriana sobre bacterias patógenas en animales. Se espera hacer un aporte a la solución de este problema que va en constante progreso y que está causando la resistencia a los antibióticos de uso convencional en animales, con consecuencias por ingesta en humanos.

1. OBJETIVOS.

1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos orgánicos de las plantas Buchón de agua *Eichhornia crassipes* y Lenteja de agua *Lemna gibba* frente a bacterias patógenas de importancia en animales de producción.

1.2. ESPECÍFICOS

- Establecer el protocolo para la obtención de extractos orgánicos en las plantas macrófitas (*Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*).
- Comparar la actividad antibacteriana de los extractos frente a los patógenos aislados.

2. ANTECEDENTES

Los microorganismos patógenos resistentes a los agentes antimicrobianos cada vez van aumentando, las investigaciones realizadas se han enfocado en determinar cuantitativamente la relación entre la dosis aplicada y el efecto de los antibióticos suministrados individualmente o combinados, para conocer específicamente en que cantidad y como debe ser suministrada. Sin embargo, todos los sistemas biológicos muestran la extrema complejidad y controversia sobre la metodología e interpretación de los resultados derivados de la combinación de antibióticos, otros compuestos antimicrobianos como infusiones herbales provenientes de plantas, iones metálicos, nanopartículas, endolisinas y principalmente bacteriocinas son utilizados como posibles tratamientos para la multirresistencia de los microorganismos (6).

El sector ganadero, se ha visto afectado por la multirresistencia adquirida por microorganismos a los antibióticos convencionales, teniendo como consecuencias la incapacidad de tratar infecciones aumentando la mortalidad de los animales, aumento del tiempo y gravedad de una enfermedad, e inseguridad alimentaria. La FAO presentó el plan de acción sobre la resistencia a los antimicrobianos 2016-2020. Se trata de una iniciativa que busca reducir el avance de la resistencia a los antimicrobianos en los sistemas agrícolas, ya que representan una grave amenaza para la salud pública y la producción sostenible de alimentos (7).

En Colombia, el estudio realizado por Ramírez y colaboradores, sobre la prevalencia de mastitis en Antioquia, según la Federación Internacional de Lechería, cita que la mastitis, puede ser de origen infeccioso, traumático o tóxico, y está sujeta a ciertos factores como la edad, raza número de partos y periodo de lactancia del animal y que cada vez aumenta las pérdidas económicas en este sector (8).

Con relación a la producción porcícola, la colibacilosis en lechones, que es otra enfermedad que afecta el sector ganadero, debido a que causa diarrea en los

cerdos recién nacidos y postdestetados, también genera grandes pérdidas a nivel mundial, por tal motivo emplean antibióticos o medicamentos de origen artificial, que son promotores de crecimiento (9). Sobre la producción avícola, el pollo y el huevo son de los principales productos que se consumen en la canasta familiar, y también una de las causas de salmonelosis en humanos, por lo tanto, es considerada una zoonosis. Igualmente, se han encontrado residuos de ciertos fármacos utilizados en estos animales, situación que contribuye a la multirresistencia.

La Universidad de Caldas junto con la Universidad Nacional, en el 2008, realizó un estudio sobre la presencia de residuos químicos en los alimentos de origen animal. Estos investigadores resaltan que, en Colombia, los conocimientos sobre residualidad química en alimentos son escasos, y que, además, se están haciendo esfuerzos para superar este problema en los sectores gubernamentales, académicos y de investigación, con el fin de llevar al país a una situación favorable respecto a la inocuidad alimentaria (1). En ese mismo año, la Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, hace alusión a los residuos de fármacos en alimentos de origen animal, que son considerados como un factor de riesgo en la salud pública y como limitante en el desarrollo económico de cualquier país. Estas razones junto con el avance de metodologías analíticas cada vez más sensibles, han hecho que los requisitos de sanidad e inocuidad exigidos en los alimentos sean cada vez más estrictos, especialmente cuando el destino de los productos es la exportación (10).

Con relación a las plantas medicinales, su uso es muy alto en países que se encuentran en vía de desarrollo, actualmente más del 80% de la población a nivel mundial sigue empleando productos naturales para el cuidado de la salud según la OMS. En Pakistán, se estima que un 80% de las personas dependen de ellos para curarse, un 40% en China y en países tecnológicamente avanzados como los Estados Unidos, utilizan habitualmente las plantas medicinales para combatir ciertos problemas de salud. En Japón son utilizadas con frecuencia para fines medicinales, más que el uso de medicamentos convencionales (11). En zootecnia

y en medicina veterinaria, son utilizadas como antiinflamatorios, antibacterianos, antifúngicos, antiparasitarios, entre otros, debido a que contienen fitocomplejos que a su vez actúan en sinergismos entre ellos. La fitoterapia también es empleada en Italia, no sólo en los animales de compañía, sino también en los animales de interés zootécnico.

Respecto al tema de las plantas macrófitas, se encontró, que se ha identificado gran variedad de flora, en ríos y lagunas conocidas por ser maleza acuática flotante, debido a que presentan un rápido crecimiento y reproducción, entre ellas esta, *Eichhornia crassipes*; *Erythrina crista-galli*; *Gaillardia megapotamica* var, *Lemna minor* y *L. Lemnaceae* (12). Estudios recientes, hablan de las propiedades antimicrobianas de este tipo de plantas. A continuación, se relacionan algunos de los estudios.

Respecto a la actividad antimicrobiana de extractos provenientes de la planta específica de interés para el estudio, *Eichhornia crassipes*, en el año 2010 fue publicado en la India, un estudio sobre el efecto antimicrobiano a través de la extracción metanólica sobre bacterias: *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*; levaduras, *Candida albicans* y actividad antialgal en *Chlorella vulgaris*, evidenciando la inhibición de los microorganismos empleados y esto fue debido a la presencia de alcaloides y derivados de ésteres del ácido ftálico (etilhexilo, metil-dioctilo y dioctil ftalato) (13).

En cuanto a estudios sobre la actividad antibacteriana de extractos obtenidos de plantas del género *Lemna*, es importante mencionar una investigación realizada en Turquía, publicada en el 2010, donde se evaluaron las actividades antioxidantes, antirradical, antimicrobiana y anticandidal de la planta, mediante diferentes métodos *in vitro*, teniendo un efecto inhibitorio contra *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria sicca*, *Micrococcus*

luteus, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Candida parapsilosis* y *Candida glabrata* (14).

Para ese mismo año en Colombia, el Centro de Investigaciones Odontológicas (CIO), realizó un estudio donde evaluaron la actividad antibacteriana de los extractos de dos especies de la familia Rubiaceae: *Iserfia laevis* y *Elaeagia utilis*, siendo recolectadas en Cundinamarca, emplearon hojas de la especie *Elaeagia utilis*, mostrando actividad biológica del aceite esencial sobre *S. mutans*, del extracto etanólico, obtenido por fraccionamiento líquido/líquido, tuvo actividad sobre cepas relacionadas con la caries dental (*Streptococcus mutans* ATCC 25175, *S. sobrinus* y *L. acidophilus* 903 ATCC 4365). Por medio de técnicas químicas cualitativas determinaron la presencia de terpenos, sesquiterpenlactonas y fenoles en ambos extractos, siendo las responsables de la actividad antibacteriana (15).

En el año 2011, la revista Journal of Environmental Management, publicó una investigación sobre el uso de *Lemna minor* como posible tratamiento para eliminar patógenos como *Escherichia coli* y *Enterococos*. Los investigadores utilizaron un sistema cubierto de Lenteja de agua a gran escala, el cual redujo el número de colonias, pero no las eliminó totalmente (16). En ese mismo año en Colombia, en la Universidad Tecnológica de Pereira, por medio de encuestas seleccionaron plantas medicinales para el desarrollo de su estudio, entre ellas están, cidrón (*Aloysia triphylla*), malva (*Malva sylvestris*), toronjil (*Melissa officinalis*), perejil (*Petroselinum sativum*) y ortiga (*Urtica dioica*), de estas plantas obtuvieron los extractos, utilizando como solventes, n-hexano, diclorometano y metanol. Los investigadores evaluaron la actividad antibacteriana frente a *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, usando la metodología de perforación en placa de agar, pero ninguno de los extractos presentó actividad significativa a las concentraciones evaluadas (250-4000 mg/L) (17).

Posteriormente en el 2012, en la india, fue reportado los fitoquímicos presentes en *Eichhornia crassipes* para determinar la actividad antimicrobiana de *Micrococcus luteus*, *Rhodospirillum rubrum* y *Monascus ruber* por el método de difusión en disco, los autores recalcan haber utilizado la planta fresca y de ella, las hojas y los brotes, la cual presentaron alcaloides, flavonoides, fenoles, esteroides, terpenoides, antoquinonas y proteínas, que tienen una gran actividad inhibitoria para este tipo de microorganismos (18). En ese mismo año en Argentina, seleccionaron para su estudio plantas de uso medicinal, *Acacia bonariensis*; *Baccharis articulata*; *Blepharocalyx salicifolius*; *Castela tweedii*; *Eichhornia azurea*; *Eichhornia crassipes*; *Erythrina crista-galli*; *Gaillardia megapotamica var. scabiosoides*; *Hydrocotyle bonariensis*; *Ludwigia peploides*; *Pistia stratiotes*; *Phytolacca dioica*; *Porlieria microphylla*; *Senna scabriuscula*; *Schinus fasciculatus*; *Typha latifolia*, y evaluaron la actividad antibacteriana de los extractos vegetales metanólico, hidroalcohólico y acuoso, por el método de difusión en medio sólido, empleando cepas bacterianas estandarizadas para verificar la sensibilidad a dichos extractos. Los resultados que obtuvieron, muestran la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos obtenidos de la mayoría de las especies analizadas en especial sobre, *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (12).

En diciembre de ese mismo año, en México, publican que *Lemna gibba*, es una planta recomendada para estudios de contaminación se describen los patrones electroforéticos monodimensionales y bidimensionales de las proteínas solubles totales de *L. gibba* en ausencia y presencia de boro en forma de H_3BO_3 , en concentraciones de 0 a 500 ppm. Los resultados indican las diferencias en la expresión proteínica de *L. gibba* dependiendo de la concentración de exposición al boro. (19). En ese mismo año, Palma Silva y colaboradores, en Brasil, estudiaron la posibilidad del uso de *Eichhornia crassipes*, en la retirada de nutrientes en lagos eutrofizados, los resultados que obtuvieron confirman la capacidad de esta especie en acumular nutrientes rápidamente, actuando como

un gran potencial en fitorremediación de lagos eutrofizados en regiones subtropicales (20).

En el 2014, la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca realizó una investigación el cual evaluó, mediante difusión en disco, la actividad antimicrobiana del extracto de hojas de anamú frente a ocho cepas bacterianas, reportando sensibilidad; *Staphylococcus aureus*, *Providencia rettgeri* y *Pseudomonas aeruginosa* frente a *Petiveria alliacea* (21).

En 2016, Ecuador, analizaron el efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales, *Lippia citriodora* K, *Ambrosia artemisifolia* L, *Taraxacum officinale* Weber, *Ageratum conyzoides* L, *Piper carpunya*, *Borago officinalis* L, *Coriandrum sativum* L, *Melissa officinalis* L, *Cymbopogon citratus* S, *Artemisia absinthium* L, *Momordica charantia* L y *Moringa oleífera* Lam, utilizaron las hojas y por medio de la técnica de difusión en agar, se evaluó la actividad frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *P. aeruginosa* y *Candida albicans*. Los resultados evidenciaron que casi todos los extractos, a excepción de los de *L. citriodora* y *A. conyzoides*, exhibieron una acción bactericida. *T. officinale*, no presentó actividad frente a la levadura (22).

En la literatura se encuentran disponibles diversos artículos referentes a la actividad antibacteriana de extractos obtenidos a partir de plantas medicinales, en el 2017, la revista nova pública una investigación sobre la actividad antimicrobiana de *Bauhinia* sp., *Sambucus nigra*, *Eichhornia crassipes* y *Taraxacum officinale* frente a *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *candida albicans*, en los ensayos de susceptibilidad antimicrobiana se encontraron que los extractos presentaban diversos grados de inhibición frente a los microorganismos de estudio, siendo el más eficaz los extractos de los tallos de *T. officinale* (23). Gracias a la realización de estudios por parte de la universidad Colegio Mayor de

Cundinamarca y teniendo en cuenta las referencias estudiadas, fue posible el planteamiento de esta investigación y la selección de las plantas evaluadas.

3. MARCO TEÓRICO.

3.1 ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN ANIMALES DE PRODUCCION

Las enfermedades infecciosas son causadas por agentes patógenos (bacterias, virus, protozoos, hongos) o sus productos tóxicos. Estas enfermedades pueden transmitirse desde de una persona infectada, un animal o un reservorio hasta un hospedador susceptible, directa o indirectamente a través de un agente intermedio (animal, vector o medio ambiente inanimado) (24). Se conoce como animales de producción, a cualquier especie animal que se utilice para la obtención de productos destinados a la alimentación, vestido, fuerza y diversión. Los animales que se incluirán en este trabajo son los dedicados a la producción avícola (aves), porcina (cerdos) y bovina (vacas) (25).

Las enfermedades en animales de producción generan grandes pérdidas anualmente a las industrias especializadas en estas áreas. Para el productor, es importante conocer las principales enfermedades en estos animales, sus síntomas, signos y etiología siendo importantes para el diagnóstico y correcto tratamiento. El ganadero que cuida sus animales y los productos que obtiene de ellos, toma como primera opción, hacer tratamientos agresivos con fármacos para evitar la pérdida económica, sin considerar que estos fármacos van en la carne y los productos derivados que tienen como destino final la alimentación humana. Son muy pocos los ganaderos que buscan alternativas a los fármacos tradicionales, pues preocupa más la pérdida en dinero que las consecuencias de sus tratamientos para la población que lo consume.

Algunas de las enfermedades que sufren los animales de producción, se describen a continuación:

3.1.1 Mastitis bovina.

Es la inflamación de la glándula mamaria, en la mayoría de los casos como consecuencia de infecciones causadas por distintos microorganismos, especialmente

bacterias; *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa negativos*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus uberis*, también es causada por traumatismos, lesiones e irritaciones de origen químico. La reacción inflamatoria es un mecanismo de protección que sirve para: eliminar a los microorganismos, neutralizar sus toxinas y ayudar a reparar al tejido productor de leche para que la glándula mamaria vuelva a funcionar normalmente. La vía de entrada principal de los agentes patógenos es a través del orificio del pezón y sólo en algunos casos llega a la ubre es vía hematológica. Después de la invasión bacteriana se produce: congestión capilar, edematización del tejido secretor y obstrucción de los conductos intralobulares. También existe alteración de la permeabilidad capilar que produce cambios en la composición de la leche (26).

3.1.2 Colibacilosis.

Es una de las enfermedades entéricas con mayor grado de afectación en la producción porcina y ocasiona grandes pérdidas económicas. Se presenta con síntomas de diarrea tipo secretorio, la cual se observa en los neonatos, lechones jóvenes y destetados. Entre los factores que influyen en los brotes de la enfermedad se encuentran: la deficiencia de higiene en los ambientes de cría, suministro deficiente de calostro, tratamiento inapropiado, la resistencia bacteriana, el hacinamiento de las jaulas volviendo a los brotes un foco de infección amplio entre las jaulas de maternidad donde se encuentra la población vulnerable a esta enfermedad (27).

3.1.3 Infecciones en aves.

Estos animales se ven afectados por diversas infecciones en especial causadas por *E. coli*. Se han reportado, Onfalitis (infección del ombligo), Salpingitis (inflamación del oviducto), Peritonitis, Enterocolitis entre otras causando gran mortandad en estos animales, y *salmonella*, también es considerado uno de los principales factores que causa salmonelosis en humanos que es transmitida por estos animales (28).

3.1.4 Agentes etiológicos

Escherichia coli

Taxonomía

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobateriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: Escherichia

Especie: *E. coli*

(Escherich, 1885)

Bacilo Gram negativo, aerobio facultativo, no esporulado, móvil, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*. Las cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) serotipos F4 (K88); F5 (K99); F6 (987P) y F41 son los agentes etiológicos conocidos de la colibacilosis, también hay otro serotipos que causan gran mortalidad y otras afectaciones en aves (27).

Salmonella

Taxonomía

Dominio: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobateriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: *samonella*

(Lignieres 1900)

Bacilos gram negativo que pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Hasta la fecha se han identificado más de 2500 serotipos diferentes en dos especies, es una bacteria omnipresente y resistente que puede sobrevivir durante varias semanas en un ambiente seco y varios meses en agua, también es resistentes a los antimicrobianos que afectan a la cadena alimentaria (29).

Staphylococcus aureus

Taxonomía

Dominio: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Staphylococcaceae

Género: *staphylococcus*

Especie: *S. aureus*

(Rosenbach 1884)

Bacteria anaerobia, cocos gram positivo, capaz de producir coagulasa y catalasa. Está ampliamente distribuida por todo el mundo y puede producir una amplia gama de enfermedades que van desde infecciones cutáneas y de las mucosas a otras como foliculitis, forunculosis o conjuntivitis. En algunos casos pueden llegar a producir enfermedades de riesgo vital como celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía, en algunos casos mastitis (30).

Staphylococcus epidermidis

Taxonomía

Dominio: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: cocci

Orden: Bacillales

Familia: Staphylococcaceae

Género: *staphylococcus*

Especie: *S. epidermidis*

(Winslow y Winslow 1908, Evans 1916)

Coco gram positivo, no móvil, catalasa positivo, coagulasa negativo y anaerobio facultativo que puede crecer mediante la respiración aeróbica o por fermentación. Causa dermatitis en aves y genera biopelículas que disminuyen la actividad del metabolismo, en combinación con el deterioro de la difusión de los antibióticos, hace que sea difícil para los antibióticos combatir con eficacia este tipo de infección (31).

3.2 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y RESISTENCIA MICROBIANA

Los antibióticos son compuestos o sustancias ya sea de origen biológico o sintético con la capacidad de matar a un microorganismo inhibiendo su crecimiento (32). La resistencia a los antimicrobianos (RAM) se produce cuando los microorganismos (bacterias, hongos, virus y parásitos) sufren cambios al verse expuestos a los antimicrobianos (antibióticos, antifúngicos, antivíricos, antipalúdicos o antihelmínticos). Como resultado, los medicamentos se vuelven ineficaces y las infecciones persisten en el organismo, incrementando el riesgo de propagación. Según la OMS, están apareciendo nuevos mecanismos de resistencia a nivel mundial y ponen en peligro nuestra capacidad para tratar enfermedades infecciosas comunes, con el consiguiente aumento de la discapacidad, muertes, y prolongación de la enfermedad (33). Por tal motivo cada antimicrobiano tiene un punto de acción específico, algunos actúan sobre bacterias Gram positivas, otros en Gram negativas y hoy en día, gracias a la tecnología existen agentes que actúan en ambos tipos de bacteria siendo conocidos como agentes de amplio espectro, en el presente estudio se tomaron sensidiscos impregnados de antibióticos, suministrados por la universidad

para identificar que antibiótico sería útil para implementarlo como control positivo (ver Tabla 1)

Tabla 1. Control de antibióticos sintéticos.

ANTIBIÓTICO EMPLEADOS EN ENTEROBACTERIAS		Diámetros (mm) CLSI		
		S (\geq)	I	R (\leq)
Sensibles	Ampicilina (AMP) 10 ug/disco	17	14-16	13
	Amikacina (AK) 30ug/disco	17	15-16	14
	Cefotaxima (CTX) 30ug/disco	26	23-25	22
	Gentamicina (CN) 30ug/disco	15	13-14	12
	Ceftriaxona (CRO) 30ug/disco	18	15-17	14
	Tetraciclina (TE) 30ug/disco	15	-	11
	imipinem (IMP) 10 ug/disco	23	20-22	19
	Cephazolin (KZ) 30ug/disco	23	-	19
	Sulfatrimetropinn (SXT) 25ug/disco	16	11-15	10
ANTIBIOTICOS EMPLEADOS PARA <i>Staphylococcus</i>		S(\geq)	I	R(\leq)
Sensibles	Teicoplanin (TEC) 30ug/disco	14	11-13	10
	Gentamicina (CN) 30ug/disco	15	13-14	12
	Clindamicina (DA) 2 ug/disco	21	15-20	14
	Rifampicina (RRR) 8 ug/disco	20	17-19	16
	Linezolid (LZD) 30ug/disco	21	-	20

3.3PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA

El estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos, se realiza principalmente por técnicas de dilución o de difusión. Las técnicas de dilución proporcionan resultados cuantitativos (concentración mínima inhibitoria, CMI) y las de difusión, cualitativos (sensible, intermedio, resistente) (34).

3.3.1Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Determina la mínima concentración antimicrobiana, que inhibe el crecimiento macroscópicamente de un microorganismo posteriormente de un periodo de incubación. Se ha establecido como “Gold Standard” frente a otros métodos que también evalúa la susceptibilidad antimicrobiana (35).

3.3.2 Microdilución en caldo

Método práctico, cuyos resultados pueden ser comparables con el método de dilución en agar el cual es considerado de referencia. Se emplea una microplaca de múltiples pocillos (o placa microtiter) que contienen concentraciones crecientes de varios antimicrobianos, es inoculada con una suspensión en un caldo de la bacteria a estudiar. Tras 24 horas de incubación a 37°C, se determina la CMI como la menor concentración de antimicrobiano que inhibe un crecimiento y es comparada con controles y rangos de referencia logrando así determinar la sensibilidad o resistencia a estos (35, 36).

3.3.3 Métodos de difusión

Clinical Laboratory Standard institute (CLSI antes NCCLS) recomienda este método para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antibióticos y otras sustancias con actividad antimicrobiana. Esta técnica está basada en el método originalmente descrito por Bauer et al., (método de Kirby-Bauer). El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar, y sobre el cual se ha depositado discos de papel impregnados con concentraciones conocidas del antimicrobiano o se ha sembrado en pozo con una cantidad conocida de la sustancia (35,37).

3.4 ESPECIES VEGETALES

3.4.1 *Eichhornia crassipes*

Pertenece a la familia *Pontederiaceae* y es conocida de forma común como: jacinto de agua, violeta de agua, y Buchón de agua entre otros. Considerada como maleza y conocida por su efecto antagonista con los microorganismos y su competición con plantas nativas. Se desarrolla mejor en suelos con pH ácido, neutro

o alcalino, su parte subterránea crece con vigor en soportes con textura arenosa, franca o arcillosa, éstos se pueden mantener generalmente húmedos o empapados (38).



Figura 1. Características morfológicas de *Eichhornia crassipes*: **A** Planta entera, **B** Raíz, **C** hoja, **D** tallo. **Fuente:** Autores 2017.

Taxonomía

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Liliopsida*

Orden: *Commelinales*

Familia: *Pontederiaceae*

Género: *Eichhornia*

Especie: *Eichhornia crassipes* (solms 1883)

Descripción botánica

Tabla 2. Descripción técnica de *Eichhornia crassipes*.

Tamaño	Muy variable en tamaño, normalmente alrededor de 30 cm. Puede formar mayas de plantas grandes y flotantes
Tallo	Reducido, estolonífero, aunque un tallo horizontal (rizoma) alargado conecta a diferentes individuos.
Hojas	Formando una roseta basal, los peciolos largos y cilíndricos en las plantas fijas al sustrato de 3 a 60 cm de largo, y cortos, globosos en la plantas flotantes, las láminas de las hojas casi circulares o más anchas que largas de 2.5 a 16 cm de largo y 3 a 12 cm de ancho, ápice truncado, redondeado, ligeramente obtuso, base truncada algo cordada.
Raíz	Fibrosa, comúnmente coloreada

Tomado de: *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (39).

Distribución geográfica

Es originaria de Amazonas, ampliamente distribuida en zonas subtropicales y tropicales. También se ha encontrado en América del norte, Asia y África (40).

Impacto ecológico

Esta planta genera graves problemas en cuerpos de agua por su rápido crecimiento; cubre totalmente la superficie de los cuerpos de agua y no permite el ingreso de la radiación solar y el intercambio gaseoso de la masa de agua con la atmósfera, procesos físico-químicos y bióticos que permiten los equilibrios en biodiversidad en la columna de agua. Se ha estudiado principalmente su crecimiento y capacidad de asimilación de nutrientes, es ampliamente empleado en tratamientos de aguas residuales o efluentes industriales, fertilizante, forraje y ornamental, sirve como alimento de carpas (41).

3.4.2 *Lemna gibba*

También llamada Lenteja de agua por su parecido al grano de Lenteja que se consume en todo el mundo, es una planta macrofita, de libre flotación en lagunas y ríos, es de crecimiento rápido a comparación de otras plantas, forma una gran alfombra verde. La abundancia de esta planta es causante de que las especies fotosintetizadoras (algas, fitoplancton) no se desarrollen adecuadamente, puesto que actúa como un paraguas al impedir que los rayos solares no lleguen a las zonas más profundas (42,43).



Figura 2. Planta *Lemna gibba*. **Fuente:** Autores 2017.

Taxonomía

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Liliopsida*

Orden: *Alismatales*

Familia: *Araceae*

Subfamilia: *Lemnoiceae*

Tribu: *Lemneae*

Género: *Lemna*

Especie: *Lemna gibba*

Descripción botánica

Tabla 3. Descripción técnica de *Lemna gibba*.

Tamaño	La característica más sobresaliente de esta planta es su pequeño tamaño lo cual dificulta la diferenciación morfológica varía entre 1 y 15mm.
Raíz	Hasta 15 cm de larga; vaina de la raíz sin alas; caliptra de la raíz redondeada o puntiaguda.
Flor	Rodeada por una hojuela utricular, con una apertura estrecha en el extremo distal.

Tomado de: flora de Colombia. Universidad nacional (44).

Distribución geográfica

Tiene distribución cosmopolita, habita en regiones templadas y cálidas, así como en regiones tropicales y subtropicales, crecen flotando en aguas dulces, de lento movimiento alrededor del mundo, excepto en las regiones más frías. En Colombia se encuentra restringida a los Andes del centro de Colombia (altiplano cundiboyacense), entre 2250 y 2650 m de altitud (44). Se ha encontrado como nativa de países latinoamericanos (45).

Impacto ecológico

Las plantas pertenecientes al género Lemna, presenta un gran interés desde el punto de vista evolutivo, ecológico y ambiental por sus interacciones con otras especies ya que su rápido crecimiento le permite competir exitosamente. Estudiada en el tratamiento de aguas residuales, en la absorción de contaminantes, como complemento alimenticio para animales domésticos y para utilizarla en bioensayos con el fin de determinar el efecto negativo de sustancias tóxicas en el agua (46).

3.5 Sustancias Fitoquímicas

Las plantas presentan una gran variedad de metabolitos entre ellos, terpenoides, son inhibidores de crecimiento más abundantes que han sido identificados en las plantas superiores; son conocidos por su potencial alelopático contra malezas y plantas de cultivo. entre este grupo se encuentran los monoterpenos, ya que son los principales componentes de los aceites esenciales de los vegetales, por otro lado se encuentran los flavonoides, siendo encargados de la degradación, los taninos, pueden ser hidrolizables o condensados, tienen efectos inhibitorios debido a su capacidad para unirse a proteínas; Los taninos condensados, se originan de la polimerización oxidativa de las catequinas, inhiben las bacterias nitrificantes en suelos forestales y reducen el ritmo de descomposición de la materia orgánica, el cual es importante para los ciclos de circulación de minerales en el suelo. Lípidos y ácidos grasos, tanto de plantas terrestres como acuáticas que son inhibitorios de crecimiento vegetal. Se pueden citar, entre otros, los ácidos linoleicos, mirístico, palmíticos, láurico e hidroxiesteárico, y su rol en alelopatía no está completamente investigado (47).

3.6 Extractos Vegetales

Se reconoce que las plantas producen más de 100.000 productos naturales de bajo peso molecular, también conocidos como metabolitos secundarios, que se diferencian de los primarios, en que no son esenciales para la vida del organismo, y

los cuales han sido estudiados en busca de funciones particulares que puedan ser aplicadas en la industria farmacológica.

A la fecha han sido reportados muchos casos en los que se les atribuye a determinados compuestos de origen vegetal una acción antimicrobiana; los aceites esenciales, mezclas de compuestos naturales volátiles, que además de antifúngicos y antibacterianos, también se han reportado como antiinflamatorios, antiespasmódicos y relajantes en humanos y animales. Así mismo, compuestos particulares son reconocidos por sus actividades biológicas, entre ellos las catequinas presentes en el té verde (*Camellia sinensis*), que ejercen actividad frente a *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans* entre otros microorganismos, el mentol que se obtiene de la menta (*Menta piperita*), la capsaicina del chile (*Capsicum annuum*), ambos compuestos fenólicos simples, y los taninos presente en el eucalipto (*Eucalyptus globulus*) quienes también puede inhibir bacterias y hongos. Para la obtención de dichos extractos y a la vez que se encuentren puros se requiere realizar extracción, percolación, filtración, diálisis, precipitación, cromatografía, destilación, secado, molienda (48).

3.7 Métodos De Extracción de Metabolitos

Los extractos consisten en la fracción no volátil de los principios activos, es decir, aquellos que por no ser volatilizables o ser inestables con la temperatura, no se pueden obtener mediante destilación, sino que se obtienen mediante diversas técnicas, entre los procesos de extracción de los diferentes fitoquímicos, se destacan las nuevas tecnologías de extracción entre las que se encuentra la extracción en fluidos supercríticos. Pero todavía a menudo se utilizan otros procesos extractivos más convencionales, como el arrastre de vapor, extracción por solución y la extracción por centrifugación

Extracción por solución, Precisa una mayor inversión que la extracción por arrastre de vapor, generando un gran rendimiento, además de obtenerse la gran mayoría de

los compuestos presentes en la matriz herbácea: volátiles, grasas, ceras, pigmentos, etc.

La extracción sólido – líquido, se emplea una muestra sólida, se pulveriza y se extraen los analitos mediante un disolvente en el que sean muy solubles se emplean disolventes con amplio rango de polaridad con el fin de atrapar gran cantidad de compuestos orgánicos, Se suele hacer con agitación, temperatura o ultrasonidos para una mayor eficacia.

Extracción líquido – líquido, Consiste en extraer los analitos de una muestra líquida mediante un disolvente inmiscible en ella, como puede ser una fase acuosa con un disolvente orgánico no miscible. El pH es fundamental para conseguir buen rendimiento.

Extracción por centrifugación, Los extractos y aceites obtenidos por este proceso tienen características aromáticas superiores a las conseguidas por extracción por arrastre de vapor. Al no ser un proceso térmico, sus propiedades son más estables, por los antioxidantes naturales presentes. Aun así, la fricción interna de la materia prima provoca un aumento de temperatura no controlable que puede implicar una degradación térmica y un oscurecimiento del extracto.

Extracción en fase sólida Se emplean columnas o cartuchos capaces de retener el analito, que se extrae posteriormente con un pequeño volumen de disolvente (49).

Para la elección del disolvente se debe tener en cuenta la selectividad, estabilidad, inercia química, temperatura de ebullición no demasiado elevada para permitir su eliminación total, ni demasiado baja para evitar las pérdidas; seguridad de manipulación (si es posible no tóxico ni inflamable). Los disolventes más utilizados son los hidrocarburos alifáticos: éter de petróleo, hexano, y también propano o butano líquido (a presión). Aunque el benceno es un buen disolvente, su toxicidad limita cada vez más su utilización. Igualmente, se ha recurrido a disolventes halogenados y al etanol. También se utilizan otros solventes como soluciones ácidas o alcalinas para

la extracción selectiva de algunos compuestos, sin embargo se debe tener precaución con el pH de las mezclas para prevenir hidrólisis o reordenamiento de compuestos sensibles (50).

3.7.1 Método Soxhlet.

En este procedimiento, la muestra sólida finamente pulverizada se coloca en un cartucho de material poroso que se sitúa en la cámara del extractor soxhlet (ver figura 7). Se calienta el disolvente extractante, situado en el matraz, se condensan sus vapores que caen, gota a gota, sobre el cartucho que contiene la muestra, extrayendo los analitos solubles. Cuando el nivel del disolvente condensado en la cámara alcanza la parte superior del sifón lateral, el disolvente, con los analitos disueltos, asciende por el sifón y retorna al matraz de ebullición. Este proceso se repite hasta que se completa la extracción de los analitos de la muestra y se concentran en el disolvente (51).

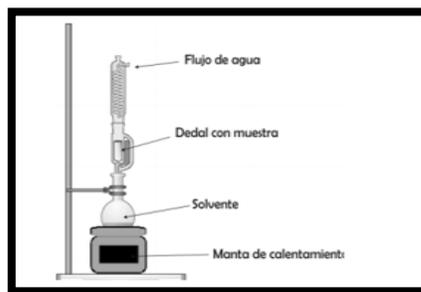


Figura 3. Dispositivo de extracción soxhlet. **Fuente** (51)

3.7.2 Rotavapor.

Se realiza con un equipo llamado rotaevaporador, diseñado para concentrar el extracto y evaporar solventes orgánicos. Incluyen un sistema de rotación de la muestra, control de revoluciones y un baño termostático para mantener la muestra a una temperatura controlada; está compuesto por un brazo mecánico utilizado para subir o bajar el matraz donde va la muestra, el cual llega hasta un recipiente donde se encuentra un agua destilada y desionizada (ver Figura 4). Tiene un condensador en espiral y un controlador de temperatura (52).



Figura 4. Rotaevaporador de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. **Fuente:** Autores 2017.

4. DISEÑO METODOLOGICO

4.1 Tipo de investigación

El presente estudio es cuantitativo descriptivo.

Universo

Plantas macrofitas y bacterias obtenidas por donación y recolección.

Población

Extractos vegetales, bacterias aisladas o donadas de animales enfermos.

Muestra

- Plantas macrofitas de la especies *E. crassipes* y *L. gibba*.
- Bacterias patógenas aisladas o donadas de animales producción (Ver tabla 5)

4.2 Hipótesis

“Los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba* presentan actividad antibacteriana frente a un panel de bacterias patógenas en animales de producción.”

4.3 Variables e Indicadores

En el presente estudio, para el cumplimiento de los objetivos se tuvo en cuenta diferentes parámetros (Ver Tabla 4).

Tabla 4. Objetivos, variables, indicadores y resultados esperados

OBJETIVOS	Variable independiente	Variable dependiente	Indicador	Resultado esperado
<p>Establecer el protocolo para la obtención de extractos orgánicos en las plantas macrófitas (<i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i>).</p>	<p>Especímenes de plantas <i>E. crassipes</i> y <i>L. gibba</i> en condiciones aceptables según criterios de escogencia.</p> <p>Tipo de extracción y uso de solventes de amplia polaridad</p> <p>Partes de la planta tallo, raíz, hoja</p>	<p>Obtención del protocolo para la obtención de extractos orgánicos en las plantas macrófitas (<i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i>).</p>	<p>Obtención del protocolo para la obtención de extractos orgánicos en las plantas macrófitas (<i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i>).</p>	<p>Protocolo para la obtención de extractos orgánicos en las plantas macrófitas (<i>Eichhornia crassipes</i> y <i>Lemna gibba</i>).</p>
<p>Comparar la actividad antibacteriana de los extractos frente a los patógenos aislados.</p>	<p>Tipo y naturaleza del microorganismo</p> <p>Concentración, calidad y tipo de fitoquímicos en los extractos,</p> <p>Solventes utilizados</p>	<p>Actividad antibacteriana, Sensibilidad o resistencia de los patógenos a los extractos obtenidos</p>	<p>Sensibilidad, resistencia y CMI de los Fitoquímicos con actividad antibacteriana frente a las cepas control y patógenas en animales de producción.</p>	<p>Actividad antibacteriana de los extractos y fitoquímicos de <i>E. crassipes</i> y <i>L. gibba</i> en los patógenos de importancia veterinaria, económica en la producción animal, CMI de cada extracto según patógeno y eficiencia en acción antibacteriana frente al microorganismo.</p>

4.4 Técnica y procedimientos

Se describen los procedimientos y técnicas que se realizaron para llevar a cabo la determinación de la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos a partir de las especies vegetales *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*.

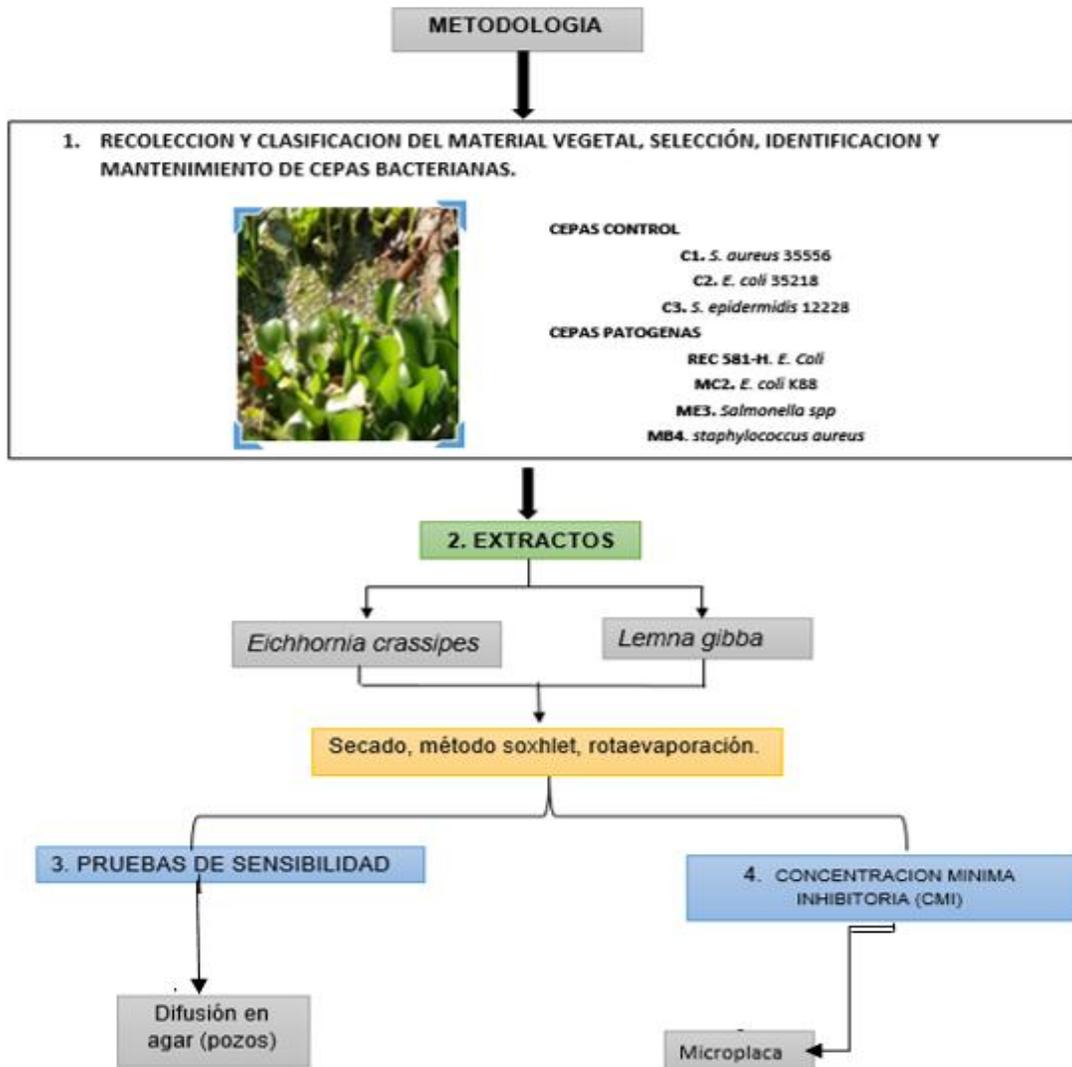


Figura 5. Esquema general de las técnicas y procedimientos. Se observan las técnicas que se utilizaron de acuerdo a los objetivos propuestos.

4.4.1 Recolección y clasificación del material vegetal

Las especies de plantas macrofitas (*Eichhornia crassipes*) y (*Lemna gibba*) se recolectaron en la vereda Chicaque, de la laguna seca, ubicada a hora y media de la ciudad de Bogotá. La recolección se realizó por las integrantes del grupo CEPARIUM. En la toma del material vegetal, se tuvo en cuenta los siguientes parámetros; la planta no debe presentar manchas, quemaduras, invasión por hongos, bacterias o parásitos

en las hojas, tallos y raíz. Posteriormente se tomaron los datos geográficos del sitio, las muestras fueron transportadas y conservadas en bolsas de basura limpias evitando la exposición a la luz, deshidratación y contaminación, conservando el nivel de humedad adecuado hasta su procesamiento, las bolsas se marcaron con su respectivo contenido e información. (Ver **Anexo 1**. Permiso de recolección del material vegetal para investigación).

Una muestra de cada espécimen se identificó por medio de sus características morfológicas, según la descripción botánica. Las muestras se conservaron en refrigeración hasta la preparación de extractos.



Figura 6.Laguna Chicaque. **A.** laguna Chicaque. **B.** Buchón de agua (*Eichhornia Crassipes*), **C.** Lenteja de agua (*Lemna gibba*). **Fuente:** Autores 2017.

4.4.2 Obtención de extractos vegetales

Secado y fragmentación

Para el lavado y secado del material vegetal, se tomaron las muestras completas de cada espécimen y se lavaron a chorro. Posteriormente se separan las partes vegetales del Buchón de agua en raíz, tallo y hoja y de la Lenteja de agua se deja intacta debido a su tamaño.

Se realizaron diferentes procesos de secado:

1. Secado en horno a una temperatura entre 45 – 50 °C (Muestra1)
2. Secado a través de una prensa biológica (Muestra 2).
3. Secado en invernadero (Muestra 3).

Antes de pasar al proceso de secado, se pesó cada una de las muestra para compararlas después de 72 horas, se fragmento en tres partes hoja, tallo y raíz de *Eichhornia crassipes* (“Buchón de agua”), *Lemna gibba* (“Lenteja de agua”) se deja completa debido a su tamaño.

La Muestra 2, secada en prensa, se dividió en dos partes, una para ser secada en horno (muestra 2 a) y la otra a temperatura ambiente (Muestra 2 b), se realizó la medición de los pesos finales junto con la muestra Mx3 a los siete días de iniciado el secado. El tiempo que duró en la prensa fue de 72 a 94 horas y en el horno por de 72 a 94 horas también a una temperatura de 48°C y 50°C. Una vez secas, se vuelve a fragmentar cada parte de la planta, obteniendo así trozos más pequeños del material vegetal.

Preparación y alistamiento de los extractos

Los extractos se prepararon con un peso aproximado 236 g de hojas secas, 200 g de tallos, 439g de raíz, referente al Buchón de agua y 78 g de Lenteja de agua. Como solvente de extracción, se utilizó una mezcla de CH₄O: CH₂Cl₂ 1:1 con el objeto de obtener extractos que contengan metabolitos de diferente polaridad. La extracción se realizó por Método Soxhlet, teniendo tres ciclos de extracción (ebullición del solvente y contacto con el material vegetal). Posteriormente se realiza la rota evaporación con el fin de obtener extractos libres de solventes, por medio de los equipos EYELA y Heidolph a 71 mbar, 134 rpm y 35.2°C en los laboratorios de la Universidad de la Sabana y la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

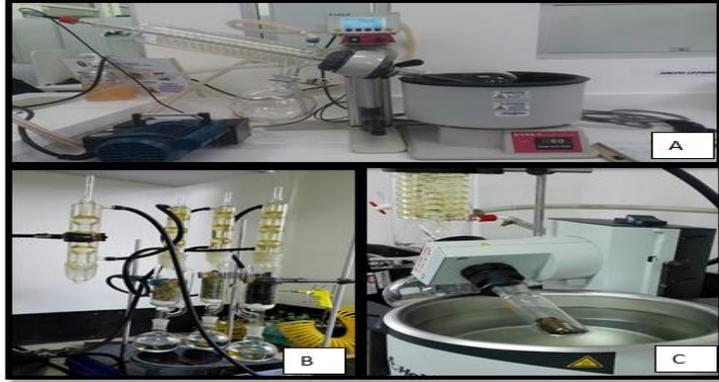


Figura 7. Extracción. **A.** Primera extracción, **B** Montaje de equipo y extracción por método Soxhlet, **C.** Rotaevaporador Heidolph, concentración del extracto en vial ámbar. **Fuente:** Autoras 2017.

4.4.3. Elaboración de protocolo para la obtención de extractos orgánicos en las plantas macrófitas (*Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*).

Tomando como referencia los procesos realizados de Recolección y clasificación del material vegetal, Secado y fragmentación, Preparación y alistamiento de los extractos junto con la bibliografía estudiada para el procesamiento de las plantas *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*, se realiza el protocolo escrito de todas las fases y recomendaciones para la obtención de los extractos orgánicos.

4.4.4 Conservación de cepas

Las cepas fueron donadas y escogidas teniendo en cuenta que son de origen animal y patógenos en animales de producción. También se incluyeron cepas control ATCC. (Ver Tabla 5)

Tabla 5. Panel de cepas

CÓDIGO	BACTERIA	PROCEDENCIA (ANIMAL)	LUGAR DE PROCEDENCIA
REC 581-H	<i>E. coli</i>	AVIAR	INCUBACOL
MC2	<i>E. coli</i> K88	PORCINO	CEPARIUM U.C.M.C
ME3	<i>Salmonella spp</i>	EQUINO	CEPARIUM U.C.M.C
MB4	<i>Staphylococcus aureus</i>	BOVINO	MUESTRA DIRECTA
C1	<i>S. aureus</i> 35556	CONTROL ATCC	CEPARIUM U.C.M.C
C2	<i>E. coli</i> 35218	CONTROL ATCC	CEPARIUM U.C.M.C
C3	<i>S. epidermidis</i> 12228	CONTROL ATCC	CEPARIUM U.C.M.C

Las hojas de vida de las cepas (ver anexos 4 al 10).

Se realizaron 10 viales por cepa en medio Brain Heart Infusión (BHI), adicionando glicerol al 10%, y congelando los viales a -80°C. Se realizaron pases periódicos de las bacterias en estudio, a medios de cultivo MacConkey para Enterobacterias y Agar Sangre para *Staphylococcus* conservando la pureza de las cepas.

4.4.5 Actividad Antibacteriana

Los extractos fueron evaluados mediante bioensayos antimicrobianos para determinar su potencial antibiótico.

Las pruebas In Vitro de actividad antibacteriana se realizaron por los métodos de difusión en agar y microdilución en placa para Concentración Mínima Inhibitoria CMI.

Sensibilidad con antibióticos comerciales

Los antibiogramas se realizaron, utilizando el método de Kirby Bauer (53), según guías del Clinical & Laboratory Standard Institute CLSI (54). Se seleccionaron antibióticos entre los que se reporta sensibilidad para cada microorganismo, para comprobar las características de las cepas y su sensibilidad (55).

A partir de hisopos estériles impregnados de suspensiones bacterianas equivalentes a 0.5 de McFarland (1×10^8 UFC/ml) de cada cepa, se inocula por siembra masiva

en agar Mueller Hinton. Se aplicaron los discos de antibióticos correspondientes para cada cepa (5 discos por caja) equidistantemente. Los medios se incubaron a 37°C durante 24 horas (56).

Tabla 6. Controles de crecimiento y solventes.

Controles de crecimiento	Controles de solvente
Inoculación de suspensión bacterianas 0.5 de Macfarlán, siembra masiva en agar Mueller Hinton. Incubación a 37°C durante 24 horas.	
El crecimiento de la cepa en el agar se interpreta como positivo. Sí no se observa crecimiento de colonias se interpreta como negativo	El solvente Dimetilsulfóxido (DMS) utilizado para la reconstitución de los extractos se comparó con agua destilada como control negativo, evaluando el grado de afectación en el crecimiento microbiano (57).

Difusión en agar (perforación en agar)

Se realizaron diluciones de los extractos a evaluar en dimetilsulfóxido teniendo como concentraciones 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml y 100 µg/ml. En placas de petri con agar Mueller Hinton se realizaron perforaciones (pozos) con sacabocados estéril de 6mm de diámetro. Cinco pozos para los estratos y dos para los controles. Cada pozo fue sellado con 0,1 mL del mismo agar. A partir de colonias con 24 horas de crecimiento y garantizando su pureza, se realizaron en tubos estandarizados con solución diluyente las suspensiones bacterianas equivalentes a 0.5 de McFarland (1×10^8 UFC/ml). Con hisopos estériles y sumergiéndolos se toma de las suspensiones el inóculo correspondiente a cada cepa.se realiza siembra masiva en la superficie del agar. En los pozos ya libres se procede a verter 100 uL de cada una de las concentraciones de los extractos en estudio. Como control positivo se utilizó una ampolla de Gentamicina Genfar® 160 mg en 2,0 ml. Se realizaron diluciones seriadas en dimetilsulfóxido hasta llegar a una concentración de 10 µg en 1,0 ml. Como control negativo se utilizó dimetilsulfóxido. Se realizó incubación de las placas durante 24 horas a 37°C. La lectura de las placas se realizó midiendo los halos de inhibición (mm) y comparándolos con el control positivo (58).

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Es método de referencia para el estudio de actividad antimicrobiana así como CMI según protocolos de CLSI (57).

En microplacas de ELISA estériles de 96 pocillos. Se agregó caldo Mueller Hinton, concentración de los extractos e inóculo de cada microorganismo. En la primera columna de pocillos, se agregó 200 ul de los extractos a una concentración de 2000 ppm de cada extracto lo que equivale a 2000 µg/ml, en la segunda columna hasta la fila 12 se agregó 100 ul de caldo Mueller Hinton, y según protocolo se realizaron diluciones 1:2 hasta la columna 10 de cada extracto (57). El inóculo se tomó del colonias con 24 horas de crecimiento y garantizando su pureza, en tubos estandarizados con solución diluyente obteniéndose una suspensión bacteriana de 0.5 de McFarland (1×10^8 UFC/ml). Se agregó 10 ul a cada columna desde la 1 hasta 11 fila E. Las columna 11 hasta la fila E se tomaron como control positivo agregando caldo Mueller Hinton e inóculo y observándose el crecimiento microbiológico y tomándose como (Control positivo). La columna 12 se tomó como control negativo al cual se le agrego solo caldo sin ningún inóculo el cual al no haber crecimiento se toma como (Control Negativo). Se realizó incubación de las microplacas durante 24 horas a 37 °C. La lectura de las microplacas se realizó por mínima concentración en la cual se observa crecimiento y comparando con los controles positivo y negativo.

5. RESULTADOS

A continuación, se muestran los resultados obtenidos.

5.1 Protocolo para la obtención de extractos orgánicos en las plantas macrófitas (*Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*).

- 1) El espécimen recolectado no debe presentar manchas, quemaduras, invasión por hongos, bacterias o parásitos en las hojas, tallos y raíz.
- 2) En bolsas negras de basura limpias se depositan los especímenes, evitando la exposición a la luz, deshidratación y contaminación, conservando el nivel de humedad adecuado hasta su procesamiento. Debida mente marcada con el nombre del material colectado, datos geográficos del sitio de origen, fecha, hora.
- 3) Si el procesamiento no se realiza de inmediato se deben guardar el material colectado en un sitio refrigerado y con poca exposición a la luz, para evitar la contaminación y posible pudrición de los especímenes. Se recomienda el procesamiento antes de 48 horas, evitando la pérdida de metabolitos.
- 4) Lavado a chorro de agua del material vegetal, procurando la limpieza exhaustiva y eliminación de contaminantes que puedan interferir en el producto final.
- 5) Separación de las partes vegetales de interés (hojas, tallo, raíz, etc) en *Eichhornia crassipes*, se realiza mecánicamente arrancando cada parte de la planta, no es necesario la utilización de objetos cortos punzantes para este proceso. Este proceso no se debe realizar en *Lemna gibba* por su tamaño.
- 6) Sí aún se observan impurezas acompañando el material vegetal en especial de *Lemna gibba* se debe realizar un segundo lavado a chorro de agua, procurando la mayor eliminación de los contaminantes.
- 7) Si el material vegetal colectado es menor a 10 kg se debe realizar un secado en prensa blanda las primeras 72 horas y seguir con el secado en horno según protocolo. Si el material vegetal colectado es mayor a 10 kg se debe realizar un

secado en invernadero de 72 a 168 horas, sí se necesita de más rapidez a las 72 horas puede realizar un secado en horno según protocolo.

- 8)** Para el secado en horno, se debe empacar cada parte vegetal en papel kraft debidamente marcado con el nombre del espécimen, parte vegetal y fecha en que se empaca. Sellado con cinta de enmascarar e introducir en horno de secado de 72 a 96 horas sí el material proviene de un secado en prensa biológica de 48°C a 50°C. Sí primero se realizó un secado en invernadero el secado en horno se realiza de 48 a 72 horas, 48°C y 50°C. Se debe revisar el material vegetal durante este proceso, y eliminar aquel que pueda estar en un proceso de contaminación o finalizar el proceso si se considera que la biomasa seca esta lista.
- 9)** La biomasa seca por método mecánico se fragmenta y se guarda separada en papel kraft o en su defecto papel periódico para evitar la contaminación. Evitando temperaturas mayores a 18°C con alto porcentaje de humedad.
- 10)** En quipo soxhlet se introduce el material vegetal junto con la mezcla de disolventes metanol más diclorometano solvente polar y apolar en proporción 1:1. Y se procede a realizar tres ciclos de extracción (ebullición y contacto con la biomasa seca en el equipo).
- 11)** Posteriormente se realiza el proceso de rotaevaporación, por medio de los equipos de rotavaporación programados a 71 mbar, 134 rpm y 35.2°C.
- 12)** Los extractos ya concentrados en viales ámbar para guardarlos de la luz, se pueden guardar en refrigeración de 4-8 °C hasta 4 meses sin perder sus características antibacterianas.

5.2 Actividad antibacteriana

5.2.1 Determinación de controles de calidad

Control de crecimiento

Tabla 7. Control de crecimiento de la cepas control ATCC y cepas patógenas

Microorganismo	Tiempo de incubación	Crecimiento
C1: <i>S. aureus</i> 35556	24-28 horas	+
C2: <i>E. coli</i> 35218	24-28 horas	+
C3: <i>S. epidermidis</i> 12228	24-28 horas	+
REC 581-H: <i>E. Coli</i>	24-28 horas	+
MC2: <i>E. coli</i> K88	24-28 horas	+
ME3: <i>Salmonella spp</i>	24-28 horas	+
MB4: <i>Staphylococcus aureus</i>	24-28 horas	+

(+) Crecimiento positivo, (-) Crecimiento negativo

Se observan en las Figura 8 y 9 como en la Tabla 7 que hubo presencia de crecimiento de 24 a 28 horas de las cepas controles como de cepas a estudiar.



Figura 8. Controles de crecimiento de las cepas controles. **C1** *S. aureus* (S.A) 35556, **C2** *E. coli* (E.C) 35218, **C3** *S. epidermidis* (S.E) 12228. **Fuente:** Autoras 2017.

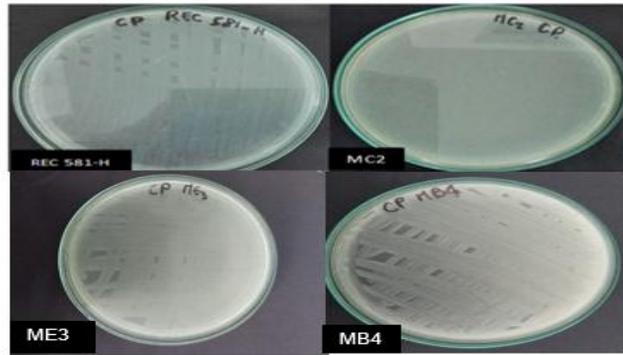


Figura 9. Controles de crecimientos de las cepas patógenas. **Rec 581-H** *E. coli*, (E.C) **MC2** *E. coli* (E.C) k88, **ME3** *Salmonella* (*S*) spp, **MB4** *S. aureus*. (S.A) **Fuente:** Autores 2017.

Control de sensibilidad con antibióticos sintéticos

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el ensayo de sensibilidad con antibióticos comerciales frente a las cepas estudio.

Tabla 8. Control de sensibilidad con antibióticos sintéticos. Halos de inhibición en mm de los antibióticos sintéticos frente a cepas *E. coli* control (**C.2:***E. coli* 35218) y patógenas (**MC2:** *E. coli* K88 y **REC:** 581-H *E. coli*).

<i>E. coli</i>	Amikacina (AK)	Ampicilina (AMP)	Cefotaxima (CTX)	Gentamicina (CN)	Ceftriaxona (CRO)	Cephazolin (KZ)
C2. <i>E. coli</i> 35218	28	0 mm	28mm	20mm	28mm	24mm
MC2. <i>E. coli</i> K88	32	0mm	32mm	10mm	30 mm	23mm
REC 581-H <i>E. coli</i>	13	0mm	34 mm	18 mm	30mm	24mm

Tabla 9. Control de sensibilidad con antibióticos sintéticos. Halos de inhibición en mm de los antibióticos sintéticos frente a *Salmonella* spp (**ME3**).

<i>Salmonella</i>	Amikacina (AK)	imipenem (IMP)	Tetraciclina (TE)	Sulfatrimetropin (SXT)	Cephalosporina (kz)	Ampicilina (AMP)
ME3. <i>Salmonella</i> spp	17 mm	26mm	18mm	30mm	23mm	0 mm

Tabla 10. Control de sensibilidad con antibióticos sintéticos. Halos de inhibición en mm de los antibióticos sintéticos frente a cepas *Staphylococcus* control (**C1**: *S. aureus* 35556 y **C3**: *S. epidermidis* 12228) y patógena (**MB4**: *S. aureus*).

<i>Staphylococcus</i>	Teicoplanin (TEC)	Gentamicina (CN)	Clindamicina (DA)	Rifampicina (RRR)	Linezolid (LZD)
C1. <i>S. aureus</i> 35556	15 mm	14 mm	24 mm	34 mm	32 mm
C3. <i>S. epidermidis</i> 12228	15mm	30mm	21 mm	40 mm	33 mm
MB4 <i>Staphylococcus aureus</i>	22 mm	24 mm	24 mm	26 mm	28 mm

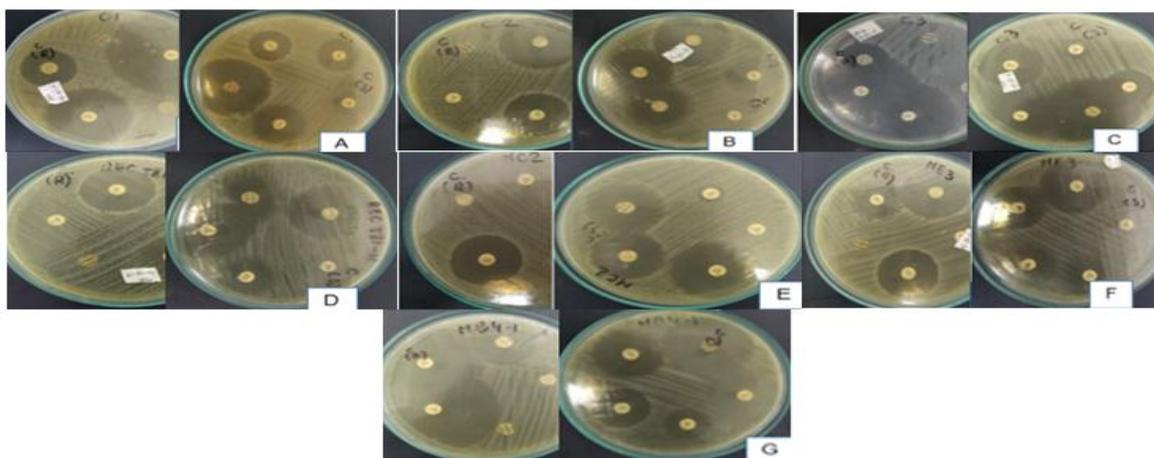


Figura 10. Control de sensibilidad con antibióticos sintéticos. **A)** C1. *S. aureus* 35556, **B)** C2. *E.coli* 35218 **C)** C3. *S. epidermidis* 12228, **D)** REC 581-H. *E.coli*, **E)** MC2. *E.coli* K88 **F)** ME3. *Salmonella* spp, **G)** MB4 *S. aureus*. **Fuente:** Autores 2017.

Control positivo y negativo en cepas control y patógenas

Tabla 11. Comportamiento del control positivo y negativo por difusión en agar (perforación en agar).

Control positivo halo de inhibición (mm) (Gentamicina)						
C1 <i>S. aureus</i> 35556	C2 <i>E. coli</i> 35218	C3 <i>S. epidermidis</i> 12228	REC 581- H <i>E. coli</i>	MC2 <i>E. coli</i> K88	ME3 <i>Salmonella</i> <i>spp</i>	MB4 <i>S. aureus</i>
8 mm	10mm	12mm	14mm	6mm	10mm	12mm

En la tabla 11 como en las figuras 11 y 12, se observa el diametro de los halos del control positivo (Gentamicina) y se empleo como control negativo dimetilsulfoxido (DMS) en cada una de las cepas utilizadas,el halo de inhibicion del control negativo en todas las cepas es de 0 mm.

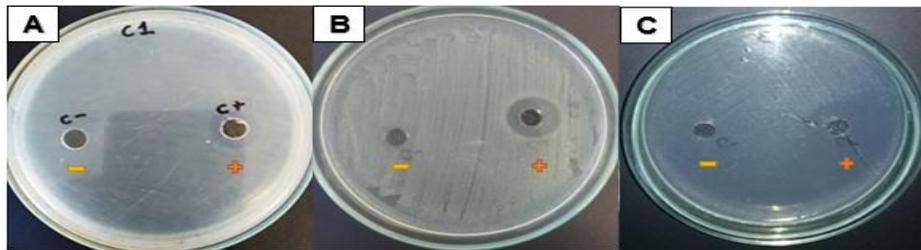


Figura 11. Cepas control. Control negativo con DMS (-), y control positivo con antibiótico comercial Gentamicina 10 µg (+). **A)** C1: *S. aureus* 35556, control negativo (DMS), control positivo (Gentamicina). **B)** C2: *E. coli* 35218, control negativo (DMS), control positivo (Gentamicina). **C)** C3: *S. epidermidis* 12228, control negativo (DMS), control positivo (Gentamicina).

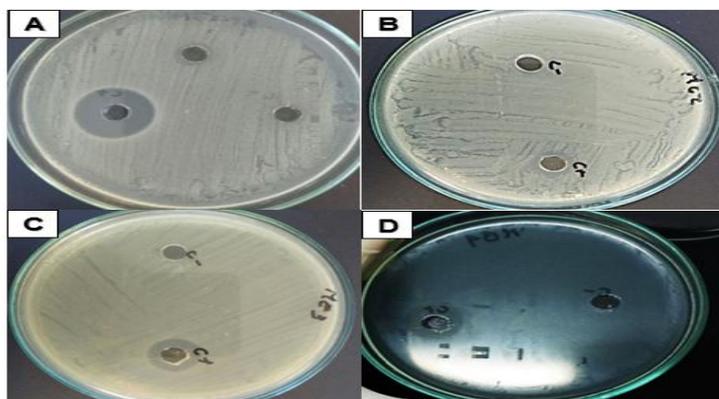


Figura 12. Cepas patógenas. Control negativo con DMS (-), y control positivo con antibiótico comercial Gentamicina 10 μg (+). **A)** REC 581-H: *E. coli*, control negativo (DMS), control positivo (Gentamicina). **B)** MC2: *E. coli* K88, control negativo (DMS), control positivo (Gentamicina). **C)** ME3: *Salmonella* spp, control negativo (DMS), control positivo (Gentamicina). **D)** MB4: *S. aureus*. Control negativo (DMS), control positivo (Gentamicina).

5.2.2 Método de difusión en agar.

Cepas control

C1. *S. aureus* 35556

Los extractos obtenidos de *Eichhornia crassipes* (“Buchón de agua”), presentaron actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 35556 mediante difusión en agar, en concentraciones de 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ y el extracto de la raíz llego hasta 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. El extracto de *Lemna gibba* (“Lenteja de agua”), presento actividad hasta la concentración de 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (ver Tabla 12, Figura 13 y 20).

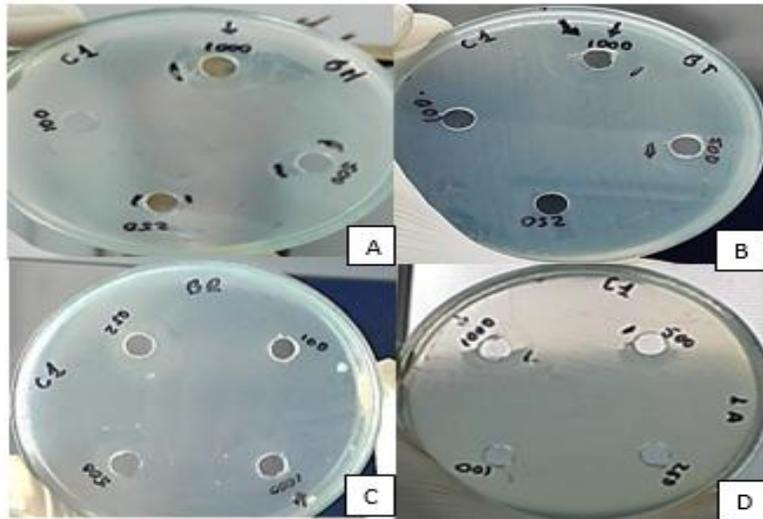


Figura 13. Actividad antibacteriana de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*. Frente a **C1:** *S.aureus* ATCC 35556. Se evidencian halos de inhibición **A.** Hoja. **B.** Tallo. **C.** Raíz. **D.** Lenteja de agua. **Fuente:** Autoras 2017.

C2. *E. coli* 35218

Los extractos de *Eichhornia crassipes* (“Buchón de agua”), presentaron actividad antibacteriana, en concentraciones de 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 100 µg/ml, el extracto de la hoja no presento actividad. El extracto de *Lemna gibba* (“Lenteja de agua”), presento actividad hasta la concentración de 250 µg/ml (ver Tabla 13, Figura 14 y 22)

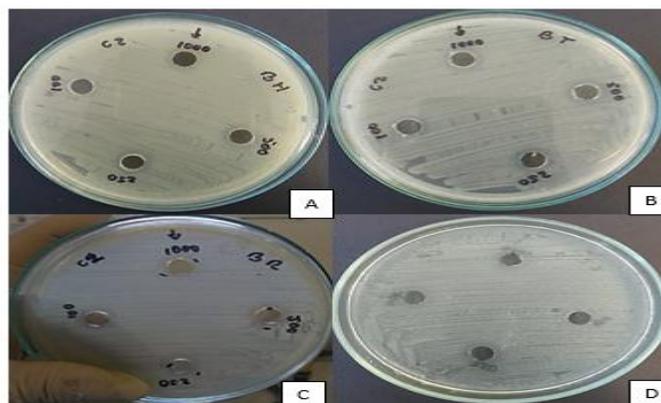


Figura 14. Actividad antibacteriana de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*. Frente a **C2.** *E. coli* ATCC 35218. Se evidencian halos de inhibición **A.** Hoja. **B.** Tallo. **C.** Raíz. **D.** Lenteja de agua. **Fuente:** Autoras 2017.

C3. *S. epidermidis* 12228

Los extractos de *Eichhornia crassipes* (“Buchón de agua”), y el extracto de *Lemna gibba* (“Lenteja de agua”), presentaron actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 mediante difusión en agar, en concentraciones de 1000 µg/ml, 500 µg/m, (ver Tabla 12, Figura 15 y 20).

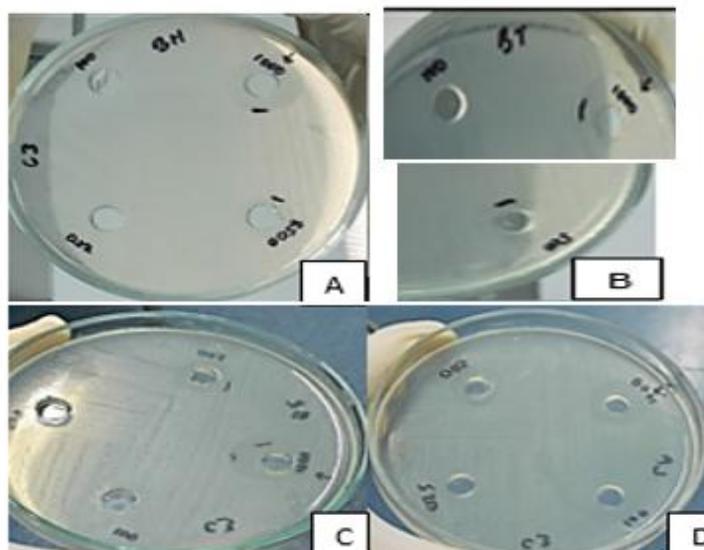


Figura 15. Actividad antibacteriana de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*. Frente a **C3.** *S. epidermidis* ATCC 12228. Se evidencian halos de inhibición **A.** Hoja. **B.** Tallo se omite el pozo de la concentración de 250 µg/ml, por presencia de contaminación por estructura levaduriforme, hay presencia de estructura fúngica por contaminación. **C.** Raíz. **D.** Lenteja de agua. **Fuente:** Autoras 2017.

Cepas patógenas

REC 581-H *E. coli*.

Los extractos obtenidos de *Eichhornia crassipes* (“Buchón de agua”) y *Lemna gibba*

("Lenteja de agua"), presentaron actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli* REC 581-H mediante difusión en agar, en concentraciones de 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 100 µg/ml, (ver Tabla 13, Figura 16 y 21).

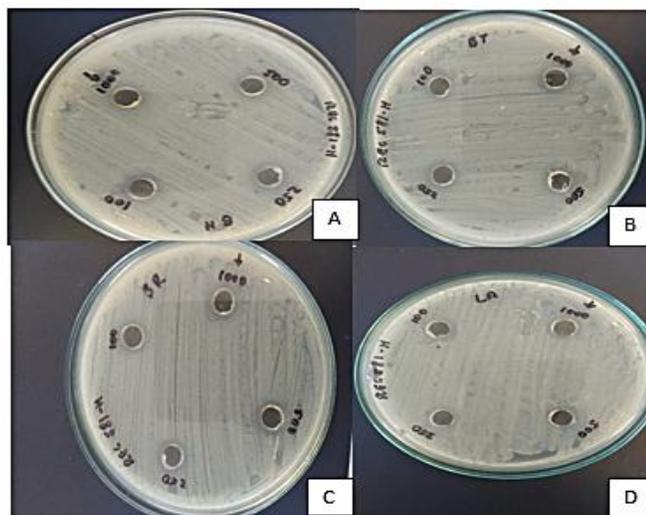


Figura 16. Actividad antibacteriana de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*. Frente a **REC 581-H: *E. coli***. Se evidencian halos de inhibición **A.** Hoja. **B.** Tallo. **C.** Raíz. **D.** Lenteja de agua. **Fuente:** Autoras 2017.

MC2 *Escherichia coli* K88.

Los extractos obtenidos de *Eichhornia crassipes* ("Buchón de agua"), tallo y raíz presentaron actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli* K88 mediante difusión en agar, en concentraciones de 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 100 µg/ml. El extracto de la hoja presento actividad hasta la concentración 500 µg/ml. El extracto de *Lemna gibba* ("Lenteja de agua"), presento actividad hasta la concentración 250 µg/ml. (ver Tabla 13, Figura 17 y 21).

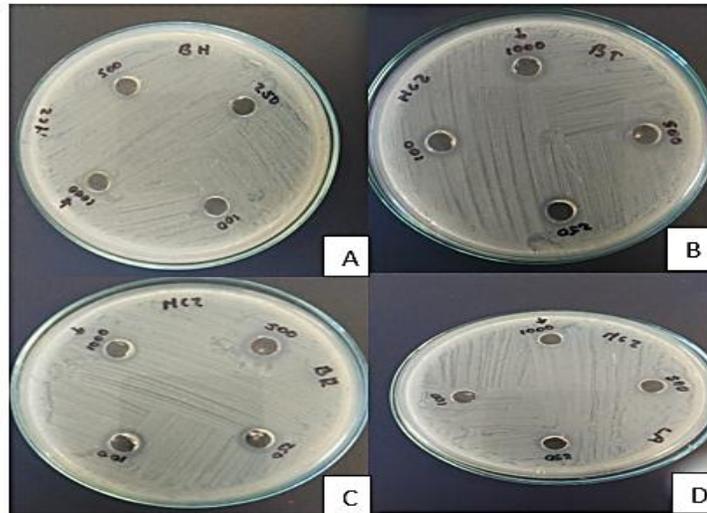


Figura 17. Actividad antibacteriana de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*. Frente a **MC2:** *E. coli* K88. Se evidencian halos de inhibición **A.** Hoja. **B.** Tallo. **C.** Raíz. **D.** Lenteja de agua. **Fuente:** Autoras 2017.

ME3 *Salmonella* sp.

Los extractos de *Eichhornia crassipes* (“Buchón de agua”), presentaron actividad antibacteriana sobre *Salmonella* sp mediante difusión en agar, en concentraciones de 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 100 µg/ml. El extracto de *Lemna gibba* (“Lenteja de agua”), presento actividad hasta la concentración 250 µg/ml. (ver Tabla 13, Figura 18 y 21).

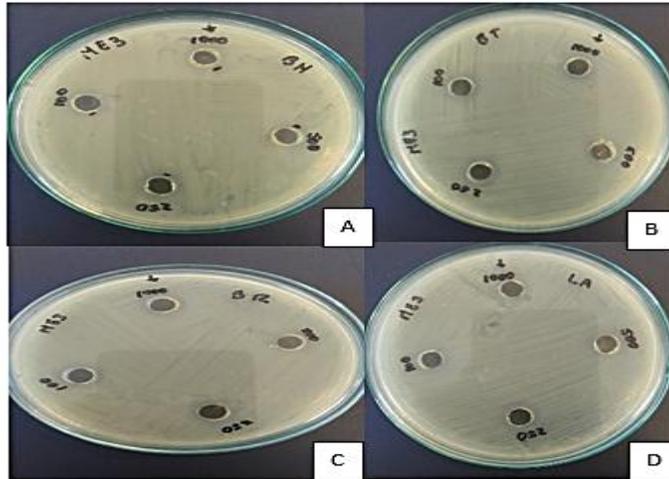


Figura 18. Actividad antibacteriana de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*. Frente a ME3 *Sallmonella* sp. Se evidencian halos de inhibición **A.** Hoja. **B.** Tallo. **C.** Raíz. **D.** Lenteja de agua. **Fuente:** Autoras 2017.

MB4 *Staphylococcus aureus*

Los extractos de *Eichhornia crassipes* (“Buchón de agua”), presentaron actividad antibacteriana sobre MB4 *Staphylococcus aureus* mediante difusión en agar, en concentraciones de 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 100 µg/ml. El extracto de *Lemna gibba* (“Lenteja de agua”), presento actividad hasta la concentración 250 µg/ml. (ver Tabla 12, Figura 19 y 20).

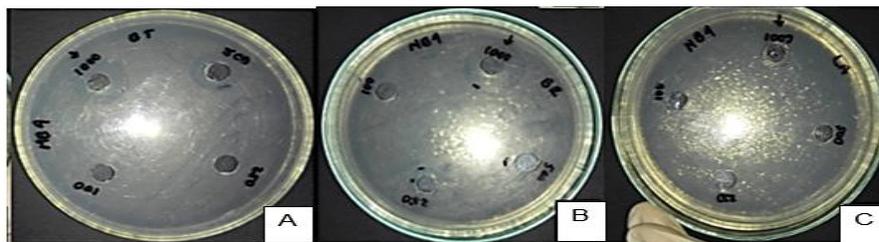
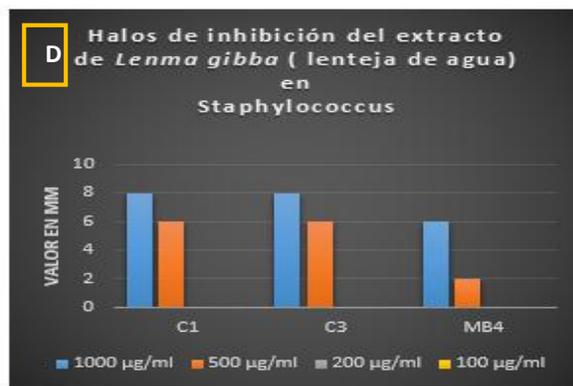
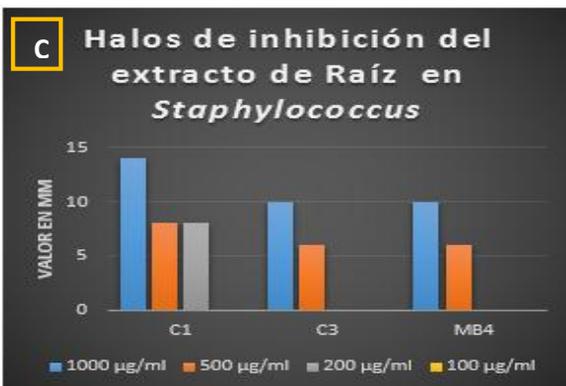
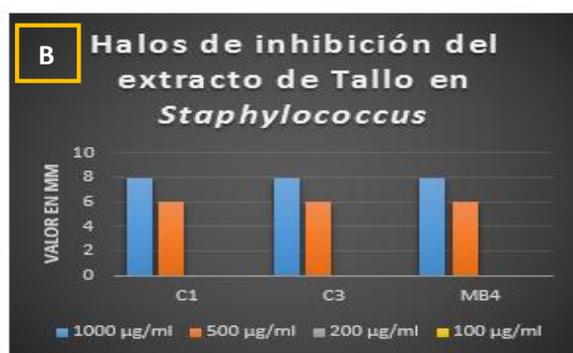
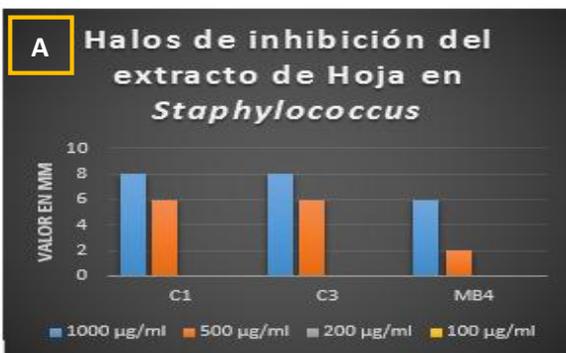


Figura 19. Actividad antibacteriana de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*. Frente a **MB4:** *Staphylococcus aureus*. Se evidencian halos de inhibición **A.** Tallo, **B.** Raíz, **C.** Lenteja de agua. Los extractos de hoja de *Eichhornia crassipes* presentaron contaminación por estructuras levaduriforme. **Fuente:** Autoras 2017.

Tabla 12. Actividad antibacteriana sobre Cepas del genero *Staphylococcus*

DIAMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm) <i>Staphylococcus</i>					
Extracto	Cepa	1000 µg/ml	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml
Hoja de <i>Eichhornia crassipes</i>	C1 <i>S. aureus</i> 35556	8 mm	6 mm	No inhibición	No inhibición
	C3 <i>S. epidermidis</i> 12228	8 mm	6 mm	No inhibición	No inhibición
	MB4 <i>Staphylococcus aureus</i>	6 mm	2 mm	No inhibición	No inhibición
Tallo de <i>Eichhornia crassipes</i>	C1 <i>S. aureus</i> 35556	8 mm	6 mm	No inhibición	No inhibición
	C3 <i>S. epidermidis</i> 12228	8 mm	6 mm	No inhibición	No inhibición
	MB4 <i>Staphylococcus aureus</i>	8 mm	6 mm	No inhibición	No inhibición
Raíz de <i>Eichhornia crassipes</i>	C1 <i>S. aureus</i> 35556	14 mm	8 mm	8 mm	No inhibición
	C3 <i>S. epidermidis</i> 12228	10 mm	6 mm	No inhibición	No inhibición
	MB4 <i>Staphylococcus aureus</i>	10 mm	6 mm	No inhibición	No inhibición
<i>Lemna gibba</i>	C1 <i>S. aureus</i> 35556	8 mm	6 mm	No inhibición	No inhibición
	C3 <i>S. epidermidis</i> 12228	8 mm	6 mm	No inhibición	No inhibición
	MB4 <i>Staphylococcus aureus</i>	6 mm	2 mm	No inhibición	No inhibición

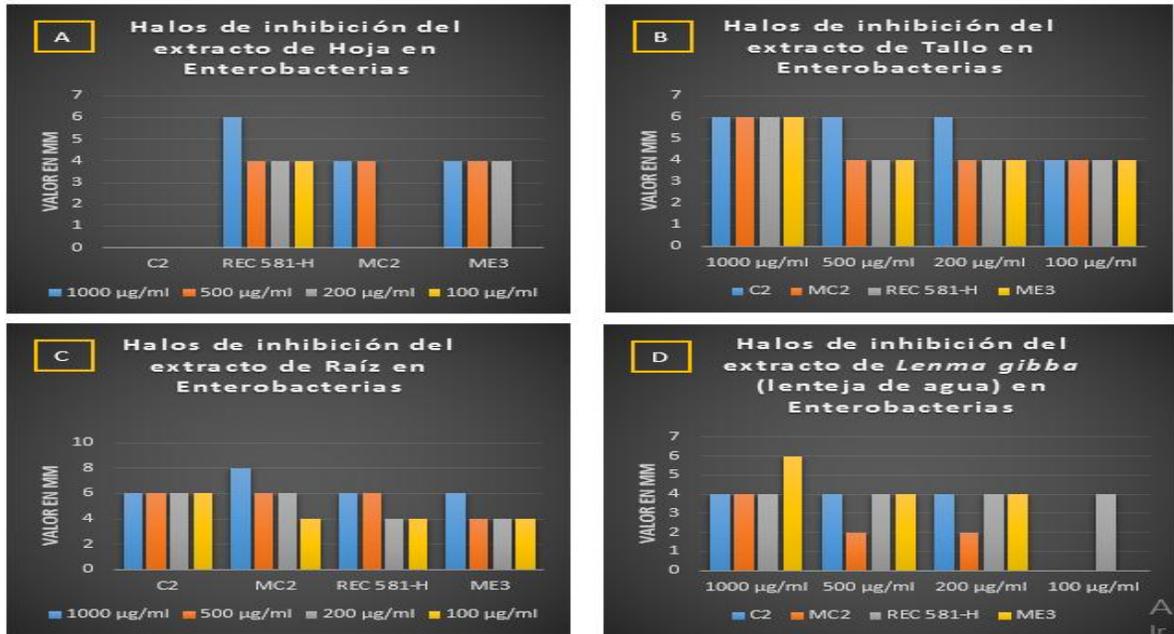


C1: *S. aureus* 35556. **C3:** *S. epidermidis* 12228. **MB4:** *Staphylococcus aureus*.

Figura 20. Relación del tamaño del halo en mm frente a las diferentes concentraciones de los extractos, en cepas del genero ***Staphylococcus***. **A.** Actividad antibacteriana de Extracto de hoja de *Eichhornia crassipes* frente a cepas del genero *Staphylococcus*. **B.** Actividad antibacteriana de Extracto de tallo de *Eichhornia crassipes* frente a cepas del genero *Staphylococcus*. **C.** Actividad antibacteriana de Extracto de raíz de *Eichhornia crassipes* frente a cepas del genero *Staphylococcus*. **D.** Actividad antibacteriana de Extracto de hoja de *Lemna gibba* frente a cepas del genero *Staphylococcus*.

Tabla 13. Actividad antibacteriana sobre Cepas de Enterobacterias.

DIAMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm) <i>Enterobacterias</i>					
Extracto	Cepa	1000 µg/ml	500 µg/ml	200 µg/ml	100 µg/ml
Hoja de <i>Eichhornia crassipes</i>	C2 <i>E. coli</i> 35218	No inhibición	No inhibición	No inhibición	No inhibición
	REC 581-H <i>E. coli</i>	6 mm	4 mm	4 mm	4 mm
	MC2 <i>E. coli</i> K88	4 mm	4 mm	No inhibición	No inhibición
	ME3 <i>Salmonella spp</i>	4 mm	4 mm	4 mm	No inhibición
Tallo de <i>Eichhornia crassipes</i>	C2 <i>E. coli</i> 35218	6 mm	6 mm	6 mm	4 mm
	REC 581-H <i>E. coli</i>	6 mm	4 mm	4 mm	4 mm
	MC2 <i>E. coli</i> K88	6 mm	4 mm	4 mm	4 mm
	ME3 <i>Salmonella spp</i>	6 mm	4 mm	4 mm	4 mm
Raíz de <i>Eichhornia crassipes</i>	C2 <i>E. coli</i> 35218	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
	REC 581-H <i>E. coli</i>	8 mm	6 mm	6 mm	4 mm
	MC2 <i>E. coli</i> K88	6 mm	6 mm	4 mm	4 mm
	ME3 <i>Salmonella spp</i>	6 mm	4 mm	4 mm	4 mm
<i>Lemna gibba</i>	C2 <i>E. coli</i> 35218	4 mm	4 mm	4 mm	No inhibición
	REC 581-H <i>E. coli</i>	4 mm	4 mm	4 mm	4 mm
	MC2 <i>E. coli</i> K88	4 mm	2 mm	2 mm	2 mm
	ME3 <i>Salmonella spp</i>	6 mm	4 mm	4 mm	No inhibición



C2: *E. coli* 35218. **REC 581-H:** *E. coli*. **MC2:** *E. coli* K88. **ME3:** *Salmonella* spp

Figura 21. Relación del tamaño del halo frente a las diferentes concentraciones de los extractos en cepas de **Enterobacterias**. **A.** Extracto de hoja *Eichhornia crassipes* **B.** Extracto de tallo de *Eichhornia crassipes*. **C.** Extracto de raíz de *Eichhornia crassipes* **D.** Extracto de hoja de *Lemna gibba*.

5.2.3 Método de dilución en microplaca

A continuación las figura 23 a la 29 muestran la CMI de los extractos de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*.

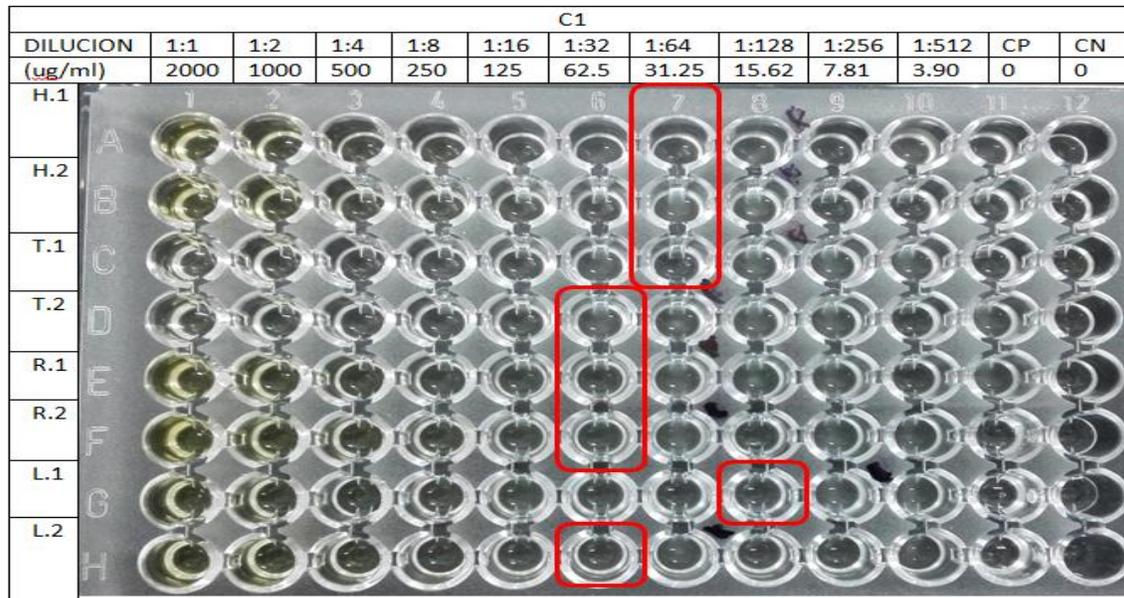


Figura 22. Microdilución en placa de extractos vs muestra *S. aureus* 35556 (C1), ensayo por duplicado. **Fuente:** Autoras 2017.

La actividad antibacteriana del extracto de hoja por duplicado (H1, H2) frente a la muestra se observa en la dilución 1:64, en la cual la concentración del extracto es de 31.25 $\mu\text{g/ml}$ siendo la concentración mínima inhibitoria (CMI). La actividad antibacteriana del extracto de tallo (T1) y (T2) se encuentra entre las diluciones 1:64 en una concentración de 31.25 $\mu\text{g/ml}$ y la dilución 1:32 en una concentración de 62.5 $\mu\text{g/ml}$. Los extractos de raíz (R1; R2) presentaron actividad antibacteriana en la dilución 1:32 a una concentración de 62.5 $\mu\text{g/ml}$ siendo esta la CMI. Los extractos de Lenteja (L1, L2) presentan actividad antibacteriana frente a la muestra entre las diluciones 1:128 y 1:64 respectivamente, en la cual la concentración del extracto es de entre 62,5 $\mu\text{g/ml}$ y 15.62 $\mu\text{g/ml}$ siendo la CMI.

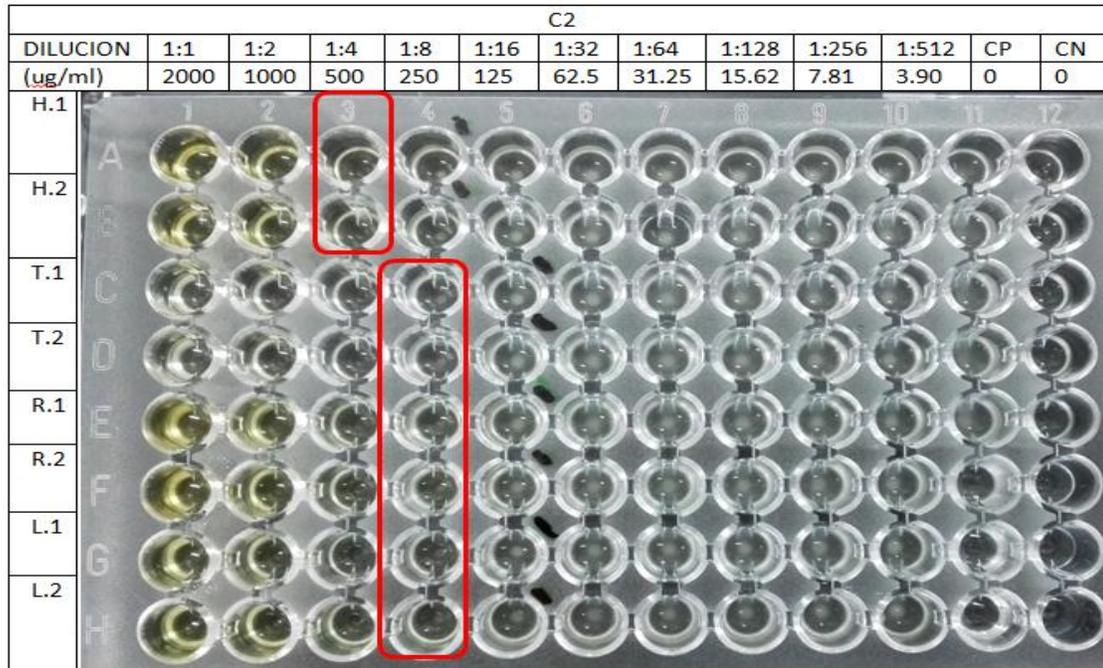


Figura 23. Microdilución en placa de extractos vs muestra *S. epidermidis* 12228 (C2), ensayo por duplicado. **Fuente:** Autoras 2017.

La actividad antibacteriana del extracto de hoja por duplicado (H1, H2) frente a la muestra se observa en la dilución 1:4, en la cual la concentración del extracto es de 500 $\mu\text{g/ml}$ siendo esta la concentración mínima inhibitoria (CMI). Los extractos de tallo (T1, T2); Raíz (R1,R2) Y Lenteja de agua presentaron actividad antibacteriana en la dilución 1:8 a la concentración de 250 $\mu\text{g/ml}$ siendo esta la CMI.

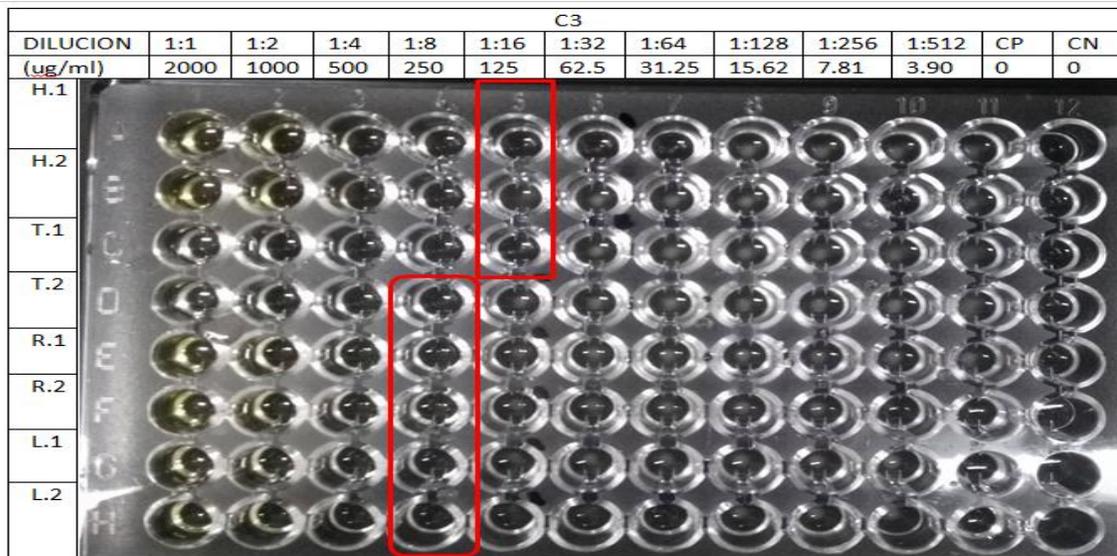


Figura 24. Microdilución en placa de extractos vs muestra *E. coli* 35218 (C3), ensayo por duplicado. **Fuente:** Autoras 2017.

La actividad antibacteriana del extracto de hoja por duplicado (H1, H2) frente a la muestra se observa en la dilución 1:16, en la cual la concentración del extracto es de 125 $\mu\text{g/ml}$ siendo esta la concentración mínima inhibitoria (CMI). La actividad antibacteriana del extracto de tallo (T1) y (T2) se observa entre las diluciones 1:16 a concentración de 125 $\mu\text{g/ml}$ y el la dilución 1:32 a una concentración de 62.5 $\mu\text{g/ml}$. (R1; R2; L1; L2) Los extractos de raíz y Lenteja de agua respectivamente por duplicado, frente a la muestra se observa en la dilución 1:8 en la cual la concentración del extracto es de 250 $\mu\text{g/ml}$ siendo esta la CMI.

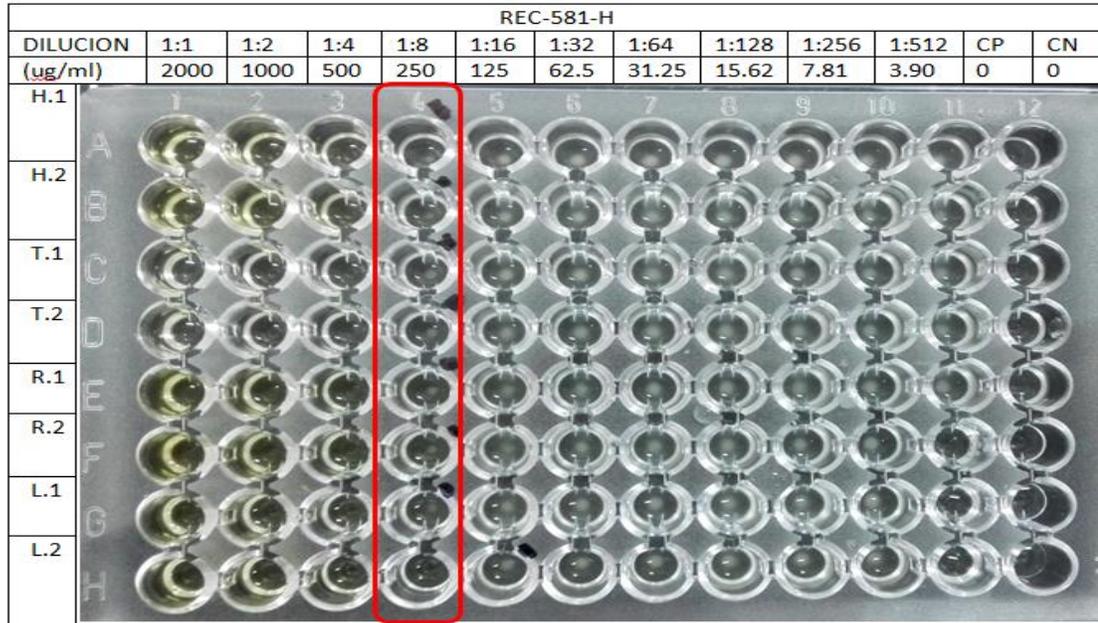


Figura 25. Microdilución en placa de extractos vs muestra *E. coli* (REC 581-H), ensayo por duplicado. **Fuente:** Autoras 2017.

La actividad antibacteriana de todos los extractos en la muestra, se observa hasta la dilución 1:8 en la cual la concentración por extracto es de 250 $\mu\text{g/ml}$ la cual se establece como la concentración mínima inhibitoria.

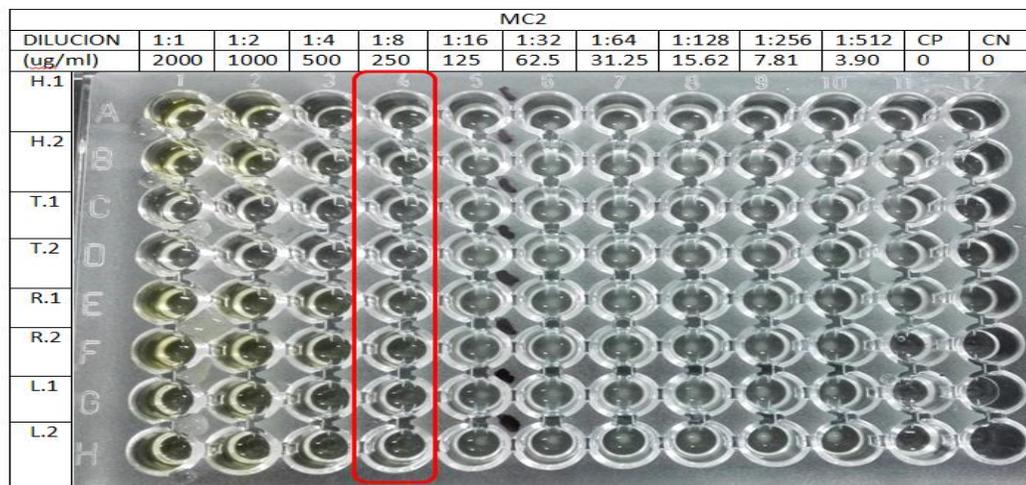


Figura 26. Microdilución en placa de extractos vs muestra *E. coli* (MC2), ensayo por duplicado. **Fuente:** Autoras 2017.

La actividad antibacteriana de todos los extractos en la muestra se observa hasta la dilución 1:8 en la cual la concentración por extracto es de 250 µg/ml la cual se establece como la concentración mínima inhibitoria.

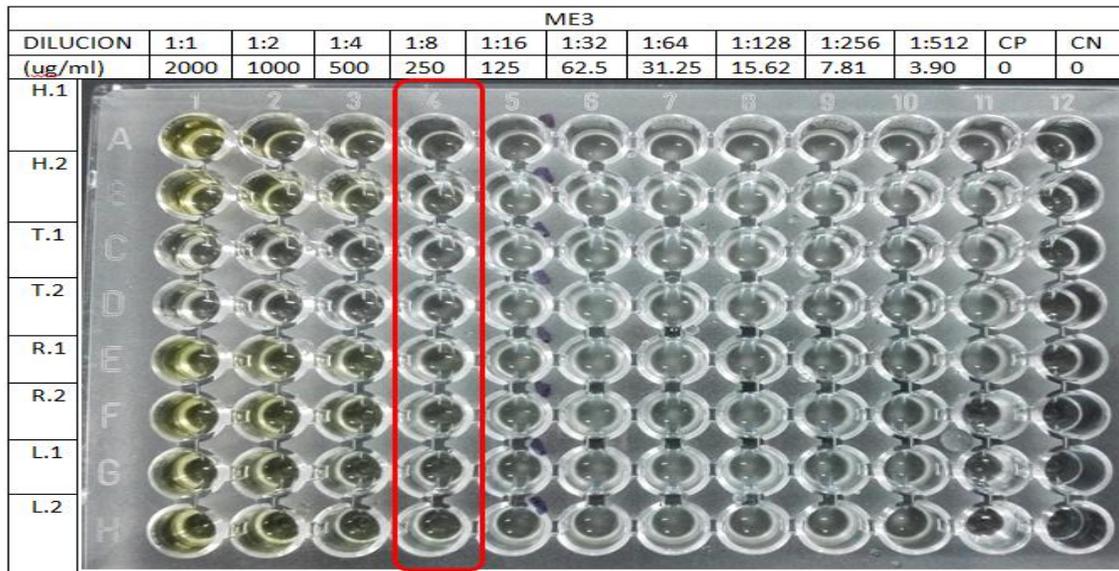


Figura 27. Microdilución en placa de extractos vs muestra *Salmonella* spp (ME3), ensayo por duplicado. **Fuente:** Autoras 2017.

La actividad antibacteriana de todos los extractos en la muestra se observa hasta la dilución 1:8 en la cual la concentración por extracto es de 250 µg/ml, estableciéndose como la concentración mínima inhibitoria.

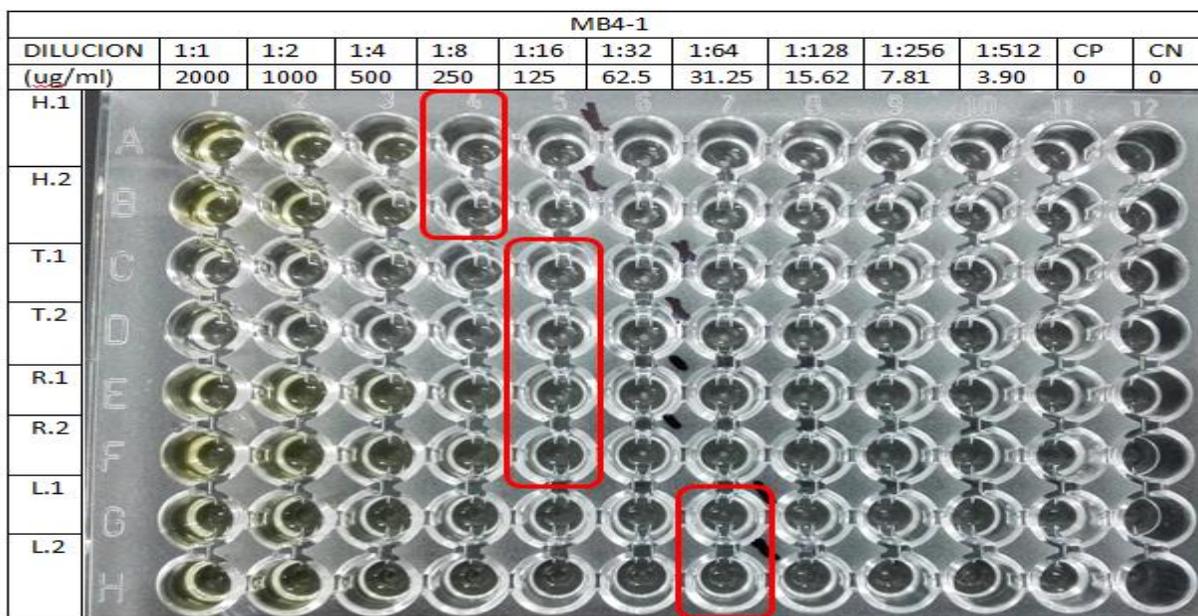


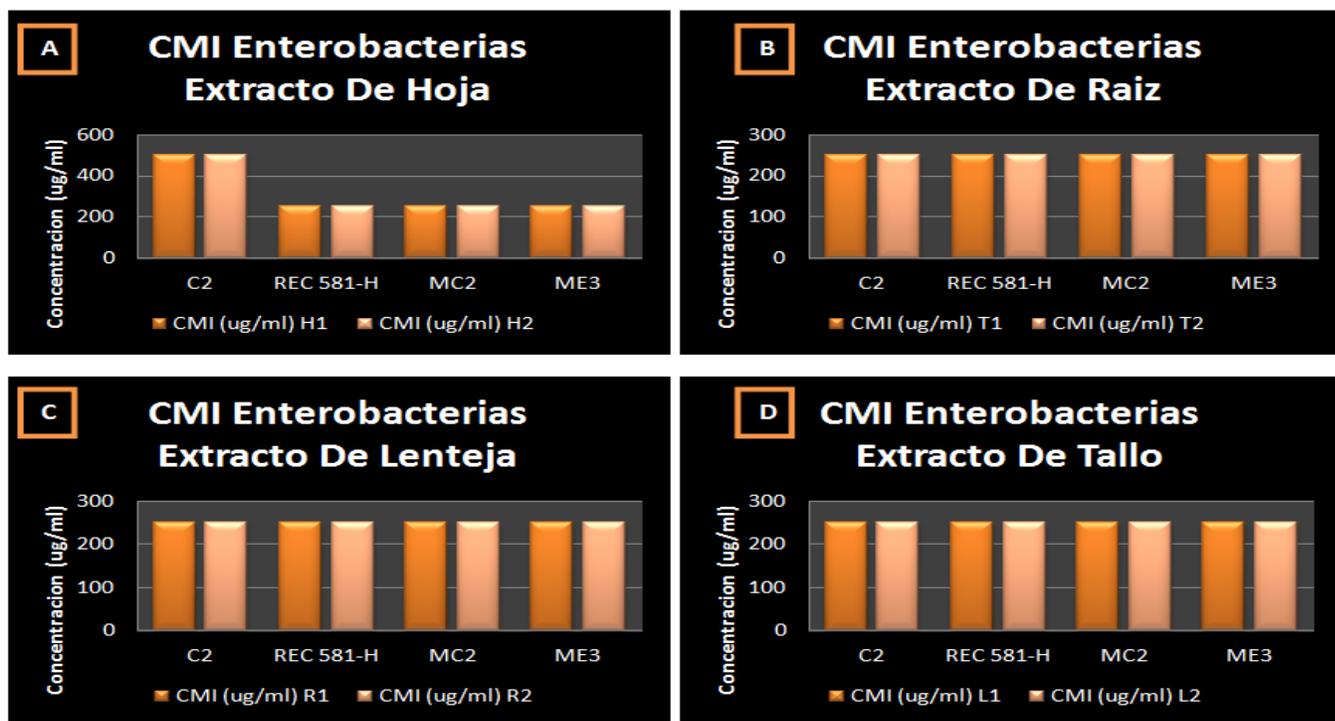
Figura 28. Microdilución en placa de extractos vs muestra *S. aureus* (MB4), ensayo por duplicado. **Fuente:** Autoras 2017.

La actividad antibacteriana del extracto de hoja por duplicado (H1, H2) frente a la muestra se observa en la dilución 1:8, en la cual la concentración del extracto es de 250 $\mu\text{g/ml}$ siendo esta la concentración mínima inhibitoria (CMI). La actividad antibacteriana del extracto de tallo (T1, T2) y extracto de raíz (R1, R2) frente a la muestra se observa en la dilución 1: 16 concentración de 125 $\mu\text{g/ml}$ siendo esta su CMI. Los extractos de Lenteja (L1, L2) presentan actividad antibacteriana frente a la muestra en la dilución 1:64 en la cual la concentración del extracto es de 31.25 $\mu\text{g/ml}$ siendo esta la CMI.

Tabla 14. Concentración mínima inhibitoria en $\mu\text{g/ml}$ por duplicado, de los extractos frente a las diferentes cepas bacterianas.

Bacteria	Extracto de partes vegetales del Buchón de agua CMI($\mu\text{g/ml}$)						Lenteja de agua CMI($\mu\text{g/ml}$)		Control de crecimiento	
	Hoja		Tallo		Raiz		Lenteja		POS	NEG
	Ensayo 1 (H1)	Ensayo 2 (H2)	Ensayo 1 (T1)	Ensayo 2 (T2)	Ensayo 1 (R1)	Ensayo 2 (R2)	Ensayo 1 (L1)	Ensayo 2 (L2)		
C1 <i>S. aureus</i> 35556	31,25	31,25	31,25	62,5	62,5	62,5	15,62	15,62	+	-
C2 <i>E. coli</i> 35218	500	500	250	250	250	250	250	250	+	-
C3 <i>S. epidermidis</i> 12228	125	125	125	250	250	250	250	250	+	-
REC 581-H <i>E. coli</i>	250	250	250	250	250	250	250	250	+	-
MC2 <i>E. coli</i> K88	250	250	250	250	250	250	250	250	+	-
ME3 <i>Salmonella</i> spp	250	250	250	250	250	250	250	250	+	-
MB4 <i>S. aureus</i>	250	250	125	125	125	125	31,25	31,25	+	-

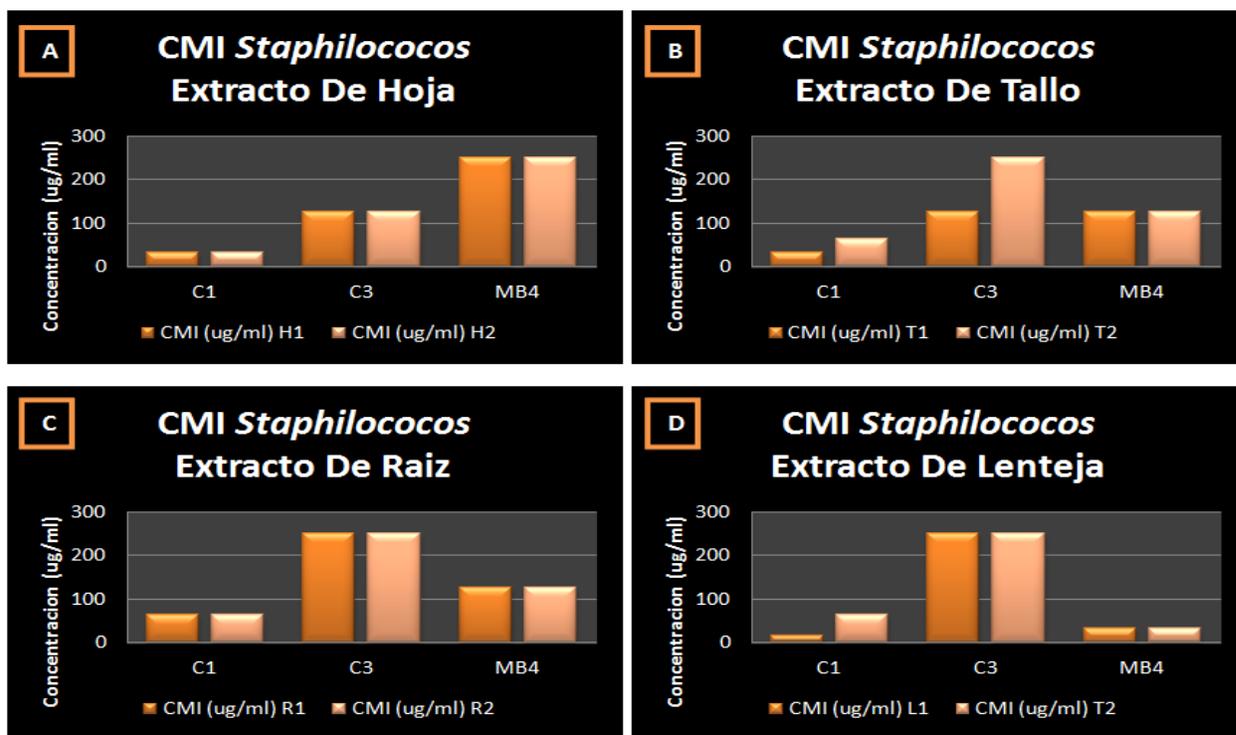
Crecimiento negativo (-); Crecimiento positivo (+).



C2: *E. coli* 35218. **REC 581-H:** *E. coli*. **MC2:** *E. coli* K88. **ME3:** *Salmonella* spp

Figura 29. Concentraciones mínimas inhibitorias del extracto de partes vegetales

pertencientes a *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* frente a las muestras de Enterobacterias. **Fuente:** Autoras 2017.



. **C1:** *S. aureus* 35556. **C3:** *S. epidermidis* 12228. **MB4:** *S. aureus*

Figura 30. Concentraciones mínimas inhibitorias del extracto de partes vegetales pertenecientes a *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* frente a las muestras del genero *Staphylococcus*.

6. DISCUSION

La resistencia bacteriana se ha convertido en una amenaza para la salud humana, veterinaria y vegetal, afectando los alimentos y el ambiente. En 1998, es reconocida por la Organización Mundial de la Salud, como una problemática de salud pública, dando así parámetros para prevenir la diseminación de microorganismos resistentes a los antibióticos (59,60). La Universidad Nacional de Colombia, determinó que el uso de antimicrobianos en animales de producción es uno de los factores determinantes que contribuyen a la aparición de resistencia bacteriana en humanos, indicando que se pueden presentar residuos de dichos tratamientos en los alimentos que se derivan de estos animales y no existe un reglamento, oficial sobre límites máximos en residuos de medicamentos veterinarios que puedan estar presentes en estos productos (61).

La resistencia de interés veterinario, está asociada a las pérdidas ganaderas y a los productos derivados de estos animales, es una de las áreas más importantes, paralelamente junto con la resistencia clínica y agrícola. Así la OMS, en la Asamblea Mundial de la Salud, en mayo del 2015, solicita la colaboración de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), para combatir la resistencia a los antibióticos. La FAO, en junio de 2015, adopta la Resolución 4 de 2015 sobre resistencia antimicrobiana, la cual reconoce que es una amenaza grave para la salud pública y la producción sostenible de alimentos (60).

Las alternativas naturales, disminuyen los residuos tóxicos de medicamentos nocivos para la salud que provienen de los alimentos cárnicos y derivados, lo que también genera una reducción en el consumo pasivo de antibióticos en productos de origen animal, lo que puede ser una de las causas en la aparición de resistencia bacteriana en humanos (58). Colombia, posee una gran biodiversidad de flora, esta ventaja promueve la búsqueda de nuevos compuestos naturales para el tratamiento antibacteriano de bacterias resistentes a los antibióticos comercializados en la actualidad.

Los resultados obtenidos en este proyecto, demuestran que después de haberse adaptado el protocolo, se observa que el origen de las plantas, la forma del secado, la técnica de separación (Soxhlet), y el disolvente seleccionado, intervienen en la recolección y rendimiento de los compuestos extraídos, que presentan actividad frente a un panel de bacterias y esto se pudo evidenciar mediante los métodos de difusión en agar por perforación y CMI por método de microdilución en placa.

Por lo anterior, se acepta la hipótesis planteada: “Los extractos de *E. crassipes* y *L. gibba*, presentan actividad antimicrobiana frente a un panel de bacterias patógenas en animales de producción.”

En base a la literatura revisada, las condiciones más adecuadas para la obtención de extractos de plantas, según Orozco (2004), es de gran importancia la recolección y selección de la planta a estudiar, según ella, se considera que entre mejor estado físico y peso de la especie, se conservarían mejor los compuestos a extraer; Referente a la forma de extracción, ella expuso el material molido con el solvente por 15 minutos a 8 rpm considerando como tiempo suficiente y por medio del rotaevaporador extrajo el compuesto analizar (62). A diferencia del protocolo que se implementó, se determina que no es de gran importancia el tamaño de la planta, sino la cantidad y conservación, por lo tanto, se demuestra que con el extracto de *Lemna gibba*, a pesar de no tener un gran tamaño y peso, la cantidad que se recolectó, permitió obtener una mayor porción de extracto, a comparación del obtenido por *Eichhornia crassipes*.

La manera de extracción según Henao y colaboradores (2009), compararon los solventes etér con el de hexano en la extracción de compuestos de la planta *Lippia*, ambos muy apolares, se encuentra que la presencia de metabolitos es la misma, que al implementar el método de extracción (Soxhlet o Percolación) no tiene influencia sobre la composición del extracto. Igualmente esto sucedió con los extractos etanólicos obtenidos por dos métodos (lixiviación y percolación), donde no hubo

diferencia en la composición de metabolitos secundarios (63), y se expone que cada vez se está mejorando las técnicas para extraer compuestos vegetales.

Bethzabé, (2014), considera que entre mayor tiempo se deje el solvente junto con la planta, mejor será la captación de los compuestos, y así se garantiza una gran concentración de metabolitos (64), esto contradice lo planteado por Orozco, indicando que el tiempo no es una variante en la captación de compuestos fitoquímicos cuando son expuestos al solvente. Cabe destacar, que al implementar solventes que atraen compuestos de diferente polaridad, según la revisión bibliográfica, se relaciona con la obtención de fitoquímicos como flavonoides, taninos, glicósidos, hidroquinonas que son compuestos polares, los Carotenoides y esteroides pertenecen a los compuestos apolares, siendo así relacionados en la capacidad antibacteriana de los extractos vegetales (63). Hay que tener en cuenta que las plantas recolectadas fueron de una fuente natural no contaminada y la presencia de impurezas durante la extracción, posiblemente interfirieron de alguna manera en la efectividad de la actividad de los extractos de *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*, al ser enfrentados con cepas bacterianas patógenas en animales.

La capacidad de metanol y diclorometano, permite la captación de compuestos de diversa polaridad, Pérez, Isaza y acosta (2007), acuerdan que el metanol, es un compuesto de mayor polaridad, por lo que permite que en el proceso de extracción puedan atraer metabolitos secundarios bioactivos, por otro lado la capacidad del el diclorometano para retener compuestos polares es un poco menor. Retomando el estudio por Bethzabé, (2014), describe que el rendimiento de diclorometano o cualquier otro, es determinado por el tiempo y temperatura en que se encuentra en contacto con la planta de estudio (64,65).

Según reporta el estudio de Kumar y colaboradores (2014), *Eichhornia crassipes*, tiene una acción citotóxica frente a células NCI-H322 asociadas al cáncer de pulmón y las T47D al cáncer de mama, por la presencia de flavonoides ya que actúan inhibiendo la expresión de p53 que puede llegar a la detención de las células

cancerosas en la fase G2-M del ciclo celular llegando a niveles casi indetectables en líneas celulares del cáncer (66), Así como tiene efecto citotóxico por sus componentes, se debe de tener en cuenta que las plantas en especial las macrófitas se caracterizan por absorber metales pesados llegando a ser tóxicos, pero se debe tener en cuenta la falta de estudios relacionados a la toxicidad de los extractos, sin embargo se han encontrado grandes beneficios como es el caso del Buchón de agua que se caracteriza por inhibir el efecto hepatotóxicos de ciertos medicamentos.

El trabajo realizado por Prieto (2016), resalta que *Eichhornia crassipes* y *Lemna minor* son capaces de bioacumular Hg en poco tiempo y el cloruro en concentraciones a 15000 ppm siendo sustancias toxicas (67). Cabe destacar que las plantas fueron obtenidas de fuentes contaminadas, a diferencia de las que se obtuvieron en el presente estudio, la cuales se recolectaron de un lugar con mínimo contacto humano y contaminación, pero falta indagar más a fondo los efectos que podrían causar en el ser humano al igual que la concentración de metales pesados que podrían estar acumulados en la biomasa.

A su vez otro estudio más profundo realizado también por Kumar y Pandey (2013), describen que los flavonoides tiene una actividad antimicrobiana frente a las Enterobacterias, debido a que pueden intercalar o formar un enlace de hidrógeno con el apilamiento de las bases de ácido nucleico y conducir a la inhibición de la síntesis de ADN, ARN y reducir la fluidez de la membrana de las células bacterianas (68). Referente a lo que plantean los investigadores, se comparó con los resultados obtenidos siendo notorio la actividad que se presentó en los patógenos a estudio, hubo un gran desempeño frente a las Enterobacterias pero solo en concentraciones mayores a los 250 µg/ml, lo contrario sucede en las bacterias de género *Staphylococcus* las que se presenta sensibilidad en pequeñas concentraciones .

Referente a *Lemna gibba*, se ha descrito que tiene capacidad antioxidante, antirradical y antimicrobiana, también posee compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales se identificaron como los responsables de la actividad antimicrobiana contra

Staphylococcus epidermidis, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria sicca*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* y *Streptococcus pneumoniae* entre otros (14).

La mayoría de los extractos mostró actividad antimicrobiana a diferentes concentraciones frente al panel de bacterias, a excepción del extracto de hoja frente a la cepa C2 (*E. coli* ATCC 35218), las recomendaciones para el control de calidad en bacteriología del instituto de salud pública de Chile, determina que esto puede deberse a una mayor resistencia de esta cepa a los componentes antimicrobianos del extracto, la cual posee β -lactamasa positiva codificada por plásmidos, TEM1 (no BLEE), esto explica de igual manera la resistencia de la cepa ATCC frente a ampicilina durante el ensayo de sensibilidad con antibióticos comerciales (69). Además de esto, se ha demostrado en otros estudios que el método de difusión en agar puede no presentar halo de inhibición, mientras que en la prueba de CMI se puede ver mejor la actividad antibacteriana frente al compuesto en estudio como sucedió en la investigación de Rojas y colaboradores (70).

El grupo de cepas de Enterobacterias patógenas, mostro de igual manera resistencia a la ampicilina, lo que puede indicar una sobre expresión de la β -lactamasa Ampc, presentes de forma natural en este género de bacterias. La sobreexpresión de β -lactamasa está descrita y relacionada a la resistencia a la ampicilina, antibiótico del grupo A, los cuales son usados de forma rutinaria en el tratamiento a Enterobacterias como se menciona en Famiglietti (2014). De igual manera tienen la capacidad de adquirir la β -lactamasa de plásmidos (71,72). En cuanto a la resistencia presentada por MC2 (*E. coli* K88) Y REC 581-H (*E. coli*) frente a los sensidiscos de gentamicina y amikacina respectivamente, se presenta como una discordancia debido a que ambos son del grupo de los aminoglucósidos, y su resistencia se ve relacionada con β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), la cual confiere resistencia a ambos antibióticos (72). Se considera que esta discordancia se debe a que las muestras son aislados microbiológicos y el número de pases durante este proceso pudo cambiar en

cierta medida las características de las cepas, durante el ensayo de sensibilidad con antibióticos comerciales se realizaron dos pases de las cepas, lo cual pudo relacionarse con este hecho, se establece por tal motivo que el resultado de estas resistencias no es significativo. Se controla esta variable tomando un único pase de los viales conservados anteriormente del panel de cepas para el resto de los ensayos.

Al separar las partes de *Eichhornia crassipes*, se obtuvo que la raíz presenta mejor actividad frente a bacterias que pertenecen al género *Staphylococcus*, con un halo de 10 a 14 mm, en el caso de las Enterobacterias, se observa que presenta un comportamiento similar en los diferentes extractos con halos desde 6 a 4mm. En el estudio de Cristian y colaboradores (2017), obtuvieron que el extracto obtenido de la hoja de la misma planta, presentó halo con un diámetro de 6 a 12,5 mm en bacteria del género *Staphylococcus*, en las Enterobacterias, el halo fue de 7 a 12,5 mm de diámetro en concentraciones desde 1000µg/ml a 125 µg/ml, esto se puede deber a diferentes variables entre el presente estudio y el anterior mencionado, como las condiciones ambientales y el grado de contaminación presenten en el lugar de donde fueron recolectadas las plantas, así como el método de recolección, la caracterización taxonómica de la misma, las propiedades de la planta y la técnica empleada en la extracción de los fitocompuestos, aun así se considera que los resultados obtenidos concuerdan en cuanto a la mayor actividad antibacteriana del extracto frente a las bacterias del género *Staphylococcus* (23).

Por otro lado, los extractos de *Lemna gibba*, empleando la técnica de difusión en agar, presentaron actividad a partir de concentraciones de 1000 ug/ml hasta la concentración de 500 µg/ml, en cepas pertenecientes al género *Staphylococcus*. En las Enterobacterias, a partir de concentraciones de 1000 ug/ml, se observaron halos de inhibición hasta 250 µg/ml, la investigación realizada por Torres y colaboradores (2016), muestra que los extractos de *Lemna gibba* por el método de Kirby-Bauer, frente a la cepa de *E. coli*, presentó un halo en promedio de 5.5 mm y la cepa de *S. aureus* mostró un halo de 6.5 mm, estos valores se encuentran similares a los que se obtuvieron en el presente estudio, esto se puede relacionar por la similaridad en la

metodología de ambos estudios, así como la relación con posibles fitoquímicos presentes en la planta (73).

La determinación de CMI se establece como el “Gold Standard” frente a otros métodos utilizados en sensibilidad antimicrobiana, debido a que es un método más sensible, cuantitativo y que se puede utilizar para la evaluación frente a diferentes compuestos y microorganismos (74). De igual manera la CLSI establece que las concentraciones de antimicrobianos deben prepararse superiores o iguales a 1000 mg/l por el método de dilución en caldo, esta concentración sería equivalente a 1000 ug/ml por método microdilución en placa, concentración de la cual se parte para realizar las diluciones y posterior evaluación (36). La técnica de microdilución en placa permite la utilización de mínimas cantidades de materiales siendo equivalente a la dilución en tubo y los resultados obtenidos fueron similares a los de difusión en agar.

Las muestras, control *Staphylococcus aureus* 35556 ATCC (C1), *Staphylococcus epidermidis* 12228 ATCC (C3) y muestra patógena de *Staphylococcus aureus* (MB4-1) presentan la mayor CMI frente a los diferentes extractos en comparación con las Enterobacterias. Aun así la actividad antimicrobiana de los extractos frente a las muestras de *Staphylococcus* presenta una gran variación dependiendo de cada cepa en contraste con los datos de CMI de las Enterobacterias. Las muestra C1 presenta la mayor sensibilidad con CMI respecto a las muestras C3 Y MB4-1, C1 Tiene CMI de 31.25 µg/ml, 62,5 µg/ml, 62,5 µg/ml y 15, 62 µg/ml en los extractos de hoja, tallo, raíz y lenteja de agua respectivamente. Así mismo el menor CIM frente alguno de los extractos lo presenta C1, frente a lenteja de agua con 15, 62µg/ml. Este resultado se puede comparar con el estudio de Torres 2016, en los cuales *Staphylococcus aureus* resulta ser más sensible que otras bacterias frente al extracto de lenteja de agua con un el menor CMI del estudio el cual está entre 28.2 a 7.06 µg/ml, lo cual muestra una actividad antibacteriana mayor de este tipo de extracto frente a la cepas de *Staphylococcus* (73).

Retomando lo mencionado al inicio de la discusión, estas plantas son estudiadas por su capacidad de acumular en su biomasa metales pesados, en este estudio se minimiza esta variable, siendo recolectándolas a partir de ambiente que aparentemente no se encuentra contaminado, según Marrero y colaboradores (2009), la diseminación de metales pesados en sedimentos superficiales y aguas subterráneas aún constituye un problema mundial y su solución es un reto para el saneamiento ambiental. Algunos metales pesados son nutrientes para las bacterias, pero en concentraciones micro o milimolares resultan tóxicos, ya que no son biodegradables siendo así una amenaza para todos los organismos (75). Se debe estudiar más a fondo, que interferencia puede crear estos metales en la utilización de estos extractos como posibles fármacos naturales en veterinaria, ya que los metales pesados tienen la capacidad de acumularse en los tejidos, llegando a generar un problema de salud pública en el consumo de los productos derivados de estos animales (23). Se recomienda en futuras investigaciones identificar los compuestos pertenecientes a los extractos para determinar cuál de ellos es el que presenta mejor actividad antibacteriana y si esos difieren según el hábitat de la planta, además la concentración de metales pesados que pueden bioacumular.

7. CONCLUSIONES

1. Se establece un Protocolo para la obtención de extractos orgánicos en las plantas macrófitas y se comprueba la actividad antibacteriana de las plantas *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba*.
2. Todos los extractos evaluados presentaron cierto grado de actividad antimicrobiana, el cual varió dentro del grupo de cepas *Staphylococcus* y el grupo de cepas de Enterobacterias.
3. Se evidenció mayor sensibilidad en las pruebas realizadas con *Staphylococcus*, especialmente en la cepa C1 por los dos métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana con los mayores halos de inhibición y los CMI más bajos de 31,25 µg/ml a 62,5 µg/ml en lo extractos de *Eichhornia crassipes* y 15, 62 en el extracto de *Lemna gibba*, lo que permite pensar que de este extracto puede llegar a ser una alternativa viable para el tratamiento de esta enfermedad en bovinos
4. Dentro de las cepas de Enterobacterias se mostró un comportamiento similar en la actividad antibacteriana de los extractos, lo que puede indicar que *Eichhornia crassipes* y *Lemna gibba* comparten ciertos fitoquímicos con actividad antibacteriana, que también podrían ser utilizados para este grupo de bacterias.

REFERENCIAS

1. Márquez Lara D. Residuos químicos en alimentos de origen animal: problemas y desafíos para la inocuidad alimentaria en Colombia [Internet]. Redalyc. 2008 [citado 7 Agosto del 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/4499/449945024014.pdf>
2. Jramillo M, Flores E. Fitorremediación mediante el usos de dos especies vegetales lemna minor (Lenteja de agua) y Echornia crassipes (jacinto de agua) en aguas residuales producto de la actividad minera [Pregrado]. Universidad politécnica salesiana sede cuenca; 2012.
3. Calderón A, Rodríguez V. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia) [Internet]. Aprendeonline.udea.edu.co. 2008 [citado 8 de Agosto del 2017]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902008000400006
4. Martínez Rocha A. Uso de antimicrobianos en la avicultura: sus implicaciones en la salud pública [Internet]. Bdigital.unal.edu.co. 2012 [citado el 11 Agosto del 2017]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/11429/>
5. Leal M. Antibacterial efficacy of plant extracts: clinical application in bovine MASTITIS [Internet]. scielo.org.co. 2014 [citado 27 Febrero 2017]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v17n1/v17n1a20.pdf>
6. De la Fuente-Salcido Norma Margarita, Villarreal-Prieto Jesús Ma., Díaz León Miguel Ángel, García Pérez Ada Patricia. Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. Rev. mex. cienc. farm [revista en la Internet]. 2015 Jun [citado 03 Mayo 2017]; 46(2):7-16. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952015000200007&lng=es
7. ESPERBENT, CECILIE, MIGLIORATI, MARIO, Bacterias multirresistentes: una amenaza oculta que crece. RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias [en línea] 2017, 43 (Abril-Sin mes) : [Fecha de consulta: 5 de marzo de 2018] Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86451165002>> ISSN 0325-8718
8. Ramírez N, Gaviria G, Arroyave O, Sierra B, Benjumea J. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. Rev Col Cienc Pec. 2001;14(1):76-87
9. Camino Yusimy, Almague R. I, Tolón N, Ramírez N. Uso del ácido acético en la prevención y tratamiento de la colibacilosis porcina. Revista Computadorizada de Producción Porcina. 2004;11(2):46-52.
10. Lozano M, Arias D. Residuos de fármacos en alimentos de origen animal: panorama actual en Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 2008;21(1):121-135
11. Departamento de Ciencias Animales, Università degli Studi di Milano Instituto

Cooperación Económica Internacional. El uso popular de las plantas medicinales en Uruguay. 1st ed. Uruguay: Lilia Grosso; 2010

12. Vivot E, Sánchez C, Cacik F, Sequin C. Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). *Ciencia, docencia y tecnología*. 2012;45(1):165 - 185
13. Shanab S, Shalaby E, Lightfoot D, El-Shemy H. Allelopathic Effects of Water Hyacinth [*Eichhornia crassipes*]. PLoS ONE [Internet]. 2010 [citado el 27 Marzo del 2017];5(10):e13200. Disponible en: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0013200>
14. Gülçin İ, Kireççi E, Akkemik E, Topal F, Hisar O. Antioxidant, antibacterial, and anticandidal activities of an aquatic plant: duckweed (*Lemna minor* L. Lemnaceae) [Internet]. 2010 [citado 27 Marzo 2017]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/285036697_Antioxidant_antibacterial_and_antican_didal_activities_of_an_aquatic_plant_Duckweed_Lemna_minor_L_Lemnaceae
15. Aldana Mejía J. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE FRACCIONES Y SUBFRACCIONES OBTENIDAS A PARTIR DE HOJAS DE *Elaeagia utilis* SOBRE *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Lactobacillus acidophilus* [Internet]. Bogotá; 2010 [citado 18 Agosto 2017]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis475.pdf>
16. Papadopoulos F, Tsihrintzis V, Zdragas A. Removal of faecal bacteria from septage by treating it in a full-scale duckweed-covered pond system. *Journal of Environmental Management* [Internet]. 2011 [citado 27 Marzo 2017];92(12):3130-3135. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.08.008>
17. Calderón Hernández J. Caracterización Fitoquímica, Actividad Antibacteriana Y Antioxidante De Extractos De Plantas Medicinales Utilizadas En Pereira Y Santa Rosa De Cabal (Risaralda) [Tecnología Química]. Universidad Tecnológica De Pereira; 2011.
18. Lalitha T, Jayanthi. Preliminary studies on phytochemicals and antimicrobial activity of solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *Asian Journal of Plant Science and Research*. 2012;2(2):155-122
19. Sánchez Villavicencio Mayra, González Márquez Humberto, Miranda Arce María Guadalupe. Proteínas de estrés en *Lemna gibba* (Lemnaceae) expuesta al boro. *Hidrobiológica* [revista en la Internet]. 2012 Dic [citado 2018 Marzo 08]; 22(3): 282-289. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972012000300009&lng=es.
20. Palma-Silva C, Albertoni E, Trindade C, Furlanetto L, Acosta M. Uso de *eichhornia crassipes* (mart.) solms para fitorremediação de ambientes eutrofizados subtropicales no sul do Brasil [Internet]. *Repositorio.furg.br*. 2012 [citado 6 Marzo 2018]. Disponible en: <http://repositorio.furg.br/handle/1/3173>
21. Gómez J, Evaluación de la Actividad Antimicrobiana del extracto de Anamú (*Petiveria*

alliacea) Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, 2014. 40-48

22. Azuero A, Jaramillo C, Martin D, Regnault H. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador / Analysis of antimicrobial effect of twelve medicinal plants of ancient use in Ecuador [Internet]. Ojs.unemi.edu.ec. 2016 [citado 18 Diciembre 2017]. Disponible en: <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/342>
23. Rodríguez C, Zarate A, Actividad Antimicrobiana In Vitro De Cuatro Variedades De Plantas Frente A Patógenos De Importancia Clínica En Colombia [pregrado]. Universidad colegio mayor de Cundinamarca.
24. Adolfo A, Pérez E, Carril U. Metabolismo secundario de plantas [Internet]. Disponible en: http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf
25. Rubio R. Desafíos de la Producción Agropecuaria [Internet]. Vet.unicen.edu.ar. 2015 [citado el 11 Agosto del 2017]. Disponible en: <http://www.vet.unicen.edu.ar/index.php/es/introduccion-produccion>
26. Chavez j. MASTITIS BOVINA: SU CONTROL Y PREVENCIÓN ES UNA TAREA PERMANENTE [Internet]. argentina; 2017 [citado 12 Agosto 2017]. Disponible en: http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/mastitis_bovina.htm.pdf
27. Perez Avila j. diarrea por colibacilosis en lechones en la etapa neonatal-posdestete. mexico: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narra; 2017 p. 4-9.
28. Dinev i. enfermedad de las aves [Internet]. 5m Publishin. 2014 [citado 12 Agosto 2017]. Disponible en: <http://www.elsitioavicola.com/publications/6/enfermedades-de-las-aves/243/infecciones-por-escherichia-coli/>
29. Salmonella (no tifoidea) [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2017 [citado 18 Diciembre 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/>
30. Staphylococcus Aureus [Internet]. candidiasisweb. 2018 [citado 18 Diciembre 2017]. Disponible en: <http://candidiasisweb.com/que-es/staphylococcus-aureus.php>
31. Estafilococo epidermidis [Internet]. YaSaludNoticias de Salud y Vida Sana. 2012 [citado 18 Diciembre 2017]. Disponible en: <http://yasalud.com/estafilococo-epidermidis/>
32. Pedraza arias p, Castellanos Rivera h. estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos in vitro [Internet]. Bogotá; 2009 [citado 18 Agosto 2017]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis326.pdf>
33. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2017 [citado 10 Agosto 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
34. Andrews J. Determination of minimum inhibitory concentrations. J. Antimicrob.

Chemother. 2002; 49(6):1049-1049.

35. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobials. 1999; M 26-A.

36. Picazo J. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [Internet]. 11th ed. Procedimientos en Microbiología Clínica; 2000 [citado 10 Agosto 2017]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>

37. Ramírez L, Castaño D. Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Scientia et Technica 2009; No 42: 263-268.

38. PEREZ M. Ficha de Eichhornia crassipes - Botánica Y Jardines [Internet]. Botánica Y Jardines. 2013 [citado 13 Marzo 2017]. Disponible en: <http://www.botanicayjardines.com/eichhornia-crassipes/>

39. SOLMS. vegetal h, perfil V. Usos de Eichhornia crassipes [Internet]. Histomorfologiaeichhorniacrassipes.blogspot.com.co. 2010 [citado 27 Febrero 2017]. Disponible en: <http://histomorfologiaeichhorniacrassipes.blogspot.com.co/2010/02/usos-de-eichhornia-crassipes.html>

40. Rial A. Plantas acuáticas: aspectos sobre su distribución geográfica, condición de maleza y usos [Internet]. Redalyc.org. 2013 [citado 18 Diciembre 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/491/49131094003.pdf>

41. Navarro A, Montoya C, Jaramillo D. EPM: 55 años dejando huella. Publicaciones EPM. 2010: 8-13

42. CANALES GUTIERREZ A. Evaluación de la biomasa y manejo de lemna gibba (Lenteja de agua) en la bahía interior del lago titicaca, puno [Internet]. 2010 [citado 12 Marzo 2017]. Disponible en: <http://www.cedesos.org/proyectillos/lenteja-agua.pdf>

43. RAMIREZ A. La Lenteja de Agua - Lemna - en el Lago de Maracaibo [Internet]. Studylib.es. 2004 [citado 13 Marzo 2017]. Disponible en: <http://studylib.es/doc/4718024/la-lenteja-de-agua---Lemna---en-el-lago-de-maracaibo>

44. Bentacour j, Galeano g, Aguirre j. flora de Colombia [Internet]. 24th ed. Bogotá: universidad nacional de Colombia; 2009 [citado 20 Agosto 2017]. Disponible en: <http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/content/icn/publicaciones/floradecolombia/fdc024.pdf>

45. Molur s. Lemna gibba [Internet]. REDLIST. 2017 [citado 18 Agosto 2017]. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org/details/summary/164103/0>

46. Arroyave M. la Lenteja de agua (Lemna minor L.): una planta acuática promisoría [Internet]. Scielo.org.co. 2004 [citado 19 Diciembre 2017]. Disponible en:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-12372004000100004

47. _ SAMPIETRO D. Alelopatía [Internet]. Biología.edu.ar. 2007 [citado 13 Marzo 2017]. Disponible en: <http://www.biologia.edu.ar/plantas/alelopatia.htm>

48. ZAPATA J. Patentabilidad de los extractos vegetales. Los lunes del centro de patentes. Universidad de Barcelona. 2002[internet] Disponible en: http://www.ub.edu/centredepatents/pdf/doc_dilluns_CP/pardo_patentesextractosplantas.pdf

49. Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales [Internet]. 12th ed. España: Universidad Politécnica de Madrid; 2006 [citado 6 Mayo 2018]. Disponible en: <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema12.pdf>

50. Gonzalez A. OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y EXTRACTOS ETANOLICOS DE PLANTAS DEL AMAZONAS [Internet]. Manizales: Universidad Nacional; 2004 [citado 6 Mayo 2018]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1173/1/angelaandreaagonzalezvilla.2004.pdf>

51. Técnicas Avanzadas en Química [Internet]. Determinación del contenido graso de leche en polvo: extracción soxhlet. 2005 [citado 13 Marzo 2017]. Disponible en: https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/TAQ/curso0405/TAQP5_0405.pdf

52. Marketizer.com Q. El uso de los rotavapores en los laboratorios | QuimiNet.com [Internet]. Quiminet.com. 2016 [citado 25 Agosto 2017]. Disponible en: <https://www.quiminet.com/articulos/el-uso-de-los-rotavapores-en-los-laboratorios-2648877.htm>

53. García J. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [Internet]. 11th ed. Juan J. Picazo; 2000 [citado 19 Diciembre 2017]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>

54. (Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test – Approved Standard – Element Edition. CLSI document M02 - A11. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.)

55. Manual De Actualización En Resistencia Bacteriana Y Normas Clsi M100 – S20 2010. [Internet]. Bogotá: Secretaria Distrital De Salud; 2010 [citado 19 Diciembre 2017]. Disponible en: http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/SiteCollectionDocuments/Manual_Resistencia_SDS_2010.pdf

56. Chaparro Pedraza A. Aislamiento e identificación de Metabolito secundarios de la cepa Nativa SPG 321 de Mucor circinelloides y evaluación de su actividad antimicrobiana [Magister]. Pontificia Universidad Javeriana; 2010.

57. Malbrán c. Metodo De Determinacion De Sensibilidad Antimicrobiana Por Dilucion [Internet]. 32nd ed. Clinical and laboratory standards institute; 2012 [citado 19 Diciembre

2017]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>

58. Navarrete Barragán N, Pita Ospina E. actividad in vitro de extractos etanólicos obtenidos de *Lantana camara L.*, *Petiveria alliacea L.* y *Lippia dulcis T.* frente a bacterias patógenas. Universidad colegio mayor de Cundinamarca;2017 [citado 18 Febrero 2018].

59. El Plan de acción de la FAO sobre la resistencia a los antimicrobianos 2016-2020 [Internet]. Fao.org. 2016 [citado 18 Febrero 2018]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/b-i5996s.pdf>

60. Panorama de la Resistencia Bacteriana en Colombia [Internet]. Saludcapital.gov.co. 2010 [citado 18 Febrero 2018]. Disponible en: <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Presentaciones%20Resistencia%20de%20la%20resistencia%20bacteriana.pdf>

61. Martínez Rocha A. Uso de antimicrobianos en la avicultura: sus implicaciones en la salud pública [Internet]. Bdigital.unal.edu.co. 2012 [citado el 11 Agosto del 2017]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/11429/>

62. Orozco M. Eleccion De Las Condiciones Más Adecuadas Para La Obtencion De Extractos De Plantas Superiores Con Actividad Sobre Una Cepa De Staphylococcus Aureus Resistente [Internet]. Universidad autonoma de nuevo león; 2004 [citado 14 Marzo 2018]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/6668/1/1080123958.PDF>

63. Henao J, Muñoz L, Padilla L, Giraldo G. Citar un sitio web - Cite This For Me [Internet]. Blade1.uniquindio.edu.co. 2009 [citado 7 Marzo 2018]. Disponible: http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/f4d9_n1918.pdf

64. Bethzabé S. Determinación de la actividad antimicrobiana de *Jungia rugosa* Less en extractos de n-hexano y diclorometano [pregrado]. universidad de cuenca; 2014

65. Perez J, Isaza G, Acosta S. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE PHENAX rugosus Y TABEBUIA chrysantha [Internet]. researchgate. 2007 [citado 15 Marzo 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/JORGE_ENRIQUE_PEREZ_CARDENAS/publication/284593023

66. Shashank K, Ramesh K, Astha D, Abhay K. P. In Vitro Antioxidant, Antibacterial, and Cytotoxic Activity and In Vivo Effect of Syngonium podophyllum and Eichhornia crassipes Leaf Extracts on Isoniazid Induced Oxidative Stress and Hepatic Markers [Internet]. BioMed Research International. 2014 [citado 10 Mayo 2018]. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/459452/citations/>

67. Pineda L. "Evaluación De Eichhornia Crassipes (Mart.) Solms. Y Lemna Minor (L.) Griff. Como Potenciales Especies Fitorremediadoras, De Aguas Contaminadas A Causa Del Faenamiento De Ganado Vacuno Y Porcino Del Camal Municipal Ubicado En El Barrio La Recta, Cantón El Pangui." [Internet]. Dspace.unl.edu.ec. 2016 [citado 9 Mayo 2018]. Disponible en: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/17599/1/Tesis->

- 68.** Shashank K, Abhay K. P. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview [Internet]. The Scientific World Journal. 2013 [citado 10 Mayo 2018]. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2013/162750/cta/>
- 69.** Araya I, Prat S, Ramírez V. Recomendaciones Para El Control De Calidad En Bacteriología: Estudio De Susceptibilidad Antimicrobiana Mediante Difusión Por Disco. [Internet]. Chile: Instituto de Salud Pública Ministerio de Salud; 2015 [citado 25 Febrero 2018]. Disponible en: http://www.ispch.cl/sites/default/files/Recomendacion_Contro_Calidad_Bacteriologia.pdf
- 70.** Rojas Gonzáles N, Del Castillo Paredes C. Actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* (paico), frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, mediante los métodos de difusión en agar y macrodilución. Iquitos - Perú - 2015 [Internet]. Repositorio.unapiquitos.edu.pe. 2015 [citado 24 de Febrero 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/3861>
- 71.** Famiglietti A, Quinteros M, Marin M, Vázquez M, Nicola F, Radice M et al. Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en Enterobacteriaceae [Internet]. Subcomisión de Antimicrobianos de SADEBAC, AAM y expertos invitados; 2014 [citado 24 Febrero 2018]. Disponible en: http://www.aam.org.ar/src/img_up/30072014.1.pdf
- 72.** Grünbaum F. Resistencia a aminoglucósidos en Enterobacteriaceae [Internet]. Ddd.uab.cat. 2011 [cited 10 May 2018]. Available from: <https://ddd.uab.cat/record/127250>
- 73.** Torres Y, Vargas C, Zamora P. Evaluación De La Actividad Antibacteriana Del Extracto De Lenteja De Agua (*Lemna gibba*) Con Tres Microorganismos De Importancia Clínica [pregrado]. Universidad colegio mayor de Cundinamarca; 2016.
- 74.** Ramirez L, Castaño D. Metodologías Para Evaluar In Vitro La Actividad Antibacteriana De Compuestos De Origen Vegetal [Internet]. [Http://Www.Redalyc.Org](http://www.redalyc.org). 2009 [citado 25 Febrero 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84916714049>
- 75.** Marrero J, Díaz A, Coto O. Mecanismos moleculares de resistencia a metales pesados en las bacterias y sus aplicaciones en la biorremediación [Internet]. 41st ed. Cuba: Revista CENIC Ciencias Biológicas; 2009 [citado 6 Mayo 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/1812/181221644010/>

ANEXOS

Anexo 1. Permiso de recolección del material vegetal para investigación


Libertad y Orden
República de Colombia
Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible

**AUTORIDAD NACIONAL DE LICENCIAS
AMBIENTALES
- ANLA -
RESOLUCIÓN N° 00321
(29 de marzo de 2017)**

"Por la cual se otorga un Permiso Marco de Recolección de Especímenes de Especies Silvestres de la Diversidad Biológica con Fines de Investigación Científica No Comercial, y se toman otras determinaciones"

**EL SUBDIRECTOR (E) DE INSTRUMENTOS, PERMISOS Y TRÁMITES
AMBIENTALES DE LA AUTORIDAD NACIONAL DE LICENCIAS
AMBIENTALES – ANLA**

En uso de las facultades conferidas en la Ley 99 de 1993, en el Decreto Ley 3573 del 27 de septiembre de 2011, el Decreto 1076 de 2015, la Resolución 1349 de 2015 y 0648 del 14 de junio del 2016, y

CONSIDERANDO:

Que mediante oficio radicado con número 2016037252-1-000 del 11 de julio de 2016, la UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA, identificada con NIT 800.144.829-9 y aprobación del Ministerio de Educación Nacional (SNIES) 1121 solicitó ante esta Autoridad Permiso Marco de Recolección de Especímenes de Especies Silvestres de la Diversidad Biológica con Fines de Investigación Científica no Comercial, para los programas académicos, las líneas de investigación, grupos de investigación e investigadores descritos en el formato único nacional de solicitud.

Que mediante oficio radicado con el número 2016042175-2-000 del 26 de julio de 2016, esta Autoridad requirió a la UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA, información complementaria, con el fin de dar inicio al trámite administrativo ambiental de Permiso Marco de Recolección de Especímenes de Especies Silvestres de la Diversidad Biológica con Fines de Investigación Científica no Comercial.

Que a través de los oficios radicados con los números 2016037252-1-001 y 2016043384-1-000 del 29 de julio de 2016, la Universidad dio respuesta al oficio referido en el párrafo anterior.

Que una vez revisada la documentación radicada con número 2016053469-2-000 del 29 de agosto de 2016, esta Autoridad solicitó nuevamente a la UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA complementar la información presentada, la cual fue allegada con número 2016062896-1-000 del 30 de septiembre de 2016.

Anexo 2. Hojas de vida de la *Staphylococcus aureus* ATCC 35556



COLECCIÓN DE CULTIVOS DE MICROORGANISMOS – CCM-UCMC
 UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
 FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
 PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLINICO
 LABORATORIO CENTRAL – AREA CEPARIO

SISTEMA DE DEPOSITO DE MICROORGANISMOS

FICHA DE IDENTIFICACIÓN

CODIGO 073

DATOS DEL DEPOSITANTE	
DEPOSITANTE	CARMEN ROSA GALLEGO
ENTIDAD A LA QUE PERTENECE	SECRETARIA DE SALUD BOGOTA
DIRECCIÓN	Calle 13 No 32-69
TELEFONO	3649090
E-MAIL	www.saludcapital.gov.co
FORMA DE ADQUISICIÓN	DONACIÓN POR CONVENIO

IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO	
MICROORGANISMO	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 35556
GENERO	<i>Staphylococcus</i>
ORIGEN – HABITAT	Cepas confirmadas por Secretaria de Salud Bogotá-Sección Microbiología
LOCALIZACIÓN GEOGRAFICA DEL AISLAMIENTO	Bogotá
FECHA / HORA DE AISLAMIENTO	2002
PROCEDIMIENTO INICIAL	Microorganismos a -70°C con subcultivo en Agar sangre
NIVEL DE SEGURIDAD	1
CONSERVACIÓN DEL MICROORGANISMO	-70°C y -180°C en nitrógeno líquido Caldo BHI con 10% de glicerol
PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE IDENTIFICACION	Aislamiento primario en A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa Baird Parker, Salado Manita.

FECHAS	TIPO DE CONFIRMACION	RESPONSABLE
Junio 2002	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal

Marzo 2003	Baird Parker, Salado Manita.	Elvira de Valderrama
Noviembre 2003	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2004	Baird Parker, Salado Manita.	Ligia Consuelo Sánchez Leal
junio 2005	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Abril 2006	Baird Parker, Salado Manita.	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Febrero 2007	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Diciembre 2008	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Octubre 2009	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2010	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Junio 2011	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Noviembre 2011	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Junio 2012	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Junio 2013	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Enero 2014	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2014	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal

FIRMA RESPONSABLES

DECANA FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

DOCENTE RESPONSABLE COLECCIÓN

Anexo 3. Hojas de vida de la *Escherichia coli* ATCC 35218



COLECCIÓN DE CULTIVOS DE MICROORGANISMOS – CCM-UCMC
UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLINICO
LABORATORIO CENTRAL – AREA CEPARIO

SISTEMA DE DEPOSITO DE MICROORGANISMOS
FICHA DE IDENTIFICACIÓN

CODIGO 002

DATOS DEL DEPOSITANTE	
DEPOSITANTE	CARMEN ROSA GALLEGO
ENTIDAD A LA QUE PERTENECE	SECRETARIA DE SALUD BOGOTA
DIRECCIÓN	Calle 13 No 32-69
TELEFONO	3649090
E-MAIL	www.saludcapital.gov.co
FORMA DE ADQUISICIÓN	DONACIÓN POR CONVENIO

IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO	
MICROORGANISMO	<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218
GENERO	<i>Escherichia</i>
ORIGEN – HABITAT	Cepa adquirida por Secretaria de Salud Bogotá-Sección Microbiología y donada al CCM-UCMC
LOCALIZACIÓN GEOGRAFICA DEL AISLAMIENTO	Bogotá
FECHA / HORA DE AISLAMIENTO	2002
PROCEDIMIENTO INICIAL	Microorganismos a -70°C con subcultivo en Agar McConkey
NIVEL DE SEGURIDAD	1
CONSERVACIÓN DEL MICROORGANISMO	-70°C y -180°C en nitrógeno líquido Caldo BHI con 10% de glicerol
PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE IDENTIFICACION	Aislamiento primario en Mac Conkey y EMB TSI, LIA, Citrato, fenilalanina, urea, motilidad, RMVP, fermentación de carbohidratos, deaminación de aminoácidos, reducción de nitratos Sistema rápido de identificación CRYSTAL

FECHAS		TIPO DE CONFIRMACION	RESPONSABLE
Junio 2002		Sistema rápido CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Marzo 2003		Pruebas Bioquímicas en tubo	Lucía Constanza Corrales

Noviembre 2003	Sistema rápido CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2004	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez Leal
junio 2005	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Abril 2006	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Febrero 2007	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Diciembre 2008	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Octubre 2009	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2010	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Junio 2011	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Abril 2012	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Enero 2013	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2013	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Enero 2014	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2014	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal

FIRMA RESPONSABLES

DECANA FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

DOCENTE RESPONSABLE COLECCIÓN

Anexo 4. Hoja de vida de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228



**COLECCIÓN DE CULTIVOS DE MICROORGANISMOS – CCM-UCMC
UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLINICO
LABORATORIO CENTRAL – AREA CEPARIO**

**SISTEMA DE DEPOSITO DE MICROORGANISMOS
FICHA DE IDENTIFICACIÓN**

CODIGO 078

DATOS DEL DEPOSITANTE	
DEPOSITANTE	Representante IMPEMEDICA LTDA
ENTIDAD A LA QUE PERTENECE	IMPEMEDICA LTDA
DIRECCIÓN	Cr 18 # 39 A-50
TELEFONO	2455922
E-MAIL	www.impe medica.com
FORMA DE ADQUISICIÓN	COMPRA

IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO	
MICROORGANISMO	Staphylococcus epidermidis ATCC 12228
GENERO	Staphylococcus
ORIGEN – HABITAT	Cepas confirmadas por IMPEMEDICA LTDA
LOCALIZACIÓN GEOGRAFICA DEL AISLAMIENTO	Bogotá
FECHA / HORA DE AISLAMIENTO	2005
PROCEDIMIENTO INICIAL	Microorganismos a -70°C con subcultivo en Agar sangre
NIVEL DE SEGURIDAD	1
CONSERVACIÓN DEL MICROORGANISMO	-70°C y -180°C en nitrógeno líquido Caldo BHI con 10% de glicerol
PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE IDENTIFICACION	Aislamiento primario en A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa Baird Parker, Salado Manita.

FECHAS	TIPO DE CONFIRMACION	RESPONSABLE
Abril 2006	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal

Febrero 2007	Baird Parker, Salado Manita.	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Diciembre 2008	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Octubre 2009	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2010	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Junio 2011	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Noviembre 2011	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Mayo 2012	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Junio 2013	Baird Parker, Salado Manita.	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Enero 2014	A. Sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2014	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal

FIRMA RESPONSABLES

DECANA FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

DOCENTE RESPONSABLE COLECCIÓN

Anexo 5. Hoja de vida de REC 581-H



**COLECCIÓN DE CULTIVOS DE MICROORGANISMOS – CCM-UCMC
UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLINICO
LABORATORIO CENTRAL – AREA CEPARIO**

**SISTEMA DE DEPOSITO DE MICROORGANISMOS
FICHA DE IDENTIFICACIÓN**

CODIGO 119

DATOS DEL DEPOSITANTE	
DEPOSITANTE	INCUBACOL
ENTIDAD A LA QUE PERTENECE	INCUBACOL
DIRECCIÓN	CI 37 14-60
TELEFONO	(57) 1 3382655
E-MAIL	http://incubacol.com.co
FORMA DE ADQUISICIÓN	DONACION

IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO	
MICROORGANISMO	Escherichia coli.
GENERO	Escherichia
ORIGEN – HABITAT	Cepas confirmadas por INCUBACOL
LOCALIZACIÓN GEOGRAFICA DEL AISLAMIENTO	Bogotá
FECHA / HORA DE AISLAMIENTO	2017
PROCEDIMIENTO INICIAL	Microorganismos a -70°C con subcultivo en Agar sangre
NIVEL DE SEGURIDAD	1
CONSERVACIÓN DEL MICROORGANISMO	-70°C y -180°C en nitrógeno líquido Caldo BHI con 10% de glicerol
PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE IDENTIFICACION	Aislamiento primario en a. MacConkey Pruebas bioquímicas

FECHAS	TIPO DE CONFIRMACION	RESPONSABLE

FIRMA RESPONSABLES

DECANA FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

DOCENTE RESPONSABLE COLECCIÓN

Anexo 6. Hoja de vida de *Escherichia coli* K 88



**COLECCIÓN DE CULTIVOS DE MICROORGANISMOS – CCM-UCMC
UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLINICO
LABORATORIO CENTRAL – AREA CEPARIO**

**SISTEMA DE DEPOSITO DE MICROORGANISMOS
FICHA DE IDENTIFICACIÓN**

CODIGO 010

DATOS DEL DEPOSITANTE	
DEPOSITANTE	ANGELA LORA
ENTIDAD A LA QUE PERTENECE	ICA
DIRECCIÓN	Carrera 41 # 17-8
TELEFONO	3323700
E-MAIL	www.ica.gov.co
FORMA DE ADQUISICIÓN	DONACIÓN POR CONVENIO

IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO	
MICROORGANISMO	Escherichia coli k88
GENERO	Escherichia
ORIGEN – HABITAT	Cepas confirmadas por ICA
LOCALIZACIÓN GEOGRAFICA DEL AISLAMIENTO	Bogotá
FECHA / HORA DE AISLAMIENTO	2002
PROCEDIMIENTO INICIAL	Microorganismos a –70°C con subcultivo en Agar McConkey
NIVEL DE SEGURIDAD	1
CONSERVACIÓN DEL MICROORGANISMO	-70°C y -180°C en nitrógeno líquido Caldo BHI con 10% de glicerol
PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE IDENTIFICACION	Pruebas bioquímicas en tubo y sistema rápido BBL CRYSTAL

FECHAS	TIPO DE CONFIRMACION	RESPONSABLE
Junio 2000	Pruebas Bioquímicas en tubo	Guillermina Ocampo
Noviembre 2001	Pruebas Bioquímicas en tubo	Ruth Sánchez
Junio 2002	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Marzo 2003	Pruebas Bioquímicas en tubo	Lucía Constanza Corrales
Noviembre 2003	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2004	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez Leal
junio 2005	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez Leal

Abril 2006	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Febrero 2007	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Diciembre 2008	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Octubre 2009	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2010	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Junio 2011	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Junio 2012	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Junio 2013	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Enero 2014	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2014	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal

FIRMA RESPONSABLES

DECANA FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

DOCENTE RESPONSABLE COLECCIÓN

Anexo 7. Hoja de vida de *salmonella spp*



**COLECCIÓN DE CULTIVOS DE MICROORGANISMOS – CCM-UCMC
UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLINICO
LABORATORIO CENTRAL – AREA CEPARIO**

**SISTEMA DE DEPOSITO DE MICROORGANISMOS
FICHA DE IDENTIFICACIÓN**

CODIGO 022

DATOS DEL DEPOSITANTE	
DEPOSITANTE	ANGELA LORA
ENTIDAD A LA QUE PERTENECE	ICA
DIRECCIÓN	Carrera 41 # 17-8
TELEFONO	3323700
E-MAIL	www.ica.gov.co
FORMA DE ADQUISICIÓN	DONACIÓN POR CONVENIO

IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO	
MICROORGANISMO	Salmonella spp
GENERO	Salmonella
ORIGEN – HABITAT	Cepas confirmadas por ICA. Lagos
LOCALIZACIÓN GEOGRAFICA DEL AISLAMIENTO	Bogotá
FECHA / HORA DE AISLAMIENTO	2001
PROCEDIMIENTO INICIAL	Microorganismos con subcultivo en Agar McConkey
NIVEL DE SEGURIDAD	1
CONSERVACIÓN DEL MICROORGANISMO	-70°C y -180°C en nitrógeno líquido Caldo BHI con 10% de glicerol
PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE IDENTIFICACION	Pruebas bioquímicas en tubo y sistema rápido BBL CRYSTAL

FECHAS	TIPO DE CONFIRMACION	RESPONSABLE
Junio 2002	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez
Marzo 2003	Pruebas Bioquímicas en tubo	Lucía Constanza Corrales
Noviembre 2003	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez
Agosto 2004	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez
junio 2005	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez
Abril 2006	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez
Febrero 2007	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez

Diciembre 2008	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez
Octubre 2009	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez
Agosto 2010	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sánchez
Junio 2011	Pruebas bioquímicas en Tubo	Ligia Consuelo Sanchez
Junio 2012	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez
Junio 2013	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sanchez
Enero 2014	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal
Agosto 2014	Sistema rápido BBL CRYSTAL	Ligia Consuelo Sánchez Leal

FIRMA RESPONSABLES

DECANA FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

DOCENTE RESPONSABLE COLECCIÓN

Anexo 8. Hoja de vida de *staphylococcus aureus*



**COLECCIÓN DE CULTIVOS DE MICROORGANISMOS – CCM-UCMC
UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLINICO
LABORATORIO CENTRAL – AREA CEPARIO**

**SISTEMA DE DEPOSITO DE MICROORGANISMOS
FICHA DE IDENTIFICACIÓN**

CODIGO 119

DATOS DEL DEPOSITANTE	
DEPOSITANTE	MUESTRA DIRECTA
ENTIDAD A LA QUE PERTENECE	MUESTRA DIRECTA
DIRECCIÓN	
TELEFONO	
E-MAIL	
FORMA DE ADQUISICIÓN	MUESTRA DIRECTA

IDENTIFICACIÓN DEL MICROORGANISMO	
MICROORGANISMO	Staphylococcus aureus
GENERO	Staphylococcus
ORIGEN – HABITAT	Cepas confirmadas por CEPARIUM
LOCALIZACIÓN GEOGRAFICA DEL AISLAMIENTO	Cundinamarca
FECHA / HORA DE AISLAMIENTO	2017
PROCEDIMIENTO INICIAL	Microorganismos a 22C en medio de transporte
NIVEL DE SEGURIDAD	1
CONSERVACIÓN DEL MICROORGANISMO	-70°C y -180°C en nitrógeno líquido Caldo BHI con 10% de glicerol
PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE IDENTIFICACION	Aislamiento primario en A. sangre, Catalasa, Coagulasa, Dnasa Pruebas bioquímicas

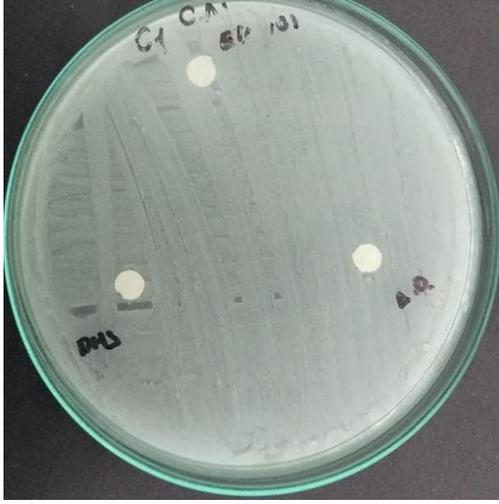
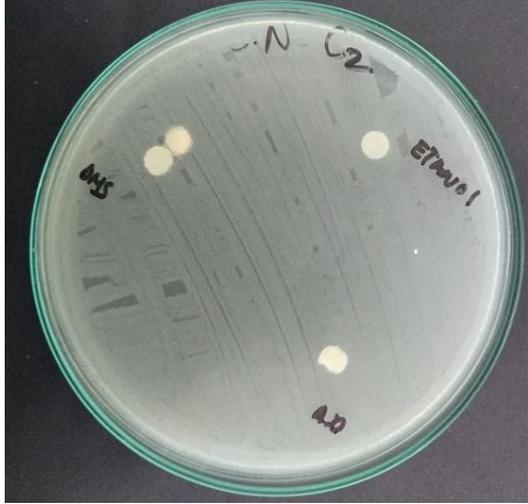
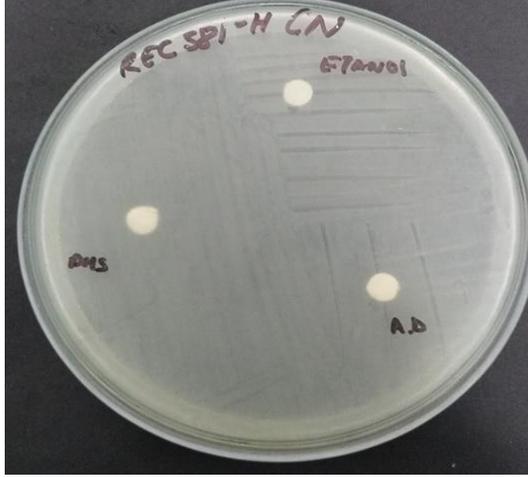
FECHAS	TIPO DE CONFIRMACION	RESPONSABLE

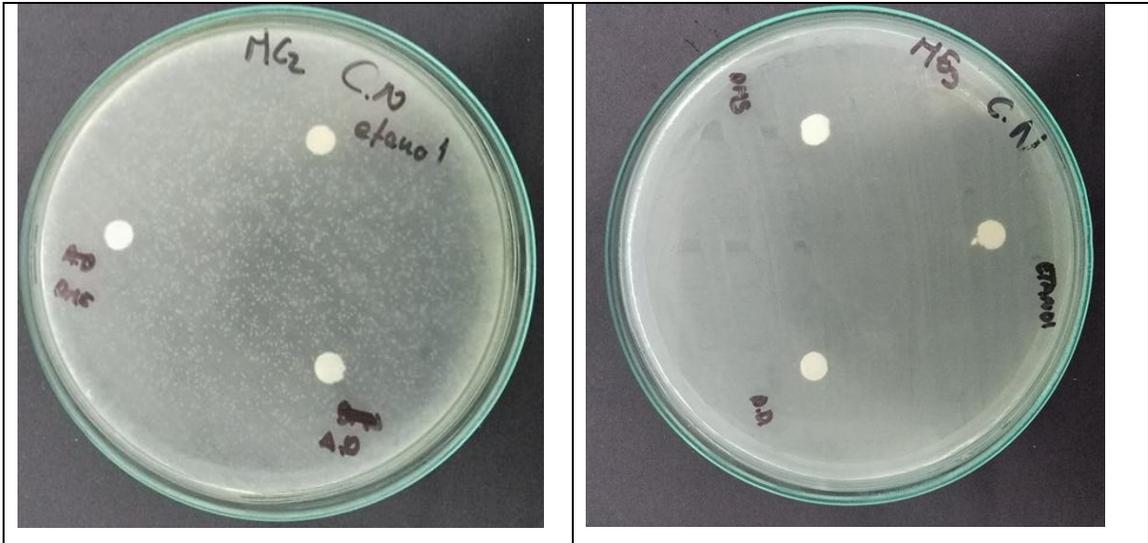
FIRMA RESPONSABLES

DECANA FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

DOCENTE RESPONSABLE COLECCIÓN

Anexo 9. Prueba control del disolvente dimetilsulfóxido.

<p>C1. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 35556</p>	<p>C2 <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218</p>
	
<p>C3 <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228</p>	<p>REC 581-H <i>Escherichia coli</i></p>
	
<p>MC2 <i>Escherichia coli</i> K 88</p>	<p>ME3 <i>salmonella</i> spp</p>



MB4 *staphylococcus aureus*



Etanol: al 70 %

DMS: dimetilsulfóxido

A.D: Agua destilada

Cada sensidisco está impregnado con
60 µg de cada solución

Todos los controles del solvente fueron equivalentes al control negativo con agua destilada, no se obtuvo ningún grado de afectación de DMS (dimetilsulfóxido) se considera como inocuo para las bacterias a las cuales se les enfrento.