


**NOVA Publicación Científica  
en Ciencias Biomédicas**

Volúmen 19 Número 36

<b>Objetivo</b>	Difundir trabajos originales e inéditos que contribuyan a ampliar los conocimientos en las ciencias biomédicas	
<b>Ámbito temático</b>	Ciencias biológicas y ciencias médicas	
<b>Público objetivo</b>	Investigadores y especialistas en el área biomédica	
<b>Periodicidad</b>	Publicación semestral; enero-junio; julio-diciembre	
<b>Indizada en</b>	Publindex - B Scielo REDALYC	
<b>Registrada en Bases de Datos Académicos</b>	LILACS de la plataforma BIREME E-revistas EBSCO Fuente Académica Actualidad Iberoamericana	LATINDEX Informe Mediclatina IMBIOMED Index Copernicus
	NOVA está licenciada con creative Commons	
<b>Registro ISSN</b>	17942470	
<b>Dirección postal</b>	Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca-UNICOLMAYOR Calle 28 No 5B-02 Bogotá, D.C-Colombia Universidad Nacional Abierta y a Distancia- UNAD- Sede Nacional. Calle 14 Sur No 14-23 Bogotá, D.C- Colombia	
<b>Dirección electrónica</b>	<a href="http://www.unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/">http://www.unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/</a>	
<b>Teléfonos</b>	UNICOLMAYOR: (+57)1 2418800 Ext 132-133 UNAD: (+57)1 3443700	

# NOVA en OJS

La revista *NOVA* entra a ser parte de las publicaciones científicas de *Acceso Abierto* por medio del sistema de administración y publicación de revistas y documentos periódicos en internet *Open Journal System -OJS-*. Este sistema está diseñado para reducir el tiempo y energías dedicadas al manejo exhaustivo de las tareas que involucra la edición de una publicación seriada, permitiendo un manejo eficiente y unificado del proceso editorial. Con esto se busca acelerar el acceso en la difusión de contenidos e investigaciones científicas producidas dentro y fuera de la universidad en los temas relacionados con las ciencias biomédicas.

OJS, es un software desarrollado por Public Knowledge Project – PKP- de la Facultad de Educación de la University of British Columbia, utilizado ahora por la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, dentro de un proceso liderado, con el apoyo de la oficina de investigaciones, por la editora de la revista *NOVA* Olga Lucía Ostos y el ingeniero Camilo Andrés Angulo Muñoz -diseñador, y gestor de la plataforma y editor de textos en formato HTML y EPUB-. En el siguiente enlace podrán tener acceso a la plataforma *Open Journal System* de *NOVA* y a los documentos en PDF, HTML y EPUB allí disponibles, así mismo, encontrarán las normas para los autores, la sección de registro, donde los autores pueden inscribirse para hacer envío de sus artículos, y las bases e índices bibliográficos a las que pertenece la revista.  
<http://unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/>



<b>Editora</b>	Olga Lucía Ostos Ortiz Bsc, Msc, MPA.
<b>Editor Asociado</b>	Helena Frayle Salamanca, Msc.
<b>Asistente Editorial</b>	Douglas Niño, Dr. Johanna Lizeth González Devia, Msc.
<b>Open Journal System</b>	Carlos Alberto Rodríguez Sánchez, Msc.
<b>Comité Editorial</b>	

- Luis Alejandro Barrera**  
PhD en Bioquímica, Magister en Ciencias,  
Director Instituto de Errores Innatos del Metabolismo Pontificia Universidad Javeriana.
- Julio Delgado**  
PhD. Director de la Escuela de Biotecnología.  
Universidad de San Martín de Panamá.
- Luis Alberto Gómez Grosso**  
PhD. Director Laboratorio de Fisiología Molecular Instituto Nacional de Salud.
- Genoveva Keyeux**  
Doctorado en Biologie Moléculaire Cellulaire Et Biochimie, Magister en Deuxième Licence En Sciences Equivalencia Dea.  
Docente- Investigador Universidad Nacional de Colombia.
- Manuel Alfonso Patarroyo**  
Doctorado en Química con énfasis en Bioquímica. Investigador Fundación Instituto de inmunología de Colombia FIDIC.
- Raul Poutou Piñales**  
Doctorado en Ciencias Biológicas, Magister en Microbiología, Profesor Asociado Pontificia Universidad Javeriana.
- Hugo Hernando Vega Fajardo**  
Doctorado en Ciencias Médicas, MD, Magister en Genética Humana,  
Profesor Universidad Nacional de Colombia.
- Joaquín Benavides López De Mesa**  
Biólogo, Magister en Microbiología.  
Docente Investigador Universidad de la Salle.

- Orlando Acosta Losada**  
MD, Magister en Genética Humana, PhD en Virología Molecular. Profesor Asociado Universidad Nacional de Colombia.
- Moises Wasserman**  
PhD en Bioquímica. Rector de la Universidad Nacional de Colombia,  
Director del Laboratorio de Investigaciones Básicas en Bioquímica LIBIQ  
Universidad Nacional de Colombia.
- Hugo Mendieta Zerón**  
Doctor en Endocrinología.  
Universidad Autónoma del Estado de México. México.
- Magnolia Matilde Correa Muñoz**  
Doctor en Ciencias (Biotecnología).  
Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de Baja California, México.
- Andrés Felipe López Gerena**  
Biólogo, Master en Monitorización de Ensayos Clínicos. Colegio Oficial de Médicos de Barcelona. Barcelona, España
- Maria Jesus Tuñon González**  
Bióloga y doctora del departamento de Ciencias Biológicas e Instituto de Biomedicina, Universidad de León. España
- Javier del Angel Caraza**  
Doctor en Medicina y Cirugía Animal  
Universidad Autónoma del Estado de México
- Oscar Orlando Bernal Parra**  
Doctor en Ciencias  
Universidad de California, Riverside

## Observaciones y recomendaciones al estudio: Revistas Publindex de Ciencias Naturales: retos y perspectivas desde la bibliometría

Oskarly Pérez Anaya<sup>1</sup>, Jorge Homero Wilches Visbal<sup>2</sup>

### Señora Editora:

Con este escrito se pretende dar a conocer algunas observaciones y recomendaciones después de la lectura del manuscrito titulado: *Revistas Publindex de Ciencias Naturales: retos y perspectivas desde la bibliometría*, de autoría de Corchuelo Rodríguez *et al* (1) publicado en el número 34, volumen 18, del año 2020 de esta prestigiosa Revista. Los comentarios se listan y explican a continuación:

En el ítem criterios de inclusión, en Materiales y Métodos, se menciona que: *Se consideraron las revistas registradas en la base de datos de Publindex en la gran área de conocimiento “Ciencias Naturales”*, es decir, se da a entender que se tomaron todas las revistas que aparecen allí desde que se inició Publindex en 2003 (2). Si lo anterior es correcto, las revistas que allí aparecen son 78, no 68 como se ha mencionado, lo cual inicialmente puede suponerse como un error de digitación. Sin embargo, al observar la Figura 1, se muestra exactamente el mismo número de revistas en mención (68). Incluso, en la Tabla 3 no aparece la revista *Hechos Microbiológicos* que cumple con el criterio exclusión; por otra parte, la revista *Intropica*, que, por el contrario, sí cumple con el criterio de inclusión, no fue incluida en la Tabla 5, entre otras que se pueden vislumbrar si se revisa el registro histórico de Publindex.

Otro punto para destacar es referente a la revista *Boletín Científico Centro de Museos de Historia Natural*: se indica que es categoría A1 en Publindex para 2020, por homologarse a Q2 en Scimago, dándose a entender que: A1 es Q2 en Scimago. Sin embargo, esto puede confundir al lector, ya que le hace creer que A1 de Publindex equivale a Q2 de Scimago. Presumiblemente, esto podría ser considerado un problema de estilo. No obstante, si se revisa el cuartil de esta revista en Scimago se encuentra que fue Q2 para los años 2018 y 2019,

---

1. Docente. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Magdalena.  
Correo electrónico: oskperez123@gmail.com  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0701-7847>

2. Docente. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Magdalena.  
Correo electrónico: jhwilchev@gmail.com  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3649-5079>

pero Publindex la categoriza como A1 en 2020. Esto va en contravía de lo que plantea el Modelo de Clasificación de Revistas que señala que para alcanzar la categoría A1 se requiere que la revista se ubique en el cuartil uno (Q1) del Journal Citation Report (JCR) o del Scimago Journal Report (SJR) (3), lo cual también se menciona, acertadamente, en la Tabla 8 de la sección Resultados. Debió hacerse mención especial al respeto o aclarar esta disparidad, toda vez que, por principio, denota una clasificación espuria de Publindex para tal revista.

Siguiendo con las observaciones, en Materiales y Métodos se expresa que, para la búsqueda de los artículos de las revistas que fueron objeto de estudio, se empleó Google Scholar, que a pesar de ser uno de los tres sistemas de citas más grande, junto con WoS y Scopus, y con la ventaja de su mayor tamaño y el hecho fundamental de ser de acceso gratuito, no debe usarse en estudios bibliométricos, y más en aquellos que tengan una finalidad evaluativa (4). Esto fue sustentado ampliamente en el estudio de Delgado-López y Martín-Martín (5), donde se demostró que en el periodo 2012 - 2016, las revistas españolas en Google Scholar se redujeron en casi un 50%, pasando de 1101 a 599. Así, lo más conveniente habría sido el uso de las páginas web oficiales de las revistas, porque de estas se alimenta Google Scholar y muestran con exactitud lo que han publicado cada una de ellas, reduciendo significativamente el error que trae inmerso dicho buscador académico.

En ese sentido, el uso de la herramienta Publish or Perish (PoP), debe hacerse con cierta cautela, ya que su resultado no es del todo confiable, puesto que duplica los artículos de las revistas, y por ende las citas, de tres formas: variedad de formatos de edición (PDF, XML, HTML, etc) en las revistas, idiomas en que se publica un mismo artículo y las bases, índices, páginas o repositorios donde se aloja un artículo, que pueden ser más de uno. Tampoco se hace mención detallada de cómo se filtraron las citas, que va en la misma línea de lo antes descrito. Finalmente, cabe añadir que PoP, por servirse de Google Scholar, sigue contando las citas de algunas publicaciones a pesar de que el documento ya no siga en la web.

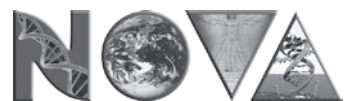
---

## Referencias

1. Corchuelo Rodríguez CA, González Devia JL, Pineda Ríos W, Garnica Posada LC, Patacón Ruíz IP, Millán Ramírez MA. Revistas Publindex de Ciencias Naturales. *Nova*. 2020;18(34):125-48.
2. Charum J. La Construcción de un Sistema Nacional de Indexación, el Caso de Publindex. *Converg Rev Ciencias Soc*. 2004;11(35):293-309. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/105/10503511.pdf>
3. Colciencias. MODELO DE CLASIFICACIÓN DE REVISTAS CIENTÍFICAS - PUBLINDEX. Bogotá, Colombia; 2018. Disponible en: [https://minciencias.gov.co/sites/default/files/upload/convocatoria/m304pr03an01\\_modelo\\_de\\_clasificacion\\_de\\_revistas\\_-\\_publindex\\_v02.pdf](https://minciencias.gov.co/sites/default/files/upload/convocatoria/m304pr03an01_modelo_de_clasificacion_de_revistas_-_publindex_v02.pdf)

4. Aguillo Caño I. Google Scholar: no es oro todo lo que reluce. 2011;5(1):211-5. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3647644>
5. Delgado-López CE, Martín-Martín A. Apagón digital de la producción científica española en Google Scholar. Anu ThinkEPI. 2018;12:265. Disponible en: <https://recyt.fecyt.es/index.php/ThinkEPI/article/view/thinkepi.2018.40>

PRELIMINAR



**NOVA** Publicación Científica  
en Ciencias Biomédicas

## ***Respuesta a Carta al Editor: Observaciones y recomendaciones al estudio: Revistas Publindex de Ciencias Naturales: retos y perspectivas desde la bibliometría***

Camilo Alejandro Corchuelo Rodríguez, Johanna Lizeth González Devia, Wilmer Pineda Ríos, Laura Camila Garnica Posada, Ingrid Paola Patacón Ruíz y María Alejandra Millán Ramírez

### ***Sra. Editora:***

Hemos revisado con detalle y sumo interés, los comentarios realizados por Oskarly Pérez Anaya y Jorge Homero Wilches Visbal, agradecemos el aporte que permite consolidar espacios de dialogo, discusión y reflexión académica sobre los análisis métricos de la producción científica del país.

Dado que la metodología de análisis puede generar inquietudes, el objetivo del estudio es simular los resultados de las revistas con área de conocimiento en ciencias naturales declarada en Publindex, por tal motivo, se implementa el mismo proceso establecido en la fase 3 de las convocatorias No. 768 de 2016, No.830 de 2018 y No. 875 de 2020. En este sentido, se usó la herramienta Publish or Perish (PoP) realizando la verificación una a una de cada publicación de cada revista para depurar y excluir los errores de indexación de Google Scholar. No obstante, se identificaron algunos aspectos de mejora que serán incluidos en una actualización y ajuste del artículo (1-4).

Teniendo en cuenta el cambio en el modelo de medición de Publindex, el artículo plantea la necesidad de continuar la reflexión de los elementos señalados por la comunidad académica nacional e internacional; respecto a la invisibilidad de las publicaciones y los temas locales, los modelos hegemónicos y económicos de la corriente principal impuestos por la priorización de la medición del factor de impacto como indicador bibliométrico para cualificar una revista(5-11).

Finalmente, comprendemos que diferentes profesionales y académicos desde su experiencia expresen opiniones encontradas en lo relacionado con los métodos de análisis. Sin embargo, la investigación pretende desde el rigor académico propio de los estudios métricos, aportar a la discusión del uso de indicadores bibliométricos en la categorización de las revistas nacionales en el Índice Bibliográfico Nacional (IBN) Publindex (12-20).

***Atentamente,***

*Autores:* Camilo Alejandro Corchuelo Rodríguez, Johanna Lizeth González Devia, Wilmer Pineda Ríos, Laura Camila Garnica Posada, Ingri Paola Patacón Ruíz y María Alejandra Millán Ramírez.

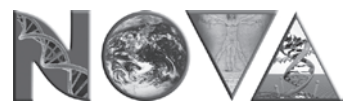
---

**Referencias**

1. Gómez YJ. Política Científica Colombiana Y Bibliometría: Usos. *Nómaditas Col.* 2005;(22):241-54.
2. Delgado-López E, Orduña-Malea E, Marcos-Cartagena D, Jiménez-Contreras E, Ruiz-Pérez R. JOURNAL SCHOLAR: una alternativa internacional, gratuita y de libre acceso para medir el impacto de las revistas de Arte, Humanidades y Ciencias Sociales. 2012 [citado 23 de febrero de 2019]; Disponible en: <http://digibug.ugr.es/handle/10481/20375>
3. Alperin JP, Rozemblum C. La reinterpretación de visibilidad y calidad en las nuevas políticas de evaluación de revistas científicas. *Rev Interam Bibliotecol.* Diciembre de 2017;40(3):231-41.
4. Torres-Salinas D. Manipular Google Scholar Citations y Google Scholar Metrics: simple, sencillo y tentador. [citado 15 de junio de 2021]; Disponible en: <https://core.ac.uk/reader/144866150>
5. Colciencias. Convocatoria para Indexación de Revistas Científicas Colombianas Especializadas - Publindex (No. 768 de 2016) [Internet]. 2016 [citado 23 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://www.colciencias.gov.co/convocatorias/investigacion/convocatoria-para-indexacion-revistas-cientificas-colombianas>
6. Colciencias. Políticas para mejorar la calidad de las publicaciones científicas nacionales [Internet]. 2016. Disponible en: <http://www.colciencias.gov.co/sites/default/files/upload/paginas/politica-publindex-colciencias.pdf>
7. Colciencias. Informe de la Convocatoria para Indexación de Revistas Científicas Colombianas Especializadas – Publindex. 2017 [citado 21 de febrero de 2019]; Disponible en: <https://www.colciencias.gov.co/sites/default/files/upload/noticias/informe-publindex.pdf>
8. Agudelo-Trujillo J. El extraño viraje del PUBLINDEX. *Rev Colomb Cienc Pecu.* 2016;29(4):243-4.
9. Bustamante-Aguilar MC. Los cambios en el modelo de medición Publindex: nuevos retos, nuevas exigencias. *Divers Perspect Psicol.* 2016;12(2):163-4.
10. Rodríguez E, Naranjo S, González DL. Publindex: más que un proceso de indexación. *Rev El Agora USB.* 2015;15(1):29-41.



11. Colciencias. Informe de la Convocatoria para Indexación de Revistas Científicas Colombianas Especializadas – Publindex [Internet]. Colciencias; 2017 [citado 22 de febrero de 2019]. Disponible en: <https://www.colciencias.gov.co/sites/default/files/upload/noticias/informe-publindex.pdf>
12. Codina L. Manifiesto Leiden y Declaración de San Francisco sobre métricas de investigación [Internet]. Lluís Codina. 2019 [citado 8 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www.lluiscodina.com/leiden-manifiesto-dora-metricas/>
13. Hicksa D. El manifiesto de Leiden sobre indicadores de investigación [Internet]. INGENIO [CSIC-UPV] - Instituto de Gestión de la Innovación y del Conocimiento. [citado 8 de octubre de 2019]. Disponible en: <http://www.ingenio.upv.es/es/manifiesto>
14. Foro CILAC. Declaración de Panamá sobre Ciencia Abierta – Foro CILAC [Internet]. 18 [citado 9 de marzo de 2021]. Disponible en: <http://forocilac.org/declaracion-de-panama-sobre-ciencia-abierta/>
15. Altmetrics: a manifesto – altmetrics.org [Internet]. [citado 11 de marzo de 2021]. Disponible en: <http://altmetrics.org/manifiesto/>
16. Asociación Colombiana de Universidades. Tendencias en medición de CTI: Propuestas internacionales [Internet]. 2021 [citado 15 de junio de 2021]. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=kpbnlwF39P4&t=4236s>
17. Asociación Colombiana de Universidades. Cátedra: Métricas Responsables. Experiencia desde Inglaterra y Estados Unidos. [Internet]. 2021 [citado 15 de junio de 2021]. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=NvdjgU0rLJk&t=4678s>
18. Torres-Salinas D. Manipular Google Scholar Citations y Google Scholar Metrics: simple, sencillo y tentador. [citado 15 de junio de 2021]; Disponible en: <https://core.ac.uk/reader/144866150>
19. Díaz GM. Incertidumbre ante la implementación del nuevo modelo de medición de revistas científicas en Colombia. *TecnoLógicas* [Internet]. enero de 2017 [citado 15 de junio de 2021];20(38):09-13. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0123-77992017000100001&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0123-77992017000100001&lng=en&nrm=iso&tlng=es)



**NOVA** Publicación Científica  
en Ciencias Biomédicas

# Microorganismos xerófilos cultivables de la zona semiárida de la Tatacoa (Colombia)

Culture xerophile microorganisms from the Tatacoa semiarid zone (Colombia)

Hermes Hernán Bolívar Torres<sup>1</sup>, Yael Natalia Méndez<sup>2</sup>, Jimena Sánchez Nieves<sup>3</sup>,  
María Angélica Leal<sup>4</sup>, Elkin Marcelo Ruiz<sup>5</sup>

## Resumen

**Introducción.** Los microorganismos xerófilos han adquirido una mayor relevancia para la realización de investigaciones relacionadas con sus mecanismos adaptativos frente al estrés hídrico, así como la caracterización e identificación de sus hábitats. En Colombia, las zonas semiáridas y desérticas como el desierto de la Tatacoa han sido poco estudiadas a nivel microbiano. **Objetivo.** Aislar y caracterizar microorganismos xerófilos provenientes del suelo de la zona semiárida de la Tatacoa del departamento del Huila (Colombia). **Materiales y métodos.** Se colectaron muestras en los sectores denominados localmente como Cuzco y La Victoria, las cuales fueron procesadas para el aislamiento de microorganismos xerófilos en medio selectivo M40Y para posterior caracterización macro y microscópica, así como evaluación mediante pruebas bioquímicas para la utilización de sustratos. **Resultados.** Fueron aislados 29 morfotipos entre los cuales se pudieron diferenciar: Bacilos y cocos Gram positivos presentes exclusivamente en el sector del Cuzco y bacterias filamentosas ramificadas (actinobacterias) únicamente en el

1. Laboratorio de microbiómica. Universidad Nacional Autónoma de México ENES Morelia.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5700-8199>

CVLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000085665](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000085665)

2. Grupo de Caracterización Tecnológica de Minerales. Departamento de Geociencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6306-7737>

CVLAC: [http://scienti.colciencias.gov.co:8081/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001585081](http://scienti.colciencias.gov.co:8081/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001585081)

3. Profesora Asociada. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8141-7056>

CVLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000152773](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000152773)

4. Docente PEAMA Sumapaz. Universidad Nacional de Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-6903-4132>.

CVLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001445410](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001445410)

5. Laboratorio microbiología del suelo. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3103-7768>

CVLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0001640658](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0001640658)

Correo electrónico de correspondencia: [hhbolivart@unal.edu.co](mailto:hhbolivart@unal.edu.co)

Institución donde se realizó el estudio: Universidad Nacional de Colombia.

sector de La Victoria. Se estableció la presencia de los géneros *Streptomyces*, *Micrococcus* y *Corynebacterium*. **Conclusiones.** La presencia de microorganismos relacionados con los géneros anteriormente mencionados permitirá comprender las posibles interacciones que se presentan en este ecosistema, lo que aportará al desarrollo de este lugar como un posible análogo para estudios de búsqueda de vida en otros planetas como Marte. Además, incentivar estudios más detallados donde se puedan recuperar microorganismos que sean de utilidad para diferentes procesos biotecnológicos.

**Palabras claves:** bacterias, desecación, zona árida, exobiología, Colombia, Marte.

### **Abstract**

**Introduction.** Xerophilic microorganisms have become more relevant for conducting research related to their adaptive mechanisms against water stress, as well as the characterization and identification of their habitats. In Colombia, semi-arid and desert areas such as the Tatacoa desert have been little studied at the microbial level. **Objective.** Isolation and characterization of cultivable xerophilic microorganisms from the soil of the semi-arid zone of Tatacoa, in the department of Huila (Colombia). **Material and methods.** For this, samples were collected in the sectors locally called Cuzco and La Victoria, which were processed for the isolation of xerophilic microorganisms in selective M40Y medium for subsequent macro and microscopic characterization, as well as evaluation by biochemical tests for the use of substrates. **Results.** 29 morphotypes were isolated among which it was possible to differentiate: Gram-positive bacilli and cocci present exclusively in the Cuzco sector and branched filamentous bacteria (Actinobacteria) only in the La Victoria sector. The presence of the genera *Streptomyces*, *Micrococcus* and *Corynebacterium* was established. **Conclusions.** The presence of microorganisms related to the mentioned genera will allow us to understand the possible interactions that occur in this ecosystem, which will contribute to the development of this place as a possible analogue of studies for the search for life on other planets such as Mars. In addition, promote more detailed studies where microorganisms that are useful for different biotechnological processes can be recovered.

**Keywords:** bacteria, desiccation, arid zone, exobiology, Colombia, Mars.

## Introducción

Se han definido los microorganismos xerófilos como “organismos extremófilos que requieren una baja disponibilidad de agua”(1), el término “xerófilo” se ha aplicado principalmente en hongos y éste fue acuñado por Scott (2), para referirse a este tipo de organismos (3). De acuerdo con Gargaud (1), este tipo de microorganismos pueden llegar a sobrevivir con una actividad acuosa inferior a 0,8.

El estudio de microorganismos xerófilos en otras áreas del conocimiento ha sido limitado puesto que son pocos los estudios de su aislamiento a partir de muestras de suelo a través de métodos de cultivo convencional (4). Más recientemente el estudio de estos microorganismos se ha enfocado especialmente en hongos que crecen en alimentos preservados con altas concentraciones de sal y azúcar (4–6), debido a que muchos frutos y granos suelen ser secos y se guardan en lugares en donde las condiciones de humedad son muy bajas, y suele presentarse contaminación por este tipo de organismos.

Actualmente, ha incrementado el interés respecto al estudio de los microorganismos xerófilos y sus posibles aplicaciones debido al aumento de la superficie desértica en todo el mundo por cambio climático (7). Además, este tipo de microorganismos ha atraído la atención de los astrobiólogos y expertos en exploración espacial debido a que continuamente, suelen ser encontrados en ambientes hipersalinos y podrían llegar a

usar peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) como solvente (8), lo cual sugiere que podrían tolerar condiciones similares a las que se presentan en Marte y otros cuerpos del sistema solar (9).

Las principales publicaciones relacionadas con xerófilos se han dado principalmente en estudios realizados en el desierto de Atacama en Chile (10–13), pues, posee varias particularidades que llaman la atención de los investigadores como su antigüedad (150 millones de años aproximadamente), su altura al nivel del mar entre 1000 y 2000 m (14) y la presencia de salares que surgieron de la elevación de la cordillera de los Andes. De este modo en el desierto no solo se pueden encontrar lugares con condiciones de estrés hídrico, sino también zonas con altas concentraciones de sal y metales tóxicos (15), lo que ha generado un crecimiento en el interés de comprender la microbiota que allí habita (16).

Estos factores han provocado un aumento en la exploración y caracterización de microorganismos xerófilos como lo demuestran los estudios de este tipo dados en diferentes lugares áridos y desérticos en todo el mundo, tales como el desierto de Sonora en México (17), el desierto del Sahara (18), la zona desértica ubicada en medio oriente, principalmente en Irán (19), el desierto de Mongolia (20), las zonas semiáridas de Brasil (21), en el desierto de Namibia (22), en las zonas áridas cercanas al Ártico (23) y en la superficie del continente antártico (10).

En Colombia existe una diversidad de ecosistemas debido a su posición y conformación geográfica, lo que ha permitido la existencia de zonas subxerofíticas conocidas entre los pobladores como desiertos, siendo los de mayor extensión el Desierto de La Guajira, y en el departamento del Huila, la zona semiárida de La Tatacoa (24). Esta zona es en realidad un bosque seco tropical, que posee un clima semiárido tropical, con presencia de organismos que poseen adaptaciones típicas de un ambiente xerofítico (25). Si bien la investigación sobre esta zona del país se ha centrado en la búsqueda de fósiles y la caracterización de la fauna y la flora presente, Méndez (26) realizó un estudio con el fin de caracterizar la microbiota que pudiese soportar condiciones similares a las del planeta Marte. Con estos antecedentes, el presente estudio consistió en realizar una caracterización de microorganismos xerófilos cultivables presentes en la zona de la Tatacoa, (Colombia).

## Materiales y métodos

### *Sitio de muestreo y recolección de muestras*

El muestreo se realizó en la zona conocida como desierto de la Tatacoa, ubicada en el sector oriental de la Población de Villavieja, departamento del Huila, ubicado en la región andina de Colombia, la cual posee una extensión de 330 km<sup>2</sup> y una temperatura promedio anual de 30°C. Posee dos periodos secos y dos de lluvias, y las precipitaciones superan los 1000 mm (25).

La zona corresponde a la formación geológica La Victoria de edad Neógeno, en la intercalación de unidades de arenitas de grano grueso a grano fino de apariencia gris “sal y pimienta”, con lodolitas de color verde gris y rojo café. Esta litología se intercala lateral y verticalmente en diferentes sectores adyacentes a la población de Villavieja (27), denominados localmente como sector de La Victoria y Cuzco, respectivamente (28), donde fueron elegidos tres puntos de muestreo al azar por cada área, con distancias entre 50 y 200 m entre estos, asignándoles numeración impar acorde a la nomenclatura de otros trabajos de la zona desarrollados por el mismo laboratorio (Tabla 1). Posteriormente, las muestras fueron preservadas en refrigeración y llevadas al laboratorio de microbiología del suelo del Departamento de Biología en la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá.

**Tabla 1.** Puntos de muestreo del estudio en la Tatacoa (Colombia).

Sector	Punto de muestreo	Coordenadas geográficas
Cuzco	1	3°13.925' N, 75°10,09' W
	3	3°13.883' N, 75°10,094' W
	5	3°13.829' N, 75°10,072' W
Victoria	1	3°13.761' N, 75°9.538' W
	3	3°13.727' N, 75°9.527' W
		3°13.895' N, 75°9.615' W

**Fuente:** Autores.

### *Aislamiento microorganismos xerófilos*

Para el aislamiento de microorganismo se tuvo como base la metodología usada por Petrovič y colaboradores (4) en su estudio. Se realizaron series de dilución hasta 10<sup>-5</sup> en solución de NaCl al 1.2% y se procedió a sembrar en medio M40Y para posterior incubación durante 48 horas a 37°C, exceptuando las muestras provenientes de sector de La Victoria, las cuales se incubaron hasta 10 días. Tras la obtención de las colonias se les asignó código nombrándolas con la letra C o V según el sector que provenían, seguido del punto de muestreo, la letra S para indicar que provenían de muestras superficiales, la X referente a xerófilos y posteriormente el número de morfotipo (MF). A continuación, se realizó descripción macroscópica, tinción de Gram y descripción microscópica de las colonias.

### *Caracterización de aislamientos microbianos*

Para la caracterización de los aislamientos obtenidos se efectuaron pruebas bioquímicas de utilización de sustratos siguiendo el manual de Bergey's de bacteriología determinativa (29), se realizaron pruebas de catalasa, motilidad, glucosa y manitol. Las actinobacterias se identificaron de acuerdo a Winn y colaboradores (30) y Carroll y colaboradores (31). Se efectuaron pruebas de hidrólisis de caseína, hipoxantina y tirosina, prueba de degradación de gelatina, tinción ácido-alcohol resistente, catalasa y motilidad.

## **Resultados**

### *Aislamiento y descripción macroscópica*

Se obtuvieron un total de 29 morfotipos, 9 en el sector del Cuzco y 20 en el sector de La Victoria. En todos los casos la cantidad de colonias presentes en las series de dilución no pudieron ser cuantificadas debido a la baja cantidad de morfotipos presentes en cada dilución (<30 unidades formadoras de colonias - UFC/ gramo de suelo).

En el sector del Cuzco, para el punto de muestreo 1 fue aislado un morfotipo con colonias de forma circular, elevación convexa, margen entero, superficie cerosa, coloración amarilla y consistencia cremosa. En relación con el punto de muestreo número 3 se aislaron 7 morfotipos, todos con colonias de forma irregular, elevadas, de margen ondulado, superficie cerosa, coloración transparente y consistencia mucoide. Finalmente, para el punto de muestreo número 5 se aisló un morfotipo con colonias de forma irregular, elevadas, de margen ondulado, superficie brillante, coloración transparente y consistencia mucoide.

En relación con el sector de La Victoria, en el punto 1 fueron aislados doce morfotipos, en donde todos presentaban colonias con forma circular, margen ondulado, superficie rugosa y consistencia dura. De estos, uno presentó colonias elevadas y los restantes presentaron colonias umbonadas. Con

relación a la coloración de las colonias, a excepción de 1 morfotipo que presentó coloración beige, todos los demás crecieron con colonias de color blanco. En cuanto al punto de muestreo 3, se aislaron 4 morfotipos en donde todos presentaron colonias con forma circular, elevadas, de margen ondulado, superficie rugosa y consistencia dura, la coloración fue diferencial, con 2 morfotipos que presentaron colonias de color beige y las otras dos de color blanco. Finalmente, para el punto de muestreo 5, se aislaron 4 morfotipos que presentaron colonias de forma circular, elevadas, de margen ondulado, superficie rugosa, color beige y consistencia dura.

### *Descripción microscópica*

Se encontró predominancia de bacterias en forma bacilar en el sector del Cuzco, registrando para el morfotipo aislado del punto 1 cocos Gram positivos no formadores de endosporas, los 7 morfotipos aislados del punto 3 y el único morfotipo del punto 5 correspondió a bacilos Gram positivos no formadores de endospora, mientras que, en la zona de la Victoria, todos los aislamientos correspondieron a bacterias filamentosas ramificadas (actinobacterias).

### *Caracterización de aislamientos microbianos*

Los resultados de las pruebas bioquímicas de utilización de sustratos mostraron como

resultado que, para el sector del Cuzco, Tatacoa (Colombia), los morfotipos aislados de los puntos 3 y 5 son compatibles con el género *Corynebacterium*, teniendo resultados positivos para la actividad de catalasa, glucosa y manitol, así como ausencia de motilidad. En el caso del morfotipo encontrado en el punto 1, mediante las pruebas efectuadas, se estableció que pertenecían al género *Micrococcus*, que se complementa con la pigmentación amarilla de la colonia, típica de especies de dicho género (29).

Para el caso del sector de La Victoria, Tatacoa (Colombia), los resultados de las pruebas bioquímicas de utilización de sustratos (tinción ácido alcohol resistente, catalasa, caseína, hipoxantina, tirosina, motilidad) realizadas a los veinte morfotipos, correspondientes a actinobacterias encontrados en los diferentes puntos de muestreo que son compatibles con lo descrito para el género *Streptomyces* (30). Cabe anotar que se evidenció olor a suelo húmedo, lo cual es típico de dicho género (31).

### **Discusión**

La zona semiárida de la Tatacoa al igual que muchos ambientes xerófitos y desérticos encontrados en el país y en el mundo, esconden una diversidad microbiológica que puede sobrevivir a condiciones de sequedad, como se pudo evidenciar en el presente estudio mediante la obtención de aislamientos bacterianos.



Los géneros encontrados tienen la capacidad de tolerar el déficit hídrico. El género *Streptomyces* ha sido ampliamente reportado en zonas áridas, gracias a su capacidad de tolerar diferentes condiciones extremas, entre ellas la deshidratación (11–13,23,32–35), así mismo, ha sido reportada una amplia funcionalidad de dicho género en el campo farmacéutico como resultado de su uso para obtención de antibióticos, probióticos y vitaminas (36). De otra parte, se ha observado la capacidad que posee para formar osmolitos intracelulares, solubilizar fosfatos (37) y su potencial como promotor de crecimiento vegetal, bioherbicida y en la producción de fitohormonas (36,38).

Los géneros *Micrococcus* y *Corynebacterium* han sido reportados como causantes del deterioro de muchos alimentos secos, especialmente pescado y productos alimenticios deshidratados (38,39) y productos con altas concentraciones de azúcar (40). *Micrococcus sp* suele contaminar medios usados para el aislamiento de hongos xerófilos (41), al igual se ha evidenciado para este género su tolerancia a altas concentraciones de sal (42). Para el género *Corynebacterium* existen escasos reportes como xerófilos, dado que se han relacionado principalmente como alcalófilos (43). Especies de estos géneros mencionados anteriormente, han sido reportados también como tolerantes a altas concentraciones salinas y de azúcares (44), cabe resaltar que, por ejemplo, este tipo de adaptaciones son de importancia para misiones de detección de vida y protección planetaria en lugares como Marte (44).

Se observó la diferencia entre los morfotipos bacterianos encontrados en los sectores del Cuzco y La victoria, lo cual puede estar posiblemente ligado a la composición química del suelo de cada una de las formaciones, que podría privilegiar la supervivencia de un tipo de microorganismos sobre otros. Este fenómeno también puede estar influenciado por otros organismos vivos presentes en cada una de las formaciones, pues, la relación ecológica de cada uno de ellos con su entorno puede desempeñar un papel importante para este caso, debido a que como se mencionó anteriormente, tanto el género *Micrococcus* como *Corynebacterium sp.* están relacionados con la descomposición de materia orgánica, la cual se estaría presentando en mayor medida en el sector del Cuzco, donde se presenta mayor disponibilidad de materia orgánica en descomposición. De acuerdo con Rillig y colaboradores (45), existen muchas interacciones entre los microorganismos y el entorno en el que habitan, esta interacción con otros organismos es denominada coalescencia.

En las zonas áridas este tipo de procesos permiten que los microorganismos presentes en el suelo contribuyan en el desarrollo de otros organismos especialmente plantas, ya sea a través de actividades de promoción del crecimiento vegetal, tales como la fijación de nitrógeno y la solubilización de fosfatos, además de ofrecer a las plantas una mayor resistencia a las fluctuaciones del clima (7,21). Sin embargo, las adaptaciones de estos organismos a la sequedad no han sido profundamente estudiadas, por ejemplo,

Stevenson y Hallsworth (34), observaron que el género *Streptomyces* indujo división celular ante la reducción de agua presente en el medio. De otro lado, Tse y Ma (46) mencionan que una de las adaptaciones que han desarrollado diferentes microorganismos para hacer frente a la reducción de disponibilidad de recurso hídrico tiene que ver con la síntesis de glicerol; por su parte, se ha propuesto que estos microorganismos podrían generar exopolisacáridos, mejor conocidos como sustancias poliméricas extracelulares (EPS, por su siglas en inglés), han estado relacionadas como un mecanismo de adaptación que junto a la formación de biopelículas, contribuye a reducir la pérdida de agua ante el estrés hídrico. Esta adaptación sumada a la formación de osmolitos intracelulares, que como se mencionó anteriormente, se han reportado presentes dentro del género *Streptomyces*, permite un mecanismo eficaz para hacer frente a la pérdida de agua en ambientes áridos (10,21). Huang y colaboradores han profundizado más y han realizado estudios con microorganismos endolíticos recuperados de rocas del desierto de atacama, allí encontraron que poseen la capacidad de captar el agua presente en el interior de las rocas para garantizar su supervivencia en épocas de sequía (47).

Comprender estas adaptaciones permitirá desarrollar nuevas tecnologías como la reportada por Narváez y colaboradores (48), que consiste en la obtención de xeroprotectores, que podrían ser usados en la remediación de suelos degradados (49). La combinación de adaptaciones de microorganismos

actinomycetes, además de la tolerancia a la sequedad, los hace candidatos perfectos para el desarrollo de estas aplicaciones (50). Por lo anterior, se requieren investigaciones más detalladas que brinden respuestas relacionadas con la interpretación de estas adaptaciones y sus futuras aplicaciones.

Finalmente, es posible concluir que se encontraron microorganismos tolerantes al estrés hídrico en las muestras de suelo provenientes de la zona semiárida de la Tatacoa (Colombia). Además, debido a que fue un estudio de carácter exploratorio, se recomienda continuar con investigaciones más detalladas, cuyo fin será identificar el potencial de los microorganismos encontrados y determinar si estos llevan a cabo procesos que sean de interés biotecnológico, enfocado principalmente en la agricultura.

### Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Colombia, la cual, a través de la Facultad de Ciencias y el Departamento de Biología, facilitaron el desarrollo del presente estudio en instalaciones del Laboratorio de Microbiología del Suelo y al talento humano conformado por docentes, auxiliares y estudiantes. Al programa de gestión de proyectos, el cual ofreció la financiación para la recolección de las muestras de campo

## Referencias

- Gargaud M. Encyclopedia of astrobiology, Berlin: Springer Science & Business Media; 2011. <https://www.springer.com/gp/book/9783642112744>
- Scott W. Water Relations of Food Spoilage Microorganisms. *Advances in Food Research*. 1957;(7): 83-127. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60247-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60247-5)
- Pitt J, Hocking A. *Fungi and food Spoilage*. Verlag: Springer. 2009. <https://www.springer.com/gp/book/9780387922065>
- Petrovič U, Gunde-Cimerman N, Zalar P. Xerotolerant mycobiota from high altitude anapurna soil, nepal. *FEMS microbiology letters*. 2000; 128(2): 339-342. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb08918.x>
- Sharma A, Sharma R, Devi T. Life at extreme conditions: Extremophiles and their biocatalytic potential. En: 3rd International conference on recent advances in engineering science and management. Pune: 2017. <https://www.semanticscholar.org/paper/Life-at-extreme-conditions%3A-Extremophiles-and-their-Sharma-Sharma/4ebc1e2814fe20fe66396856bdd8d130704b5762>
- Srivastava A, Rai A, Kumar S, Kashyap P, Arora D. Extremophiles: Potential Sources of Biomolecules. En: Prakash S, Sharma R, Kunwar R. *Recent advances in microbiology*. Nueva York: NOVA; 2013. p.551-564. [https://www.researchgate.net/publication/249314487\\_Extremophiles\\_Potential\\_Sources\\_of\\_Biomolecules](https://www.researchgate.net/publication/249314487_Extremophiles_Potential_Sources_of_Biomolecules)
- Dion P. *Soil Biology and Agriculture in the Tropics*. Berlin: Springer; 2010. <https://www.springer.com/gp/book/9783642050756>
- Schulze-Makuch D, Houtkooper J. A perchlorate strategy for extreme xerophilic life on Mars. En: EPSC Abstracts. Rome; 2010. <https://meetings.copernicus.org/epsc2010/abstracts/EPSC2010-308.pdf>
- Stevenson A, Burkhardt J, Cockell C, Cray J, Dijksterhuis J, Fox-Powell M, et al. Multiplication of microbes below 0.690 eater activity: Implications for terrestrial and extraterrestrial life. *Environmental microbiology*. 2015; 17(2): 257-277. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12598>
- Lebre P, De Maayer P, Cowan D. Xerotolerant bacteria: surviving through a dry spell. *Nature Reviews Microbiology*. 2017; 15(5): 285-296. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.16>
- Okoro C, Brown R, Jones A, Andrews B, Asenjo J, Goodfellow M, et al. Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile, Antonie Van Leeuwenhoek. 2009; 95(2): 121-133. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19052913/>
- Santhanam R, Okoro C, Rong C, Huang Y, Bull A, Weon H, et al. *Streptomyces atacamensis* sp. nov., isolated from and extreme hyper-arid soil of the Atacama Desert, Chile. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2012; 62(11): 2680-2684. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.038463-0>
- Santhanam R, Rong X, Huang Y, Andrews B, Asenjo J, Goodfellow M. *Streptomyces bullii* sp. nov., isolated from a hyper-arid Atacama Desert soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2013; 103(2): 367-373. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9816-x>
- Azua-Bustos A, Urrejola C, Vicuña R. Life at the dry edge: microorganisms of the Atacama Desert. *FEBS Letters*. 2012; 586(18): 2939-2945. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.07.025>
- Piubeli F, De Lourdes M, Kishi L, Henrique-Silva F, García M, Mellado E. Phylogenetic profiling and diversity of bacterial communities in the death valley, an extreme habitat in the atacama desert. *Indian journal of microbiology*. 2015; 55(4): 392-399. <https://doi.org/10.1007/s12088-015-0539-3>
- Drees K, Neilson J, Betancourt J, Quade J, Henderson D, Pryor B, et al. Bacterial community

- structure in the hyperarid core of the Atacama Desert, Chile, *Applied and Environmental Microbiology*. 2006; 72(12): 7902-7908. <https://aem.asm.org/content/72/12/7902>
17. Direito S, Ehrenfreund P, Marees A, Staats M, Foing B, Roling W. A wide variety of putative extremophiles and large beta-diversity at the mars desert research station (utah). *International Journal of Astrobiology*. 2011; 10(3): 191-207. <https://doi.org/10.1017/S1473550411000012>
  18. Montero-Calasanz M, Goker M, Potter G, Rohde M, Sproer C, Schumann P, et al. *Geodermatophilus arenarius* sp. nov., a xerophilic actinomycete isolated from Saharan desert sand in Chad. *Extremophiles*. 2012; 16(6): 903-909. <https://doi.org/10.1007/s00792-012-0486-4>
  19. Mohammadipanah F, Wink J. Actinobacteria from arid and desert habitats: diversity and biological activity. *Frontiers in microbiology*. 2016; 6: 1541. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01541>
  20. Kurapova A, Zenova G, Sudnitsyn I. Thermotolerant and thermophilic actinomycetes from soils of Mongolia desert steppe zone, *Microbiology*. 2012;81: 98-108. <https://doi.org/10.1134/S0026261712010092>
  21. Taketani R, Kavamura V, Dos Santos S. Diversity and Technological Aspects of Microorganisms from Semiarid Environments. Diversity and Benefits of Microorganisms from the Tropics. 2017: 3-19. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-55804-2\\_1](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-55804-2_1)
  22. Cowan DA, Hopkins DW, Jones BE, Maggs-Köling G, Majewska R, Ramond J-B. Microbiomics of Namib Desert habitats. *Extremophiles [Internet]*. 2020;24(1):17–29. <https://doi.org/10.1007/s00792-019-01122-7>
  23. Belov A, Cheptsov V, Vorobyova EA, Manucharova NA. Culturable Bacterial Communities Isolated from Cryo-Arid Soils : Phylogenetic Culturable Bacterial Communities Isolated from Cryo-Arid Soils : Phylogenetic and Physiological Characteristics. 2020;54(8): 95-104. <http://dx.doi.org/10.1134/S0031030120080043>
  24. Lombana A. *Suelos Colombianos: Una mirada desde la academia*. Bogotá: Universidad Jorge Tadeo Lozano; 2004. <https://www.utadeo.edu.co/es/publicacion/libro/editorial/235/suelos-colombianos-una-mirada-desde-la-academia>
  25. Florez M, Parra L, Jaramillo D, Jaramillo J. Paleosuelos del mioceno en el desierto de la tatacoa. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 2013; 37(143): 229-244. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.6>
  26. Méndez YN. Identificación de bacterias nativas del desierto de Candelaria y Tatacoa (Colombia), sometidas a simulación de la radiación UV de Marte. Bogotá: Departamento de Ciencias Biológicas Universidad de los Andes; 2013. <http://biblioteca.uniandes.edu.co/acepto22013220.php?id=3425.pdf>
  27. Guerrero J. Stratigraphy and sedimentary environments of the Honda Group in the La Venta area. Miocene uplift of the Colombian Andes. En: Kay R, Madden R, Cifelli R, Flynn J. *A history of Neotropical Fauna: Vertebrate Paleobiology of the Miocene of Tropical South America*, Washington D.C: Smithsonian Institution Press; 1994. p. 592. [https://www.researchgate.net/publication/313608799\\_Stratigraphy\\_Sedimentary\\_Environments\\_and\\_the\\_Miocene\\_Uplift\\_of\\_the\\_Colombian\\_Andes](https://www.researchgate.net/publication/313608799_Stratigraphy_Sedimentary_Environments_and_the_Miocene_Uplift_of_the_Colombian_Andes)
  28. Hermelin M. The Tatacoa Desert. En: Hermelin M. *Landscapes and landforms of Colombia*. New York: Springer; 2016. p. 127-138. <https://www.springer.com/de/book/9783319117997>
  29. Goodfellow M, Peter K, Busse H, Trujillo M, Ludwig W, Suzuki K. Part A. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 5: The Actinobacteria*. New York: Springer; 2012. <https://www.springer.com/gp/book/9780387950433>
  30. Winn W, Koneman E, Koneman W, Procop E, Schreckenberger G, Woods P, et al. *Koneman*

- diagnostico microbiologico: texto y atlas en color. Bogotá D.C.: Editorial Médica Panamericana; 2008. [https://books.google.com.co/books/about/Koneman\\_Diagnostico\\_Microbiologico\\_Micro.html?hl=es&id=jyVQueKro88C&redir\\_esc=y](https://books.google.com.co/books/about/Koneman_Diagnostico_Microbiologico_Micro.html?hl=es&id=jyVQueKro88C&redir_esc=y)
31. Carroll K, Jorgensen J, Pfaller M. Manual of Clinical Microbiology, Washington D.C.: ASM Press; 2015. <https://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555817381>
  32. Bull A, Asenjo J. Microbiology of hyper-arid environments: recent insights from the Atacama Desert, Chile. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2013; 103(6): 1173-1179. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-9911-7>
  33. Santos SN, Gacesa R, Taketani RG, Long PF, Melo IS. Genome Sequence of *Streptomyces caatingensis* CMAA 1322, a New Abiotic Stress-Tolerant Actinomycete Isolated from Dried Lake Bed Sediment in the Brazilian Caatinga Biome. *Genome announcements*. 2015; 3(5): 1015-1020. <https://mra.asm.org/content/3/5/e01020-15.short>
  34. Stevenson A, Hallsworth J. Water and temperature relations of soil actinobacteria. *Environmental microbiology reports*. 2014; 6(6): 744-755. <https://doi.org/10.1128/genomea.01020-15>
  35. Zvyagintsev D, Zenova G, Doroshenko E, Gryadunova A, Gracheva T, Sudnitsyn I. Actinomycete growth in conditions of low moisture. *Biology Bulletin*. 2007; 34(3): 242-247. <https://doi.org/10.1134/S1062359007030053>
  36. Anandan R, Dharumadurai D, Manogaran GP. An introduction to actinobacteria. En: Dharumadurai D, Jiang Y. *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. InTech; 2016. <https://www.intechopen.com/books/actinobacteria-basics-and-biotechnological-applications/an-introduction-to-actinobacteria>
  37. Adhya TK, Kumar N, Reddy G, Podile AR, Bee H, Samantaray B. Microbial mobilization of soil phosphorus and sustainable P management in agricultural soils. *Curr Sci*. 2015;108:1280–1287. <https://www.jstor.org/stable/24905489>
  38. Ávila I, Rodríguez M, Franco M, Pedroza A, Gutiérrez I. Use of agricultural wastes for biomass production of the plant growth promoter actinobacteria, *streptomyces* sp. mcr26. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*. 2014;2(5): 460-472. <https://www.intechopen.com/books/actinobacteria-basics-and-biotechnological-applications/an-introduction-to-actinobacteria>
  39. Sivaraman G, Siva V. Microbiological spoilage of dried dishes. *SSRN*. 2015;2709070: 1-5. <https://dx.doi.org/10.2139/ssrn.2709070>
  40. Dilbaghi N, Sharma S. Food spoilage, food infections and intoxications caused by microorganisms and methods for their detection. 2007. <https://www.semanticscholar.org/paper/Food-spoilage%2C-food-infections-and-intoxications-by-Dilbaghi-Sharma/bf1979600620a165f83e3e27433c6121531aeb9f>
  41. Hocking A, Isolation and identification of xerophilic fungi in stored commodities. En: Champ B, Highley E, Hocking A, Pitt J. *Fungi and Mycotoxins in Stored Products*, Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research; 1991. p. 266. <https://ageconsearch.umn.edu/record/134649/files/PR036.pdf#page=62>
  42. Nicolaus B, Manca M, Lama L, Esposito E, Gambacorta A. Lipid modulation by environmental stresses in two models of extremophiles isolated from Antarctica. *Polar Biology*. 2001; 24(1): 1-8. <https://doi.org/10.1007/s003000000156>
  43. Satyanarayana T, Raghukumar C, Shivaji S. Extremophilic microbes: Diversity and perspectives. *Current Science*. 2005: 78-90. [https://www.researchgate.net/publication/298223942\\_Extremophilic\\_microbes\\_Diversity\\_and\\_perspectives](https://www.researchgate.net/publication/298223942_Extremophilic_microbes_Diversity_and_perspectives)
  44. Fredsgaard C, Moore D, Al Soudi D, Crisler D, Chen F, Clark B, et al. Relationships between sucrotolerance and salinotolerance in bacteria from

hypersaline environments and their implications for the exploration of mars and the icy worlds. *International Journal of Astrobiology*.2016: 1-7. <https://doi.org/10.1017/S1473550416000240>

45. Rillig M, Lehmann A, Aguilar-Trigueros CA, Antonovics J, Caruso T, Hempel S, et al. J. Soil microbes and community coalescence. *Pedobiología*. 2016; 59(1): 37-40. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2016.01.001>
46. Tse C, Ma K. Growth and metabolism of extremophilic microorganisms. En: P. Rampelotto. *Biotechnology of Extremophiles*. Springer; 2016. p. 1-46. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-13521-2\\_1](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-13521-2_1)
47. Huang W, Ertekin E, Wang T, Cruz L, Dailley M, DiRuggiero J, et al. Mechanism of water extraction from gypsum rock by desert colonizing microorganisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(20):10681–10687. <https://doi.org/10.1073/pnas.2001613117>
48. Narvaez-Reinaldo J, Barba I, Gonzalez-Lopez J, Tunnacliffe MM. Rapid method for isolation of desiccation-tolerant strains and xeroprotectants. *Applied and environmental microbiology*. 2010; 76(15): 5254-5262. <https://aem.asm.org/content/76/15/5254>
49. Vilchez S, Manzanera M. Biotechnological uses of desiccation-tolerant microorganisms for the rhizoremediation of soils subjected to seasonal drought. *Applied microbiology and biotechnology*. 2011; 91(5): 1297-1304. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3461-6>
50. Chen G, XR J. Next generation industrial biotechnology based on extremophilic bacteria. *Current opinion in biotechnology*. 2018; 50(94): 94-100. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.11.016>

# Alternativas de control biorracionales sobre *Phytophthora infestans*, fitopatógeno causante de la gota en papa

Biorational control alternatives on *Phytophthora infestans*, phytopathogen causing gout in potatoes

Jessica Johanna Cruz Trujillo<sup>1</sup>, Valentina Hernández Gutiérrez<sup>2</sup>,  
Ligia Consuelo Sánchez Leal<sup>3</sup>, Luz Stella Fuentes Quintero<sup>4</sup>

## Resumen

La gota de la papa o tizón tardío es una de las enfermedades más agresivas que atacan los cultivos de papa y en poco tiempo los destruye, ocasionando enormes pérdidas económicas, es producida por el fitopatógeno *Phytophthora infestans*, oomyceto que ha tomado gran importancia debido a sus efectos devastadores y las dificultades para lograr su erradicación. Los fungicidas de naturaleza química representan un problema debido al uso inadecuado, lo que hace muy difícil eliminar la enfermedad por la aparición de nuevas especies resistentes. Existen nuevas alternativas para su control, basadas en el uso de sustancias de naturaleza vegetal, y la aplicación de nuevas herramientas capaces de realizar edición de genes, reprogramar o eliminar secuencias de ADN/ARN, favoreciendo así, la obtención de cultivos libres de sustancias tóxicas. En esta revisión, se presentan los métodos existentes de biocontrol: como aceites esenciales, metabolitos microbianos, herramientas moleculares y el uso de sustancias biodegradables que favorecen el manejo y prevención de plagas, que ayudan a mitigar la problemática ambiental generada por el uso de fungicidas de naturaleza química.

**Palabras claves:** *Phytophthora infestans*, control biológico, papa, aceites esenciales, antagonista.

1. Estudiante. Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad Ciencias de la Salud. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6604-3079>

2. Estudiante. Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad Ciencias de la Salud. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8028-6840>

3. Profesora de Planta, Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Facultad Ciencias de la Salud. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7796-1326>

4. Profesora Asociada. Universidad de Bogotá, Jorge Tadeo Lozano.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6618-870X>

## Abstract

The drop of the potato or late blight is one of the most aggressive diseases that attack the potato crops and in a short time destroys them, causing great economic losses, it is produced by the phytopathogen *Phytophthora infestans*, oomycete that has taken great importance due to its devastating effects and difficulties in achieving its eradication. Fungicides of a chemical nature represent a problem due to the affected use, which makes it very difficult to eliminate the disease due to the appearance of new resistant species. There are new alternatives for its control, based on the use of substances of the plant nature, and the application of new specific tools to perform gene editing, reprogram or eliminate DNA / RNA sequences, thus favoring the obtaining of cultures free of toxic substances. In this review, specific biocontrol methods are presented, such as essential oils, microbial metabolites, molecular tools and the use of biodegradable substances that favor the management and prevention of pests, which help mitigate the environmental problems generated by the use of fungicides from chemical nature.

**Keywords:** *Phytophthora infestans*, biological control, potato, essential oils, antagonist.

## Introducción

Los oomicetos tienen adaptaciones muy especializadas que les permiten infectar y matar innumerables especies de plantas, muchas de las cuales son importantes cultivos alimentarios y comerciales. Su progenie asexual, las zoosporas, muestran un comportamiento cinético interesante que puede ayudar a su supervivencia en ausencia de una planta huésped. La interacción planta-patógeno comienza con la llegada de las unidades de dispersión e infección del patógeno al huésped. Los síntomas de la enfermedad visual del ataque oomicetal en las hojas de las plantas sólo aparecen después de un cierto período de incubación, momento en el cual la aplicación del control biológico puede ser ineficaz (1,2). Estos mi-

croorganismos son similares a los hongos y a otros que viven en distintos tipos de ambientes, están estrechamente relacionados con los apicomplexanos, algas y diatomeas. Muchos de ellos son importantes patógenos de plantas y animales, causando graves pérdidas económicas (3). La creciente conciencia de los efectos secundarios negativos de los pesticidas sintéticos en la salud ambiental y humana ha llevado a un alto interés en los alimentos producidos orgánicamente. La producción de cultivos sostenibles enfrenta el desafío de mantener altos rendimientos para satisfacer las necesidades alimentarias de la población mundial (4). Si bien las medidas de control químico han mantenido los rendimientos, las regulaciones europeas sobre el uso de productos fitosanitarios presentan un desafío adicional



para los productores comerciales de papa en un momento en que cepas nuevas y más agresivas de *P. infestans* están dominando las poblaciones nativas (5).

El tizón tardío de la papa (enfermedad causada por *Phytophthora infestans*) causó devastación en la década de 1840 y provocó la escasez de alimentos en toda Europa. En Irlanda, donde los pobres dependían abrumadoramente de la papa, dio lugar a la hambruna irlandesa de la papa: más de un millón de personas murieron y muchas más se vieron obligadas a huir. Esta enfermedad en la papa puede darse muy rápidamente, dejando poco tiempo para que los productores respondan una vez que ha comenzado una epidemia. Es una enfermedad policíclica: la infección inicial produce una gran cantidad de esporangios (esporas asexuales), cuya dispersión conduce a infecciones posteriores (6). *P. infestans* exhibe un ciclo de vida de dos fases: la infección posterior en el huésped se caracteriza por una fase biotrófica asintomática, y una etapa necrotrófica tardía que se caracteriza por la degradación de los tejidos y la enfermedad (7).

*Phytophthora infestans* ha jugado un papel central en la patología vegetal como modelo para estudios de epidemiología, manejo de enfermedades e interacciones moleculares entre plantas y microorganismos (8). Este Oomiceto es una amenaza patogénica importante y continua para la producción agrícola en todo el mundo. La identificación rápida y temprana de *P. infestans* es un prerrequisito esencial para contrarres-

tar la propagación de la infección (9). En la actualidad, el control más efectivo para *Phytophthora* en el campo requiere una combinación de diferentes estrategias para el manejo integrado de los cultivos, entre las que se incluyen, controles preventivos, uso de elementos de naturaleza química, estrategias culturales, y control biológico. En este trabajo de revisión se pretende resaltar los métodos existentes de biocontrol y las herramientas moleculares que favorecen el manejo y prevención de plagas, el uso de estos puede disminuir la problemática que conlleva para el medio ambiente y los seres vivos en general el uso de fungicidas de naturaleza química.

La biodiversidad que tienen estos microorganismos así como su naturaleza única y las capacidades biosintéticas presentadas en condiciones ambientales específicas hacen que los microorganismos sean los probables candidatos para resolver problemas de control de plagas. La microbiología tecnológica tiene grandes potenciales para explorar, por lo cual la investigación en esta área resulta prometedora para los científicos (10).

### **Controles derivados de compuestos orgánicos**

Los derivados de pirimidina poseen varias propiedades medicinales tales como agentes anticancerígenos, antibacterianos, antiprotozoarios, antivirales y antiinflamatorios y

también son relevantes en el desarrollo de agroquímicos destinados a la erradicación de fitopatógenos. Se ha sugerido que las vías de recuperación de los nucleótidos son importantes en el crecimiento y el desarrollo durante el proceso de germinación de *P. infestans*. Según el estudio, el patógeno tiene genes putativos que le permitirían realizar tanto la recuperación como la biosíntesis de *nov*o de las pirimidinas. La alternativa de control se puede ver en los perfiles de expresión génica observados de DHOasa y UMPasa que apoyan la síntesis de pirimidina de *nov*o siendo un objetivo atractivo especialmente durante las primeras etapas de infección (11).

Las plantas desencadenan una forma de defensa en respuesta a la infección por patógenos produciendo diversas especies reactivas de oxígeno (ROS), es decir, peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Estos ROS actúan como señales para la inducción de una muerte celular mediada por la respuesta hipersensible (HR) y la activación de genes asociados a la defensa para inhibir el crecimiento de patógenos y su mayor propagación, el problema es que el exceso de estos causa daño potencial a las súper moléculas biológicas. Según estudios las plantas de papa transgénicas *GalUR* (*D-galacturónica de ácido reductasa*) que sobreproducen AsA (ácido L-ascórbico) es decir la vitamina C, con una potente capacidad antioxidante muestran síntomas necróticos disminuidos y lesiones de la enfermedad reducidas en las etapas iniciales inducidas por *P. infestans* debido a que AsA es un compuesto antioxidante multifuncio-

nal significativo y un sustrato importante para la desintoxicación de especies reactivas de oxígeno que puede producir la planta (12).

La estrecha relación entre los oomicetos y los apicomplexanos ha llevado a plantear la hipótesis de que las estrategias que han demostrado su eficacia para el control de los parásitos humanos *T. gondii* y *P. falciparum* también podría usarse para controlar el crecimiento de *P. infestans*. De hecho, la estrategia inversa, el uso de agroquímicos oomiceticidas para controlar los parásitos de apicomplexano, parece ser eficaz. Esta caracterización de un DHODH de oomiceto recombinante purificado y primera comparación con el DHODH de planta correspondiente sugiere la posibilidad de explotarse aún más para desarrollar compuestos específicos de la especie para el manejo del cultivo. La disponibilidad y caracterización del DHODH recombinante de *P. infestans* permitió el primer cribado preliminar de posibles inhibidores enzimáticos, con la razón de interferir con el metabolismo de pirimidina, y abre el camino a la cristalización de proteínas, que es un requisito previo para el desarrollo de inhibidores específicos de especie (13).

Se ha comprobado que la melatonina puede inducir la inmunidad innata de la planta contra la infección por patógenos, pero los efectos directos de la melatonina en los patógenos de las plantas son poco conocidos. En algunos hallazgos se ha visto una nueva comprensión de las funciones directas

de la melatonina en *P. infestans* y estos han proporcionado un posible enfoque de biocontrol ecológico utilizando un paradigma basado en melatonina y una aplicación para prevenir el tizón tardío de la papa (14).

### ***Aceites esenciales como alternativa de control***

La reducción en el uso de fungicidas sintéticos en la agricultura es cada vez mayor, mientras que el uso de productos naturales es considerado como una alternativa interesante debido a sus bajos impactos negativos en el medio ambiente. El aspecto más atractivo del uso de aceites esenciales como fungicidas (o pesticidas en general) es su baja toxicidad para los mamíferos y para las especies vegetales que se ven expuestas a estos. (15,16)

Los metabolitos secundarios de algunas plantas juegan roles importantes en algunos procesos de control y protección frente a plagas. El aceite esencial de orégano *Lippia origanoides* presenta acción antifúngica debido a que muestra reducción de los porcentajes de crecimiento micelial del fitopatógeno relacionado directamente con el aumento de las concentraciones. (15)

En algunos estudios se demostró que los aceites de orégano, tomillo, hinojo, romero y lavanda inhiben el crecimiento de *Phytophthora infestans*, concluyendo que los cambios generales en la morfología de las hifas

podrían deberse a la pérdida de la integridad de la pared celular y la permeabilidad de la membrana plasmática. El efecto antifúngico de los aceites esenciales también podría explicarse por la interrupción de la morfogénesis y el crecimiento de los hongos al interferir con las enzimas responsables de la síntesis de la pared celular y, por lo tanto, conducir a cambios en la integridad hifal, alteración de la membrana plasmática y destrucción mitocondrial (16).

Extractos vegetales fermentados de ajo (*Allium sativum*) y ajeno (*Artemisia absinthium*) fueron reportados con efecto de reducción en la severidad de *P. infestans* en papa criolla, al igual que el extracto de cardón lefaria (*Cereus deficiens*) con efecto de reducción entre el 70 y 94% en el crecimiento micelial de *P. infestans* y *Sclerotium rolfsii*. (17). Los aceites esenciales de las especies *M. piperita* y *T. vulgaris* han mostrado poseer un importante efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *P. infestans* en condiciones in vitro. La creciente demanda pública de productos cultivados orgánicamente, y la eliminación prevista del uso de formulaciones que contienen cobre, generan una urgente necesidad de métodos de control alternativo. Se ha incrementado el interés en desarrollar estrategias de tratamiento basadas en productos de defensa de plantas naturales. Se ha informado previamente que la sustancia antimicrobiana natural alicina, que es producida en el ajo (*Allium sativum*) es activa contra una amplia gama de organismos fitopatógenos in vitro y en planta y de hecho hay varios informes de prepara-

ciones de ajo que contienen alicina se usan para tratar enfermedades de las plantas. La alicina (dialiltio sulfinato) se produce en el ajo cuando el sustrato alliin se mezcla con la enzima alinasa. La actividad del jugo de ajo se conoce desde hace tiempo. La alicina atraviesa la membrana celular fácilmente y sufre intercambio de reacciones con grupos tiol libres en proteínas. Se cree que estas propiedades son la base de su acción antimicrobiana. Por lo tanto, la alicina tiene varios objetivos en la célula y esto dificulta la resistencia a ella (17,18).

Otros estudios relacionados con alternativas de control bajo condiciones in vitro, demuestran que el extracto fermentado de la especie *Furcraea gigantea Vent* (bioinsumo de fique) presenta un efecto de inhibición ante el patógeno *Phytophthora infestans*, causando una respuesta similar a la obtenida por los fungicidas sistémicos (19).

Las sapogeninas (hecogenina y tigogenina) presentes en este bioinsumo han sido reportadas con grandes efectos inhibitorios sobre algunos hongos fitopatógenos y particularmente sobre *Phytophthora Infestans*. El jugo de fique por su poder antifúngico se convierte en una alternativa altamente viable para el control de la gota en la papa (20). Gracias a su contenido el jugo de fique favorece el crecimiento de algunas comunidades bacterianas que aprovechan su contenido nutricional como sustrato, debido a esto los metabolitos secundarios generados por estos microorganismos son los que generan acción antagónica sobre *P.infestans*,

el principal microorganismo antagónico es *Bacillus sp* (21).

La acción antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Lippia sp.* y *Piper aduncum* sobre *Phytophthora infestans* ha sido demostrada por medio de pruebas de confrontación aplicando dos experimentos: el efecto de contacto y el efecto volátil de cada uno de los aceites esenciales evaluando el crecimiento micelial que permite determinar la concentración mínima inhibitoria.(22)

El uso de productos etanólicos y metanólicos derivados de plantas de las que se extrae la resina de *Flourensia cernua*, *Origanum majorana* y *Bouvardia ternifolia* con metanol mediante el método de Sóxhlet para evaluar su efecto en el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans in vitro*, muestran resultados de inhibición aceptables mostrando efectos fungistáticos al ser expuestos a los tres extractos, para el caso de *P.infestans* se muestran resultados significativos con dosis menores de *Origanum majorana* presentando un efecto fungicida (23). Los estudios sugieren que la asociación del aceite de mejorana con PAMAM G4.0s es prometedor para combatir el tizón tardío y que los estudios posteriores deberían centrarse en determinar la concentración adecuada para la inhibición óptima y realizar ensayos de campo (24).

Los extractos de hongos de sombrero (*Estrobilurus tenacellus*) y penco azul (*Agave americana*) presentan actividad preventiva frente al patógeno *Phytophthora infestans* en el

cultivo de papa (*S. tuberosum*), esto puede deberse a su contenido de terpenos, fenoles y alcaloides; capaces de afectar la permeabilidad de la membrana del patógeno, provocando trastornos metabólicos e inhibición del crecimiento micelial (25).

Un estudio con la planta *Nigella sativa* L. cuyas semillas se utilizan tradicionalmente en medicina popular en Asia Central y Sudoriental compararon la actividad antifúngica de los extractos de semillas de *N. sativa* frente al oomiceto fitopatógeno *Phytophthora infestans*, uno de los extractos en general exhibió actividad inhibitoria significativamente mayor contra *P. infestans* que otro de los extractos trabajados. De esta forma el desarrollo de *P. infestans* en los discos de papa fue negativo tras la incubación durante 96 horas con concentraciones de extractos de 1.0 mg / mL. Sin embargo, este efecto no persistió, el grado de aparición de los síntomas de fitoforesis fue de 15 a 22% después de la incubación durante 144 horas a una concentración máxima de 1,0 mg / ml, aunque fue del 65% en el control. El efecto biológico disminuyó bruscamente si la concentración activa disminuía (26).

Se ha demostrado que los aceites esenciales (OE) tienen actividades inhibitorias contra varias enfermedades de almacenamiento. Este efecto fue demostrado claramente entre otros por Bring (1995) al exponer los tubérculos de papa a la fase de vapor de los aceites aromáticos. Se ha logrado mostrar efectos fungicidas similares in vitro mediante el uso de varios OE. Se han realizado pruebas para

estudiar los inhibidores, además de probar la supervivencia de dicho patógeno in vitro después del tratamiento con EOs, los efectos antifúngicos y potenciales fitotóxicos de los aceites representativos aplicados a las plantas de papa maduras también fueron seguidos en experimentos en invernadero. Las composiciones químicas características de cada OE, que son mezclas complejas de los compuestos volátiles (monoterpenos) y menos o no volátiles (sesquiterpenos), pueden interferir directa o indirectamente con la realización de tales diferencias. Respecto a la composición química de los aceites esenciales parece que algunos de los monoterpenos presentes en varios aceites esenciales poseen fuertes propiedades fungicidas mientras que algunos de los sesquiterpenos estimulan el crecimiento de hongos (27).

Según estudio fueron evaluadas las actividades antifúngicas in vitro de aceites esenciales derivados de plantas aromáticas cultivadas localmente contra el patógeno del tizón tardío. Las propiedades antimicrobianas de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) volátil y de contacto variaron según los aceites esenciales. Tanto la fase volátil como la fase de contacto de los aceites esenciales de orégano, tomillo, hinojo y romero han resultado ser fungicidas en su respectiva MIC. El aceite esencial de lavanda fue fungicida en su fase de contacto, pero fungistático en su fase volátil. Sin embargo, las fases volátiles y las de contacto del aceite esencial de laurel presentaron efectos fungistáticos, (28).

### **Microorganismos y metabolitos secundarios con potencial de inhibición sobre *Phytophthora infestans***

El control eficiente del tizón tardío por agentes de control biológico bacteriano se ha observado en pocos casos en experimentos de invernadero o incluso en campo, pero la mayoría de los estudios informaron una falta de reproducibilidad en la protección contra esta enfermedad. De hecho, a diferencia de una molécula sintética que actúa directamente sobre un objetivo específico del patógeno, los agentes de biocontrol necesitan competir de manera eficiente con la microbiota nativa y otros factores para colonizar el ambiente. Una vez establecidos, pueden producir moléculas bioactivas que activan la defensa inmunológica de la planta huésped o que inhiben directamente el desarrollo del patógeno. Los microorganismos candidatos de biocontrol para los que se demostró actividad inhibitoria contra *P. infestans* incluyen especies fúngicas de *Trichoderma*, el oomiceto *Pythium oligandrum* y varias especies bacterianas que pertenecen predominantemente a los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* (4,29). La microflora existente en la rizosfera podría tener posibles efectos biocontroladores en fitopatógenos (30).

Muchas *Pseudomonas spp.* han sido identificadas como agentes de biocontrol, con cepas capaces de proteger las plantas de una amplia variedad de patógenos bacterianos, fúngicos y oomicetos. En una investigación al exponer a una cepa R47 de *Pseudomonas*

activa se observó una fuerte inhibición del crecimiento micelial para todos los aislados de *P. infestans*. Las bacterias *Pseudomonas* poseen amplios arsenales de compuestos antifúngicos, antibióticos, toxinas y otros metabolitos secundarios; por ejemplo, se sabe que *Pseudomonas* R47 produce el compuesto volátil inorgánico cianuro de hidrógeno (HCN) y fenazinas, los cuales inhiben *P. infestans*. En otro estudio se determinó que una nueva cepa de *Pseudomonas fluorescens*, LBUM636, aislada de un campo en Canadá, y que produce el antibiótico PCA, muestra una fuerte actividad antagonista contra *Phytophthora infestans* y buen potencial de biocontrol contra el tizón tardío de la papa. El uso de bacterias ofrece ventajas significativas sobre las moléculas sintéticas con respecto al manejo de la resistencia porque es extremadamente improbable que un aislado de *P. infestans* adquiera resistencia contra todas las moléculas responsables de la inhibición (29,31).

Ahora se conoce que, además de su arsenal antimicrobiano soluble bien documentado, las bacterias emiten una amplia gama de compuestos orgánicos volátiles (COV) que tienen un fuerte potencial inhibidor contra los competidores microbianos. *P. infestans* expone alta susceptibilidad a los compuestos volátiles bacterianos; cepas cianogénicas de *Pseudomonas* han mostrado actividad significativa, lo que conduce a una inhibición completa del crecimiento del fitopatógeno, por otra parte y aunque con menor actividad las no cianogénicas también producen compuestos volátiles anti-oomicetos.

Los compuestos volátiles emitidos exponen 1-undeceno como un compuesto producido por las cepas que inducen la inhibición del crecimiento mediada por *P. infestans*. El suministro de 1-undeceno puro a *P. infestans* ha mostrado reducción en el crecimiento del micelio, la formación de esporangios, la germinación y la liberación de zoosporas de una manera dependiente de la dosis (32). En el análisis de 95 aislamientos de bacterias para determinar su biosurfactante y su actividad de biocontrol contra *Phytophthora infestans* solo cinco de estos fueron efectivos contra *P. infestans* teniendo propiedades de biocontrol. *Pseudomonas aeruginosa* mostró 62.22% de zona de inhibición después de 72 horas, este aislado es prometedor como agente de control biológico contra *P. infestans* en el campo (33,34).

Los actinomicetos, especialmente los pertenecientes al género *Streptomyces sp.*, han sido utilizados junto a otras poblaciones microbianas, no solo en la inhibición de *P. infestans*, sino también de otros fitopatógenos. Los actinomicetos presentes en purines o extractos fermentados de plantas de chipaca (*Bidens pilosa L.*), han mostrado su efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans* (35).

Los microorganismos de biocontrol con frecuencia producen distintos compuestos antibacterianos y antifúngicos. En un análisis del genoma de *B. subtilis* SZMC 6179J para identificar posibles determinantes genéticos de características de control biológico, la cepa demostró que ejerce excelentes propie-

dades antagonistas *in vitro* frente a patógenos como *Phytophthora infestans*. Previamente hay información sobre una identificación taxonómica preliminar, enzimas extracelulares y características de secreción de antibióticos, y un amplio espectro antagonista *in vitro* de la cepa. Las cepas de *Bacillus* son agentes biológicos exitosos para el control de plagas debido a la competencia que tienen por los nutrientes y el nicho ecológico en la rizosfera. (36). El género *Bacillus*, es considerado una importante alternativa como agente de control biológico, gracias a características propias como su ubicuidad en el suelo, la producción de esporas resistentes a factores ambientales como la desecación, calor, radiación UV y solventes orgánicos, por ser promotor de crecimiento en plantas (PGPR), por su sistema de resistencia inducida y por la producción de sustancias de tipo enzimático que favorece la inhibición de fitopatógenos(37). La acción biocontroladora de especies como *Bacillus brevis* y *Bacillus subtilis* está mediada por la producción de metabolitos a lo largo de la curva de crecimiento, estos metabolitos de tipo antibiótico son capaces de actuar sobre microorganismos de diversa etiología, los péptidos que produce y que tienen esta acción son variados y se ha visto que afectan directamente a algunos fitopatógenos. (38)

La mejora de la inmunidad natural de las plantas podría ser una estrategia para una protección más sostenible. Varios estudios sobre la diversidad de metabolitos secundarios microbianos, entre estos los compues-

tos orgánicos volátiles (COV) de bajo peso molecular dan a conocer que este método da como resultado una preparación potente del sistema inmune basal de la planta, denominada resistencia sistémica inducida (ISR), que concede resistencia de amplio espectro contra los patógenos. En análisis con la inmunidad activada por patrones (PTI) y el posterior montaje de la Resistencia Sistémica adquirida (SAR), la obtención de ISR no afecta negativamente el crecimiento y la productividad; por el contrario, muchos microorganismos desencadenantes de ISR son seleccionados por sus propiedades de promoción del crecimiento de las plantas y de alivio del estrés. En este estudio se pudo ver que *P. infestans* era el organismo más susceptible a COV, las especies de *Pseudomonas* mostraban la mayor actividad mediada por los compuestos orgánicos volátiles debido a su producción de cianuro de hidrógeno, esto podría explicar una gran parte de la inhibición observada. Por otra parte, tanto los micelios como los esporangios del oomiceto tienen alta sensibilidad a los compuestos que contienen azufre. (39,40)

Los aislamientos asociados naturalmente con las plantas de papa tienen la mayor probabilidad de reintroducirse artificialmente en un cultivo con fines de control. Sin embargo, los efectos protectores medidos en ensayos de cultivo y experimentos de infección de disco de la hoja aún no se han transpuesto a ensayos de campo exitosos. La contribución directa de los COV microbianos en la supresión de la enfermedad en campo abierto sigue siendo difícil de alcanzar. (39)

Las plantas solanáceas (familia Solanaceae) producen una amplia variedad de metabolitos secundarios que contienen nitrógeno, conocidos como alcaloides. Se cree que estos compuestos tienen un papel importante en la protección contra infecciones o ataques. Los glicoalcaloides esteroidales de sabor amargo (SGA) que se encuentran naturalmente en las plantas de tomate y berenjena demuestran una mayor toxicidad para *P. infestans* (inicialmente aislado de la papa) que la  $\alpha$ -chaconina y la  $\alpha$ -solanina derivadas propiamente de la papa. Hasta el momento no se ha presentado ninguna investigación definitiva sobre la toxicidad de los SGA para *P. infestans*. En los resultados de este estudio muestran que los SGA derivados de la patata  $\alpha$ -chaconina y  $\alpha$ -solanina no ejercen una inhibición directa significativa en el crecimiento micelial de *P. infestans*, mientras que la forma no glucosilada de solanidina presente en la planta solanácea tiene un fuerte efecto inhibitorio (41).

*Bacillus subtilis* WL-2 es considerada la cepa antifúngica con mayor potencial contra el crecimiento micelial de *P. infestans*. Además, los metabolitos funcionales extraídos de WL-2 se han identificado como lipopéptidos cíclicos (CLP) de la familia Iturina mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y espectrometría de masas por ionización por electropulverización (ESI-MS). Los análisis con microscopía electrónica de barrido y transmisión (SEM y TEM) han revelado que Iturina causó un cambio en la superficie del micelio y daño a la estructura celular interna, incluida la



interrupción de la membrana celular y la formación irregular de orgánulos. Las mitocondrias de *P. infestans* afectadas por Iturina sufrieron daños tan graves que la MMP y MRCCA disminuyeron notablemente y la capacidad de producción de ATP mitocondrial se debilitó. Por lo tanto, Iturina induce daño a la membrana celular, estrés oxidativo y disfunción de las mitocondrias, lo que resulta en la muerte de células hifales de *P. infestans* (42).

Las bacterias que pertenecen al género *Lysobacter* se encuentran con frecuencia en el suelo y el aumento de la supresión de la enfermedad de los fitopatógenos del suelo tiene correlación significativa con el aumento de las poblaciones de las mismas. El género *Lysobacter* incluye especies que son antagonistas eficientes de fitopatógenos y candidatos potenciales para el control biológico de las enfermedades de los cultivos. En un estudio realizado con el perfil transcripcional de RNA-Seq de *Lysobacter capsici* AZ78 se caracterizó por la regulación positiva de genes relacionados con la biogénesis de pilus tipo 4 y enzimas líticas, implicadas, respectivamente, en la colonización del huésped y el posterior ataque de la pared celular de *P. infestans*. La activación de los procesos de desintoxicación permitió a *L. capsici* AZ78 superar los intentos de procesos de defensa de *P. infestans*. Además, los genes implicados en la biosíntesis de antibióticos estaban regulados en *L. capsici* AZ78 y causaron la muerte celular en *P. infestans*. Las consecuencias de la muerte celular de *P. infestans* resultó en la baja regulación de las rutas metabólicas pri-

marias, como los carbohidratos, los ácidos nucleicos y el metabolismo de las proteínas. En general, el mecanismo de acción de *L. capsici* AZ78 se relacionó con el parasitismo y las actividades depredadoras que causan la muerte de *P. infestans* (43,44).

### **CRISPR/Cas frente a fitopatógenos**

Un componente clave en el manejo de muchas enfermedades de los cultivos es el uso de genes de resistencia a las enfermedades de las plantas. Sin embargo, el descubrimiento y luego la identificación de secuencia de estos genes vegetales es un desafío, mientras que la caracterización de las moléculas que reconocen, los productos efectoros en los patógenos, es a menudo considerablemente más directa. (45) Los avances científicos se están desarrollando con miras hacia tecnologías de secuenciación de alto rendimiento, la comprensión de la patogénesis, y la inmunidad innata de las plantas, se está llevando a cabo la introducción de nuevas herramientas de control para desarrollar resistencia a las enfermedades.

La aplicación de nuevas tecnologías frente al control de enfermedades de las plantas y la protección de cultivos, incluye la interferencia de ARN (ARNi) y los sistemas de repetición palindrómica corta entrecruzados regularmente (CRISPR) / asociados a CRISPR (Cas). Se ha demostrado que RNAi es una herramienta poderosa para la aplicación en mecanismos de defensa

de plantas contra diferentes patógenos, así como sus respectivos vectores, y el sistema CRISPR / Cas se ha utilizado ampliamente en la edición de genes o reprogramar o eliminar cualquier secuencia de ADN / ARN elegida.(46)

Los organismos vivos de tipo vegetal presentan un obstáculo de importancia al llevar a cabo técnicas como CRISPR/Cas debido a la presencia de pared celular, por esta razón se han desarrollado metodologías para facilitar la inclusión de esta técnica como alternativa de mejoramiento para las especies vegetales. La pared celular vegetal obstaculiza el anclaje entre la secuencia blanco y los componentes del sistema CRISPR, la proteína Cas, el gARN y ADN donante para la recombinación homóloga, por lo anterior la eficiencia del proceso se ve afectado por el sistema empleado de entrega de estos componentes (47)

Mediante algunos estudios realizados usando la técnica CRISPR/Cas9 se determinó que este sistema no funciona con la eficiencia esperada en *P.infestans* comparada con otros *Phytophthora spp*; Una clara diferencia entre *P.infestans* y otras *Phytophthora spp*. es que se observan mutaciones inducidas por CRISPR, es su temperatura de crecimiento. Mientras que *P. infestans* se incuba típicamente a 18 ° C, las otras tres especies se cultivan a 25 ° lo cual supondría que allí se encuentra el error pero por otro lado, CRISPR / Cas9 se ha empleado en huevos de salmón a temperaturas tan bajas como 6 ° C por lo que es poco probable que la tem-

peratura de incubación sea la única razón de la ausencia de actividad de Cas9 en *P. infestans*.(48)

En un estudio se pudo demostrar que las construcciones de hp-RNA (ARN en horquilla) en la papa afectaron la colonización e invasión del huésped por *P. infestans* en varios grados. *P. infestans* tiene solo un gen de subunidad  $\alpha$  (PiGPA1) y uno  $\beta$  (PiGPB1). Principalmente, PiGPB1 es importante para la formación de esporangios y no se expresa fuertemente en micelios. Cuando la infección progresa de un modo biotrófico a uno necrotrófico se requiere la formación continua de esporangios, este proceso se ve afectado en las plantas transgénicas con hp-RNA imponiendo dificultades al oomiceto para infectar nuevas células huésped que conducen a una menor colonización y propagación del patógeno.(49)

### **¿Por qué evitar el uso de fungicidas en el control de la enfermedad causada por fitopatógenos?**

El uso de algunos productos químicos sintéticos para controlar las enfermedades fúngicas de los productos alimenticios está restringido debido a su posible carcinogenicidad y toxicidad aguda, largos periodos de degradación y contaminación ambiental. Todos los factores del crecimiento vegetativo de la planta, como la altura, la brotación, las ramas y el número de hojas, se han observado antes y después de la incidencia de

la enfermedad, en condiciones de campo, encontrándose diferencias impresionantes debido a las sustancias promotoras del crecimiento producida por los agentes biorracionales en comparación con los fungicidas químicos y los tratamientos de control. El uso de compuestos de base biológica en extractos de plantas puede ser una alternativa a los fungicidas utilizados actualmente para controlar los hongos fitopatógenos y las bacterias, ya que virtualmente constituyen una fuente rica de químicos bioactivos como fenoles, flavonoides, quinonas, taninos, alcaloides, saponinas. y esteroides (15,50).

Los fungicidas desempeñan un papel crucial en el control integrado del tizón tardío. Desde su introducción en los Países Bajos en 1992, el fluazinam se ha utilizado en estrategias de control del tizón tardío en papas de consumo y almidón. Tiene un amplio espectro de actividad y es eficaz contra una variedad de enfermedades, como el tizón tardío de la papa. Sin embargo, el *fluazinam* no es recomendado usarlo en papa de siembra porque el fluazinam mezclado con aceite mineral (usado para prevenir la transmisión del virus) produce fitotoxicidad (51).

En algunos países al igual que en la producción biodinámica, las organizaciones de agricultura orgánica no permiten el uso de fungicidas de cobre para sus agricultores. Debido a la acumulación de cobre en el suelo y los efectos secundarios perjudiciales que en el medio ambiente se requiere

con urgencia una reducción de la entrada de fungicidas de cobre. Como parte de una estrategia de control contra el tizón tardío con una entrada de cobre reducida, sería deseable un reemplazo al menos parcial de los fungicidas de cobre por sustancias alternativas que cumplan con los estándares de la agricultura orgánica (52).

### **Alternativa para reducir los efectos nocivos de los fungicidas químicos con elementos biodegradables**

Las sustancias químicas como tratamiento de control de la enfermedad son ampliamente utilizadas en la producción de alimentos. Sin embargo, menos del 0.1% de estas sustancias alcanzan sus objetivos biológicos. Se ha trabajado en la búsqueda de controlar la enfermedad causada por *Phytophthora infestans* usando ciazofamida encapsulada en nanopartículas de ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA) biodegradables, estas nanopartículas llegaron a esporangios, zoosporas enquistadas y quistes germinados de *P. infestans*, mostrando inhibición de la liberación de zoosporas, por lo anterior se puede considerar que encapsular las sustancias químicas pesticidas-plaguicidas en nanopartículas de polímeros biodegradables es un sistema eficaz e innovador que favorece la reducción de carga química en la agricultura.(53)

Es posible obtener una reducción significativa en el desarrollo de la enfermedad del tizón tardío de la papa después del trata-

miento con ramnolípidos. Los ramnolípidos son biosurfactantes, generalmente se sabe que son menos tóxicos en comparación con los tensioactivos sintéticos y se degradan rápidamente en el medio ambiente. La bioformulación de ramnolípidos mostró una mejor inhibición a una concentración del 0.2%, y no se observó ningún signo de fitotoxicidad a esta concentración. Sin embargo, a una concentración del 0.3% se observa una ligera toxicidad (54).

## Conclusiones

*Phytophthora infestans* al ser un fitopatógeno que no solo afecta cultivo de la papa, si no también otros cultivos de importancia económica y debido a su potencial para causar enfermedad debe ser prevenido y tratado, si bien muchos de los controles químicos han logrado mitigar los efectos del mismo también generan gran impacto ambiental, contaminación y niveles elevados de toxicidad, que se pueden moderar mediante la aplicación de otras alternativas de control.

Es de gran importancia el uso de controles de tipo biorracional para evitar efectos secundarios ocasionados por los fungicidas de naturaleza química, los cuales se siguen aplicando en algunos países pese a las consecuencias generadas por esta actividad. Se puede trabajar para implementar con más fuerza los extractos de aceites, microorganismos, metabolitos, nanopartículas biode-

gradables y otros controles orgánicos que benefician no solo al agricultor sino también a la población y al medio ambiente, llevando a cabo un manejo integral que favorece la estabilidad de los cultivos y la salud de los consumidores. Por otra parte, las herramientas tecnológicas existentes pueden ser una excelente alternativa para llevar a cabo procesos preventivos, sobre las plantas.

## Referencias

1. Reinhardt D, Sharma A. Methods in Rhizosphere Biology Research. Series ISSN 2523-8442. Singapore: Springer Singapore; 2019. Available from: <https://www.springer.com/gp/book/9789811357664> [Accessed 06 June 2019]
2. Rezzonico F, Rupp O, Fahrentrapp J. Pathogen recognition in compatible plant-microbe interactions. Scientific Reports. 2017; 7, 6383. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04792-5>
3. Wang XW, Guo LY, Han M, Shan K. Diversity, evolution and expression profiles of histone acetyltransferases and deacetylases in oomycetes. BMC Genomics. 2016 ; 17(1): 927. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3285-y>
4. De Vrieze M, Germanier F, Vuille N, Weisskopf L. Combining Different Potato-Associated Pseudomonas Strains for Improved Biocontrol of *Phytophthora infestans*. Frontiers in Microbiology. 2018; 9: 2573. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02573>
5. Ortiz V, Phelan S, Mullins E. A temporal assessment of nematode community structure and diversity in the rhizosphere of cisgenic *Phytophthora infestans*-resistant potatoes. BMC Ecology. 2016 ; 16(1): 55. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12898-016-0109-5>

6. Cai G, Fry WE, Hillman BI. PiRV-2 stimulates sporulation in *Phytophthora infestans*. *Virus research*. 2019 ; 271. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197674>
7. Garcia PG, dos Santos FN, Zanotta S, Eberlin MN, Carazzone C. Metabolomics of *Solanum lycopersicum* Infected with *Phytophthora infestans* Leads to Early Detection of Late Blight in Asymptomatic Plants. *Molecules*. 2018; 23(12): 3330. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules23123330>
8. Leesutthiphonchai W, Vu AL, Ah-Fong AM v, Judelson HS. How Does *Phytophthora infestans* Evade Control Efforts? Modern Insight Into the Late Blight Disease. *Phytopathology*. 2018; 108(8): 916–924. Available from: <https://doi:10.1094/PHYTO-04-18-0130-IA>
9. Zhan F, Wang T, Iradukunda L, Zhan J. A gold nanoparticle-based lateral flow biosensor for sensitive visual detection of the potato late blight pathogen, *Phytophthora infestans*. *Analytica Chimica Acta*. 2018; 1036:153–161. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.083>
10. Ostos Ortíz O, Rosas Arango S, González Devia J. Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. *NOVA*. 2019 ;17(31):129-63. Available from: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/950> [Accessed 12 sep.2020]
11. García-Bayona L, Garavito MF, Lozano GL, Vasquez JJ, Myers K, Fry WE, et al. De novo pyrimidine biosynthesis in the oomycete plant pathogen *Phytophthora infestans*. *Gene*. 2014; 537(2): 312–321. Available from: <https://doi:10.1016/j.gene.2013.12.009>
12. Chung I-M, Venkidasamy B, Upadhyaya CP, Packiaraj G, Rajakumar G, Thiruvengadam M. Alleviation of *Phytophthora infestans* Mediated Necrotic Stress in the Transgenic Potato (*Solanum tuberosum* L.) with Enhanced Ascorbic acid Accumulation. *Plants*. 2019; 8(10): 365. Available from: <https://doi:10.3390/plants8100365>
13. Garavito M, Narvaez H, Pulido D, Löffler M, Judelson H, Restrepo S et al. *Phytophthora infestans* Dihydroorotate Dehydrogenase Is a Potential Target for Chemical Control – A Comparison With the Enzyme From *Solanum tuberosum*. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10:1479. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01479>
14. Zhang S, Zheng X, Reiter RJ, Feng S, Wang Y, Liu S, et al. Melatonin attenuates potato late blight by disrupting cell growth, stress tolerance, fungicide susceptibility and homeostasis of gene expression in *Phytophthora infestans*. *Frontiers in Plant Science*. 2017 ; 8: 1993. Available from: <https://doi:10.3389/fpls.2017.01993>
15. Bedoya, O., Benavides, A., Daza, D. and Chazartar, L. Actividad inhibitoria del aceite esencial de *Lippia origanoides* H.B.K sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans*. *Acta Agronómica*. 2014; 64 (2):116-124 . Available from: <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v64n2.42964>.
16. Matusinsky P, Zouhar M, Pavela R, Novy P. Antifungal effect of five essential oils against important pathogenic fungi of cereals. *Industrial Crops and Products*. 2015; 1; 67:208–15. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.022>
17. Carillo Y, Gomez M, Potes J, Nustez C. Efecto de algunos aceites esenciales sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en condiciones de laboratorio. *Agronomía Colombiana*. 2010; 38 (2):245-253 Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v28n2/v28n2a14.pdf> [cited 9 June 2019]
18. Portz D, Koch E, Slusarenko A. Effects of garlic (*Allium sativum*) juice containing allicin on *Phytophthora infestans* and downy mildew of cucumber caused by *Pseudoperonospora cubensis*. *European Journal of Plant Pathology*. 2008; 122 :197–206. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9334-x>
19. Alvarez S D, Salazar G C, Hurtado B A, Delgado B D, Arango B O. In vitro sensitivity of Phyto-

- phthora Infestans to fique extract (*Furcraea gigantea* vent.) and systemic fungicides. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 2011; 9 (2) :96-104. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-35612011000200011&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612011000200011&lng=en&nrm=iso) [cited 11 June 2019]
20. Solarte RD, Osorio O. Evaluación de la concentración del jugo de fique (*Furcraea* spp) para el control in vitro de *Phytophthora infestans* en plantas de papa (*Solanum tuberosum* L). *Información Tecnológica*. 2014 ;25(5):47–54 Available from: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000500008>
  21. Otero I, Hurtado A, Arango O, Fernández P, Martínez F, Parra Z. Bacterias aisladas del jugo de fique con actividad antagonica sobre *Phytophthora infestans* (mont.) de bary. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 2014; 12(1): 28-35. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-35612014000100004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612014000100004&lng=en&nrm=iso) [Accessed 11 June 2019]
  22. Bacalla K. Actividad antimicrobiana in vitro de dos aceites esenciales contra *Phytophthora infestans* en Chachapoyas, Amazonas, 2018. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza - UNTRM [Internet]. 2019; Available from: <http://repositorio.untrm.edu.pe/handle/UNTRM/1697> [Accessed 13 June 2019]
  23. Andrade G, García A, Cervantes L, Aíl C, Borboa J, Rueda E. Estudio del potencial biocontrolador de las plantas autóctonas de la zona árida del noroeste de México: control de fitopatógenos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* [Internet]. 2017;49(1):127–42. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=382852189011> [Accessed 15 June 2019]
  24. Thanh V, Bui L, Bach L, Nguyen N, Le Thi H, Thi T. *Origanum majorana* L. essential oil-associated polymeric nano dendrimer for antifungal activity against *Phytophthora infestans*. *Materials*. 2019;12(9). Available from: <https://doi:10.3390/ma12091446>.
  25. Andrago A, Espinoza S. Uso de extractos de pen-co azul (agave americana) y hongos de sombrero (*estrobilurus tenacellus*) como preventivos del tizón tardío (*phytophthora infestans*) en el cultivo de papa (*solanum tuberosum*) variedad chaucha amarilla. 2017; Available from: <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/26385> [Accessed 15 June 2019]
  26. Oshchepkova Y, Veshkurova O, Salikhov S, Zaitsev D, Smirnov A, Egorov T, et al. Comparative analysis of extracts of *Nigella sativa* exhibiting antifungal activity against the Oomycete *Phytophthora infestans*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2013;49(5):985–987. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10600-013-0803-x>
  27. Quintanilla P, Rohloff J, Iversen T. Influence of essential oils on *Phytophthora infestans*. *Potato Research*. 2002;45(2–4):225–35. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF02736117>
  28. Soylu E, Soylu S, Kurt S. Antimicrobial Activities of the Essential Oils of Various Plants against Tomato Late Blight Disease Agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*. 2006;161(2):119-128. Available from: [doi:10.1007/s11046-005-0206-z](https://doi.org/10.1007/s11046-005-0206-z)
  29. De Vrieze M, Gloor R, Massana Codina J, Torriani S, Gindro K, L'Haridon F, et al. Biocontrol Activity of Three *Pseudomonas* in a Newly Assembled Collection of *Phytophthora infestans* Isolates . *Phytopathology*. 2019; 109(9):1555–1565. Available from: <https://doi:10.1094/PHYTO-12-18-0487-R>
  30. Benítez S, Bentley J, Bustamante P, Sánchez L, Corrales L. Aislamiento de los microorganismos cultivables de la rizosfera de *Ornithogalum umbellatum* y evaluación del posible efecto biocontrolador en dos patógenos del suelo. *NOVA*. 2007;5(8). Available from: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/212>. [Accessed 13 Sep 2020]

31. Morrison CK, Arseneault T, Novinscak A, Filion M. Phenazine-1-carboxylic acid production by *Pseudomonas fluorescens* LBUM636 alters *Phytophthora infestans* growth and late blight development. *Phytopathology*. 2017 ; 107(3):273-279. Available from: <https://doi.org/10.1094/PHTO-06-16-0247-R>.
32. Hunziker L, Bönisch D, Groenhagen U, Bailly A, Schulz S, Weisskopf L. *Pseudomonas* Strains Naturally Associated with Potato Plants Produce Volatiles with High Potential for Inhibition of *Phytophthora infestans*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2015 81(3):821-30. Available from: <https://doi.org/10.1128/AEM.02999-14>
33. Tomar S, Singh BP, Lal M, Ma K, Hussain T, Sharma S, et al. Screening of novel microorganisms for biosurfactant and biocontrol activity against *Phytophthora infestans*. *Journal of environmental biology*. 2014; 35(5):893–899. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25204064/> [Accessed 4 July 2019]
34. De Vrieze M, Pandey P, Bucheli TD, Varadarajan AR, Ahrens CH, Weisskopf L, et al. Volatile organic compounds from native potato-associated *Pseudomonas* as potential anti-oomycete agents. *Frontiers in Microbiology*. 2015; 6: 1295. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01295>
35. Fonseca Y, Castellanos D, León T. Efecto Antagónico in vitro de Actinomicetos Aislados de Purines de Chipaca (*Bidens pilosa* L.) Frente a *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 2011;64 (2):6111-6119. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/1799/179922664008.pdf> [Accessed 7 July 2019]
36. Bóka B, Manczinger L, Kocsubé S, Shine K, Alharbi NS, Khaled JM, et al. Genome analysis of a *Bacillus subtilis* strain reveals genetic mutations determining biocontrol properties. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019 ; 35(3): 52. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2625-x>
37. Castañeda Alvarez E, Sánchez LC. Evaluación del crecimiento de cuatro especies del género *Bacillus* sp., primer paso para entender su efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. *NOVA*. 2016;14(26):53-5. Available from: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/517> [Accessed 12 sep 2020]
38. Layton et al. C. *Bacillus* spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *NOVA*. 2011 ;9(16). Available from: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/185> [Accessed 12 sep.2020]
39. Bailly A, Weisskopf L. Mining the volatiles of plant-associated microbiota for new biocontrol solutions. *Frontiers in Microbiology*. 2017;8:1638. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01638>
40. Thomas C, Mabon R, Andrivon D, Val F. The Effectiveness of Induced Defense Responses in a Susceptible Potato Genotype Depends on the Growth Rate of *Phytophthora infestans*. *Molecular plant-microbe interactions* : 2019; 32(1): 76–85. Available from: <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-18-0064-R>
41. Dahlin P, Müller MC, Ekengren S, McKee LS, Bulone V. The impact of steroidal glycoalkaloids on the physiology of *Phytophthora infestans*, the causative agent of potato late blight. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2017 ; 30(7): 531–542. Available from: <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-16-0186-R>
42. Wang Y, Zhang C, Wu L, Wang L, Gao W, Jiang J et al. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* WL-2 and its IturinA lipopeptides against *Phytophthora infestans*. *bioRxiv*. 2019 . Available from: <https://doi.org/10.1101/751131>
43. Tomada S, Sonogo P, Moretto M, Engelen K, Pertot I, Perazzolli M, et al. Dual RNA-Seq of

- Lysobacter capsici AZ78 – Phytophthora infestans interaction shows the implementation of attack strategies by the bacterium and unsuccessful Oomycete defense responses. *Environmental Microbiology*. 2017;19(10):4113–4125. Available from: doi:10.1111/1462-2920.13861
44. Lazazzara V, Perazzolli M, Pertot I, Biasioli F, Puopolo G, Cappellin L. Growth media affect the volatilome and antimicrobial activity against *Phytophthora infestans* in four *Lysobacter* type strains. *Microbiological Research*. 2017; 201:52–62. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.04.015>
  45. Van de Wouw A, Idnurm A. Biotechnological potential of engineering pathogen effector proteins for use in plant disease management. *Microbial Engineering Biotechnologies*. 2019; 37 (6) Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.04.009>
  46. Goulin E, Manzano D, Moreira L, Emy E, Durigan R, Machado M. RNA interference and CRISPR: Promising approaches to better understand and control citrus pathogens. *Microbiological Research*. 2019; 226:1-9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501318311704> [Accessed 9 July 2019]
  47. Hernández M. CRISPR/Cas: aplicaciones y perspectivas para el mejoramiento genético de plantas. *Biotecnología Vegetal*. 2018;18 (3):135 - 149. Available from: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/585> [Accessed 8 July 2019]
  48. Van den Hoogen J, Govers F. Attempts to implement CRISPR/Cas9 for genome editing in the oomycete *Phytophthora infestans*. *bioRxiv*. 2019. Available from: <https://doi.org/10.1101/274829>
  49. Jahan SN, Åsman AKM, Corcoran P, Fogelqvist J, Vetukuri RR, Dixelius C. Plant-mediated gene silencing restricts growth of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*. *Journal of Experimental Botany*. 2015 ; 66(9): 2785–2794. Available from:doi: 10.1093/jxb/erv094
  50. Bhimanagoud Kumbar, Riaz Mahmood, S.N. Nagesha, M.S. Nagaraja, D.G. Prashant, Ondara Zablou Kerima, Arti Karosiya, Mohan Chavan. Field application of *Bacillus subtilis* isolates for controlling late blight disease of potato caused by *Phytophthora infestans*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019;22:101366 Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101366>
  51. Schepers H, Kessel G, Lucca F, Förch M, van den Bosch v, Topper C et al. Reduced efficacy of fluzinam against *Phytophthora infestans* in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology*. 2018;151:947–960. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1430-y>
  52. Nechwatal J, Zellner M. Potential suitability of various leaf treatment products as copper substitutes for the control of late blight (*Phytophthora infestans*) in organic potato farming. *Potato Research*. 2015;58 :261–276. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11540-015-9302-8>
  53. Fukamachi K, Konishi Y, Nomura T. Disease control of *Phytophthora infestans* using cyazofamid encapsulated in poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2019; 577:315-322. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.05.077>
  54. Tomar S, Lal M, Khan M, Singh B, Sharma S. Characterization of glycolipid biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* PA 1 and its efficacy against *Phytophthora infestans*. *Journal of Environmental Biology*. 2019;40(4): 725-730. Available from: <http://doi.org/10.22438/jeb/40/4/MRN-910>



# Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química

Bacteria, nutrition and growth: a look from chemistry

Liliana Caycedo Lozano<sup>1</sup>, Lucía Constanza Corrales Ramírez<sup>2</sup>, Diana Marcela Trujillo Suárez<sup>3</sup>

## Resumen

La nutrición es un conjunto de procesos y reacciones mediante las cuales los seres vivos toman del medio, en el que habitan, las sustancias químicas que necesitan para crecer, multiplicarse y hacer uso de la energía.

Las sustancias mencionadas anteriormente, se denominan nutrientes y son utilizadas con dos fines: energéticos cuando se requieren para el mantenimiento y biosintéticos cuando se demandan para la síntesis de componentes (anabolismo)

En el primer caso (energéticos) las bacterias se dividen en litótrofas cuando hacen uso de sustancias inorgánicas simples como ( $\text{SH}_2$ , S,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$ , Fe, entre otras); y organótrofas cuando su requerimiento es de sustancias orgánicas (carbohidratos, hidrocarburos, lípidos, proteínas y alcoholes entre otras). En el segundo caso (biosintéticos), se pueden diferenciar en: autótrofas, cuando la síntesis la realizan a partir de sustancias inorgánicas simples ( $\text{CO}_2$ ) y heterótrofas cuando su fuente de carbono es orgánica, pero también pueden utilizar otros elementos distintos al C, que pueden ser captados en forma inorgánica. Sean autótrofas o heterótrofas, todas las bacterias requieren de una serie de sustancias químicas, que se pueden clasificar en macronutrientes o micronutrientes de acuerdo con la cantidad que de estas se requieran de estas sustancias que sean requeridas.

**Palabras claves:** nutrición, metabolismo, crecimiento, cultivo.

1. Docente, Programa de Ciencias Básicas. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca  
Número de certificación CvLAC 0000660221  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9274-3148>.

2. Docente, Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca  
Número de certificación CvLAC 000048264120121119123  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2398-348X>

3. Coordinadora de Laboratorio Sociedad Médica de Ortopedia y Accidentes Laborales-Clinica de Ortopedia y Accidentes Laborales COAL.  
Número de certificación CvLAC 0001355381  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9462-0339>

## Abstract

Nutrition is a set of processes and reactions by which living beings take from the environment, in which they inhabit, the chemical substances they need to grow, multiply and make use of energy.

The aforementioned substances are called nutrients and are used for two purposes: energetic when required for maintenance and biosynthetics when required for the synthesis of components (anabolism).

In the first case (energetic) the bacteria are divided into lithotrophs when they make use of simple inorganic substances such as ( $\text{SH}_2$ , S,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$ , Fe, among others); and organotrophs when their requirement is for organic substances (carbohydrates, hydrocarbons, lipids, proteins and alcohols, among others). In the second case (biosynthetics), they can be differentiated into: autotrophs, when the synthesis is carried out from simple inorganic substances ( $\text{CO}_2$ ) and heterotrophs when their carbon source is organic, but they can also use other elements than C, which they can be captured in inorganic form. Whether autotrophic or heterotrophic, all bacteria require a series of chemical substances, which can be classified into macronutrients or micronutrients according to the amount of these required of these substances that are required.

**Keywords:** nutrition, metabolism, growth, culture.

---

## Introducción

Los avances en microbiología se deben en gran medida a la observación de fenómenos macroscópicos como, por ejemplo, y, la transformación que ocurre en los alimentos (en la que se arruinan las condiciones organolépticas de los mismos); en los anteriores cambios se infiere que los microorganismos hacen parte del ambiente natural. Uno de los aportes más interesantes para descifrar estos fenómenos ha sido el descubrimiento y la optimización de las condiciones para

el cultivo de los microorganismos. El primer medio de cultivo artificial líquido fue creado por Louis Pasteur en 1860, resaltando la importancia de las necesidades nutricionales de los microorganismos, los cuales debían ser proveídos en medios de cultivo para su aislamiento. El desarrollo del primer medio de cultivo sólido de Koch marcó el inicio, procesos infecciosos en humanos y animales de la evolución de los medios de cultivo bacteriano, en él se logró observar el crecimiento bacteriano en sustancias alimenticias preparadas en el laboratorio,

lo cual permitió observar el crecimiento de las unidades formadoras de colonias (UFC) que se les denomina **Cultivo**, los cuales presentan variedad de características.

El principal agente gelificante utilizado en medios de cultivo sólidos es el agar. Sin embargo, se han observado algunos límites en el uso de este, debido, a que algunas bacterias extremadamente sensibles al oxígeno no crecen en medios de agar, por lo que se propusieron y probaron otras alternativas; luego, el descubrimiento de agentes antimicrobianos y sus objetivos específicos provocó la aparición de medios selectivos. (1)

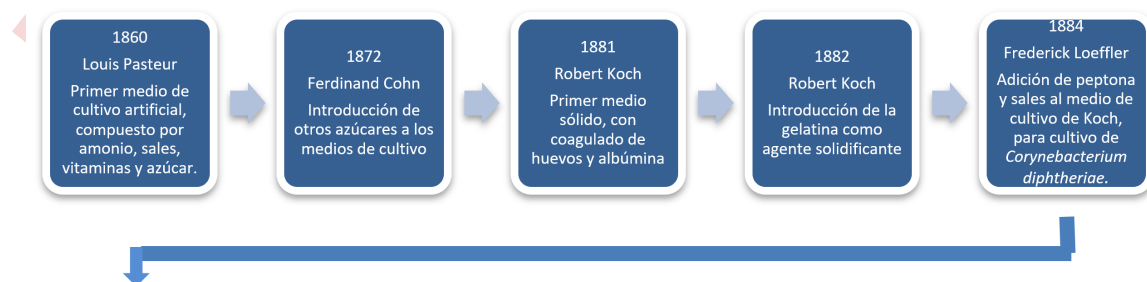
El medio de cultivo artificial debe reunir una serie de condiciones para que las bacterias se mantengan vivas y se desarrollen, factores como la naturaleza, el origen, las interacciones y el metabolismo bacteriano condicionan el tipo y composición del medio de cultivo. Sin embargo, son muchas las especies bacterianas que existen en la naturaleza que aún no son cultivables “*in vitro*”, esto se debe a dificultades tales como: ser microorganismos parásitos de otros; imposibilidad de reproducir las condiciones de

su ecoambiente natural; desconocimiento de los requerimientos específicos nutricionales, y, a la existencia de grupos de microorganismos que deben mantenerse en equilibrio para poder sobrevivir (casos de simbiosis). Se estima que sólo alrededor del 1% de las bacterias del suelo y del 0,01 al 0,1 % de las bacterias marinas son cultivables.

En la composición de los medios de cultivo se encuentran sustancias químicas que proporcionan enriquecimiento como carbohidratos, suero, sangre completa, bilis, aminoácidos y vitaminas, entre otros.

Como agente solidificante de los medios de cultivo se utiliza el agar, este se licúa completamente a la temperatura de la ebullición del agua y se solidifica por debajo de 40°C. En general, no tiene efecto sobre el crecimiento de las bacterias y no es utilizado dentro de su metabolismo; la gelatina es otro agente solidificante, sin embargo, se emplea mucho menos ya que algunas bacterias provocan su licuefacción y en este caso se utiliza más como prueba de identificación.

**Figura 1.** Evolución de los medios de cultivo: desde el primer cultivo bacteriano (1860) hasta la culturómica. en la Tatacoa (Colombia).





Fuente: Autores.

Después de la aparición de técnicas moleculares en la década de 1970, como la PCR, la secuenciación y más particularmente la metagenómica, los microbiólogos han favorecido estas técnicas innovadoras en detrimento de la cultura. Sin embargo, la metagenómica presenta ciertas desventajas y en particular, un sesgo de profundidad, debido a la falta de sensibilidad de los cebadores utilizados, ya que no detecta bacterias presentes en concentraciones  $<10^5$  bacterias por gramo de heces (2). Hace unos años, se desarrolló una nueva técnica de cultivo que utiliza una cantidad de medios y condiciones para extender el repertorio de bacterias (2); esta técnica demuestra la complementariedad entre metagenómica y culturómica. Por lo tanto, la identificación metagenómica de especies bacterianas existentes en una microbiota dada, puede ser explotada por la culturómica a través de la optimización de nuevos medios de cultivo específicos para el aislamiento de estas especies. Esta complementariedad permite que el culturismo se convierta en una técnica dirigida (1).

### **Requerimientos nutricionales y medios de cultivo**

Para crecer, las bacterias necesitan un mínimo de nutrientes: agua, una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno y algunas sales minerales (3).

Se denomina cultivo puro o axénico al que contiene sólo un tipo de microorganismo,

éstos se inician a partir de colonias aisladas, de manera que todos los individuos provengan del mismo linaje. Los cultivos puros son esenciales para estudiar las características metabólicas e identificarlos. (4)

### **Nutrición bacteriana**

Como nutrición se denomina al conjunto de procesos por los cuales los seres vivos toman del medio las sustancias que necesitan para su desarrollo (nutrientes) que requieren para su catabolismo (mantenimiento) y su anabolismo (crecimiento). De igual forma, las bacterias también realizan biosíntesis de nuevos compuestos celulares, que demandan energía procedente del medio ambiente. (4)

De acuerdo con la forma como las bacterias obtienen la energía, se clasifican en: **Quimiótrofos**, cuando la obtienen de sustancias orgánicas y **Fotótrofos**, cuando la obtienen de la luz. (5), mientras que, dependiendo de la ganancia energética, se clasifican en: **Litótrofos** (del griego *lithos* = piedra), cuando requieren sustancias inorgánicas como ácido sulfhídrico ( $H_2S$ ), azufre elemental (S), amoníaco ( $NH_3$ ), ion nitrito ( $NO_2^-$ ), Hierro (Fe), entre otros y Organótrofos, las que requieren compuestos orgánicos como carbohidratos, hidrocarburos, lípidos y proteínas, entre otros. (4,5)

Los procesos biosintéticos, que le permiten suplir las necesidades de crecimiento

(plásticas) a las bacterias se dividen en dos grupos:

1. Por la utilización del carbono se clasifican en:

- **Autótrofas:** las que crecen sintetizando sus materiales orgánicos a partir de sustancias inorgánicas tales como el  $\text{CO}_2$ .
- **Heterótrofas:** la fuente de carbono es orgánica, una de las más utilizadas, es el monosacárido Glucosa ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ).
- **Mixótrofas:** son aquellas que pueden pasar de estadios autotróficos a heterotróficos y viceversa de acuerdo, a las condiciones en que se encuentren.

2. Por los requerimientos nutricionales se clasifican en:

- **Auxótrofas,** cuando se comportan de manera exigente frente a algún requerimiento nutricional exógeno, generalmente por mutación genética.

- **Protótrofas,** cuando no son exigentes y se autoabastecen (4).

Las bacterias reaccionan con una serie de elementos químicos, y de acuerdo con las cantidades en que son requeridos se encuentran macronutrientes como C, H, O, N, P, S, K, Mg y **micronutrientes** como Co, Cu, Zn y Mo, los cuales se encuentran combinados en la naturaleza, formando parte de sustancias orgánicas y/o inorgánicas (3,6,7).

En las diferentes reacciones en las que intervienen, los elementos anotados anteriormente, forman iones que les permiten aumentar su estabilidad química y transportar electrones. La formación de iones positivos (cationes) o negativos (aniones) depende directamente de la configuración electrónica del elemento en estado basal y del carácter metálico del mismo. (8)

**Tabla 1.** Configuración electrónica y carácter metálico de algunos elementos implicados en la Nutrición Bacteriana.

Símbolo del elemento	Nombre	Configuración electrónica en su estado basal	Carácter Metálico
H	Hidrogeno	$1s^1$	No metal
C	Carbono	$[\text{He}] 2s^2 2p^2$	No metal
O	Oxígeno	$[\text{He}] 2s^2 2p^4$	No metal
N	Nitrógeno	$[\text{He}] 2s^2 2p^3$	No metal
P	Fósforo	$[\text{He}] 2s^2 2p^6 3s^2 3p^3$	No metal
S	Azufre	$[\text{Ne}] 3s^2 3p^4$	No metal

Símbolo del elemento	Nombre	Configuración electrónica en su estado basal	Carácter Metálico
K	Potasio	[Ar] 4s <sup>1</sup>	Metal
Mg	Magnesio	[Ne] 3s <sup>2</sup>	Metal
Co	Cobalto	[Ar] 3d <sup>7</sup> 4s <sup>2</sup>	Metal
Cu	Cobre	[Ar] 3d <sup>10</sup> 4s <sup>1</sup>	Metal
Zn	Zinc	[Ar] 3d <sup>10</sup> 4s <sup>2</sup>	Metal
Mo	Molibdeno	[Kr] 4d <sup>5</sup> 5s <sup>1</sup>	Metal

Fuente: Autores.

Así mismo, algunos de los nutrientes son incorporados para construir macromoléculas y estructuras celulares; otros, sólo se utilizan para la producción de energía, y no se incorporan directamente como material celular; y finalmente, unos pocos, pueden ejercer ambos roles.

Las bacterias heterótrofas, aunque no usan el CO<sub>2</sub> como fuente de Carbono ni como aceptor de electrones, necesitan pequeñas cantidades para realizar reacciones de carboxilación en procesos anabólicos y catabólicos. Las reacciones de carboxilación se caracterizan químicamente, por hacer uso de las moléculas de CO<sub>2</sub> como reactivos para producir moléculas más complejas. (9)

Como se estableció anteriormente, la principal fuente de carbono inorgánica (**exógena**), para las bacterias, es el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>); y las fuentes (**endógenas**)

orgánicas pueden ser azúcares y alcoholes. (10, 11). Así, el carbono es el elemento constituyente más abundante en las bacterias y, por tanto, dichos microorganismos producen, a su vez, biomoléculas como lípidos, carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos.

Normalmente, las bacterias crecen a la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico (0.03%). De tal forma que, la composición del medio de cultivo puede influir sobre diferentes aspectos en la fisiología del microorganismo y por ende en la producción de metabolitos primarios y secundarios (12).

**Tabla 2.** Propiedades y Funciones de Macronutrientes.

Nutriente/ Fórmulas y Símbolos	Propiedades Generales	Función
Agua H <sub>2</sub> O	<p>El agua es un compuesto covalente polar.</p> <p>El gran dipolo presente en esta molécula explica muchas de sus propiedades, especialmente su acción como solvente y la formación de puentes de hidrógeno.</p>	<p>Las bacterias necesitan grandes cantidades de agua, es el principal constituyente del protoplasto bacteriano y es el medio donde ocurren las reacciones biológicas.</p> <p>La fuente de agua puede ser: endógena que procede de los procesos de óxido-reducción y exógena (la más importante) que procede del medio y se difunde a través de las membranas. El <math>a_w</math> corresponde a la actividad del agua, relacionada con las concentraciones de solutos (Sales inorgánicas en especial cloruro de sodio (NaCl) e Hidratos de Carbono) en los procesos osmóticos del transporte celular.</p>
Dióxido de Carbono CO <sub>2</sub>	<p>El Dióxido de carbono corresponde a un compuesto covalente inorgánico, cuyo dipolo es igual a cero por lo tanto es una molécula apolar.</p>	<p>El dióxido de carbono es requerido por todo tipo de bacterias, las autótrofas lo requieren como fuente de carbono, y lo reducen usando la luz como fuente de energía (en el caso de las fotoautótrofas) u oxidaciones de determinadas sustancias inorgánicas (en el caso de las quimioautolitótrofas).</p> <p>Las arqueobacterias metanogénicas pueden usar el CO<sub>2</sub> como fuente de carbono e H<sub>2</sub> como proveedor de energía y a partir de los dos procesos se obtiene metano. Las heterótrofas, aunque no usan el CO<sub>2</sub> como fuente de carbono ni como aceptor de electrones, necesitan pequeñas cantidades para realizar reacciones de carboxilación en procesos anabólicos y catabólicos.</p>
Nitrógeno y Azufre N <sub>2</sub> y S	<p>El nitrógeno a condiciones normales se encuentra en su forma estable molecular; los dos átomos del mismo elemento se unen por tres enlaces covalentes que originan una molécula covalente apolar.</p> <p>El azufre es un elemento no metálico que interviene en la formación de aniones.</p>	<p>Se encuentran en la célula en estado reducido. El nitrógeno hace parte del radical amino (NH<sub>2</sub>-), que se encuentra en los aminoácidos y las bases nitrogenadas; el radical sulfhidrilo (-SH) interviene en la formación de algunos aminoácidos (metionina, cisteína) y en coenzimas como la Acetil (CoA).</p> <p>Gran parte de las bacterias fotosintéticas y muchas de las heterótrofas asimilan estos elementos en forma combinada inorgánica y oxidada: como NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, por la acción de la nitrato- reductasa y nitrito- reductasa asimilatorias del nitrógeno.</p> <p>El sulfato (SO<sub>4</sub><sup>=</sup>) se activa con ATP, y luego se reduce hasta sulfito (SO<sub>3</sub><sup>=</sup>) y finalmente a anión sulfhidrilo (SH-), que ya tiene el estado de reducción (-2) adecuado para la incorporación del azufre (S) elemental.</p>
Sodio Na	<p>El sodio es un elemento metálico perteneciente a los elementos alcalinos del grupo IA de la tabla periódica, por lo tanto, tiende a formar cationes con carga +1.</p>	<p>Requerido por las bacterias como ión sodio (Na<sup>+</sup>). Según la preferencia de los microorganismos por este elemento se clasifican en: <b>halófilos</b>, aquellos que necesitan el Na<sup>+</sup> para crecer óptimamente como en las concentraciones de sodio en el agua de mar, éstos a su vez se dividen en <i>moderadamente halófilos</i> los cuales requieren de 6 a 15 % de NaCl (<i>Vibrio fischeri</i>), <i>discretamente halófilos</i> para los que requieren del 1 a 6% de NaCl y <i>halófilos extremos</i> cuando requieren entre 15 – 30% de NaCl. (<i>Halobacterium salinarium</i>).</p> <p>Otro grupo son los <b>Halotolerantes</b>, al que pertenecen los microorganismos que pueden soportar bajas concentraciones de NaCl en el medio ambiente, sin que se reduzca significativamente la actividad del agua (<i>Staphylococcus aureus</i>).</p>



Nutriente/ Fórmulas y Símbolos	Propiedades Generales	Función
Fósforo P	El fósforo es un elemento no metálico, el cual hace parte de un gran número de moléculas altamente energéticas. Por sus características químicas corresponde a un no metal que tiende a formar aniones de carga $-3$ .	Se encuentra en forma de sales como fosfatos orgánicos o inorgánicos. Las bacterias que pueden usar los fosfatos orgánicos a través de enzimas (fosfatasa - fitasa) no dependen absolutamente de ellos, pueden recurrir igualmente a los fosfatos inorgánicos. El fósforo es utilizado principalmente en la síntesis de macromoléculas como los ácidos nucleicos, fosfolípidos, coenzimas y proteínas.
Sales minerales M (NM)O <sub>x</sub> (sales oxácidas) M NM (sales hidrácidas)	Estos dos tipos de compuestos iónicos neutros, intervienen como fuente simultánea de aniones y cationes debido a la presencia en la misma molécula de elementos metálicos y no metálicos.	Se constituyen en fuente de aniones tales como cloruro (Cl <sup>-</sup> ) y de cationes como (Na <sup>+</sup> ) para la célula.
Catión proveniente del potasio (K) K <sup>+1</sup>	El potasio, al igual que el Na, es un metal alcalino altamente reactivo por lo tanto alcanza la estabilidad química por la formación de cationes con carga <sup>+1</sup> .	Interviene en la activación de enzimas, participa en la síntesis de proteínas. En las bacterias Gram positivas está asociado con los ácidos teicoicos de la pared.
Catión procedente del magnesio (Mg) Mg <sup>+2</sup>	El magnesio es un metal alcalinotérreo, el cual preferencialmente forma cationes con carga <sup>+2</sup> .	Interviene en la funcionalidad de ribosomas, membranas y ácidos nucleicos; se desempeña como cofactor en muchas reacciones, especialmente las que implican transferencia de grupos fosfato (PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> ), por ejemplo, en las reacciones que requieren ATP. Igualmente, el Mg <sup>+2</sup> interviene en procesos enzimáticos y es componente de las clorofilas y bacterioclorofilas de bacterias fotosintéticas.
Catión procedente del calcio (Ca) Ca <sup>+2</sup>	El calcio es un metal alcalinotérreo, el cual preferencialmente forma cationes con carga <sup>+2</sup> .	Actúa en reacciones enzimáticas como cofactor de proteinasas, estabiliza la pared bacteriana, ayuda en la termorresistencia de la endospora bacteriana.
Cationes ferroso y férrico procedentes del hierro (Fe) Fe <sup>+2</sup> y Fe <sup>+3</sup>	El hierro posee la propiedad de alcanzar, mediante la formación de cationes, estados que a su vez permiten el transporte electrónico dependiendo del medio en el que se encuentren.	Generalmente se encuentra formando complejos en la naturaleza, como sales insolubles. Algunas bacterias disponen de una serie de moléculas, denominadas sideróforos, capaces de captar el hierro y que, además, constituye un factor de virulencia.  El hierro, hace parte de muchas moléculas implicadas en procesos de respiración, como citocromos y ferroproteínas no hémicas (proteínas con Fe-S); interviene como cofactor en la función de ciertas enzimas (catalasas, peroxidasas, nitrogenasas y oxigenasas). Forma parte de los magnetosomas, de los cuales depende el comportamiento magnetotáctico capacidad de orientarse en el campo magnético de ciertas bacterias. Se encuentra bajo la forma de magnetita óxido de hierro ferromagnético (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ), pirita (FeS <sub>2</sub> ) y agreiguita (Fe <sub>3</sub> S <sub>4</sub> ).

M: Elemento Metálico

NM: Elemento no metálico.

**Fuente:** Autores.

Las propiedades que tienen las bacterias de metabolizar elementos y compuestos les ha conferido el uso de ser inoculantes biológicos en sistemas agrícolas, en los cuales favorece el desarrollo de las plantas, mediante diferentes mecanismos, tales como la fijación de nitrógeno, inducción de resistencia frente a patógenos, promoción de rizogéne-

sis y síntesis de fitohormonas estimuladoras del crecimiento vegetal, como el ácido indol acético (AIA); dentro de los géneros reportados como promotores del crecimiento vegetal (PGPR) se encuentran *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium sp.* y *Bradyrhizobium sp.*, entre otros (13). Otros tipos de actividades promotoras del crecimiento vegetal,

asociadas a la disponibilidad de P en el suelo, son la solubilización ácida del P inorgánico y la mineralización del P orgánico. La solubilización de los compuestos inorgánicos insolubles como los fosfatos de calcio, se lleva a cabo por la producción de ácidos orgánicos (ácido glucónico, ácido 2-cetoglucónico, ácido glicólico, oxálico, malóni-

co y succínico), productos del catabolismo microbiano, y la consecuente sustitución del  $\text{Ca}^{++}$ . (14, 15).

**Los micronutrientes o elementos traza**, son aquellos que las bacterias necesitan en pequeñas cantidades, denominados también oligoelementos.

**Tabla 3.** Propiedades y Funciones de los Micronutrientes.

Nutriente/ Fórmulas y símbolos	Propiedades Generales	Función
Manganeso Mn	El Manganeso es un metal de transición que cuenta con múltiples estados de oxidación que le permiten actuar como agente oxidante o reductor.	Cofactor de ciertas enzimas y a veces puede sustituir al $\text{Mg}^{2+}$ , presente en algunas superóxido dismutasas o en la enzima que rompe el agua del fotosistema II, en los fotótrofos oxigénicos.
Cobalto Co	El Cobalto es un metal de transición que forma compuestos estables especialmente con los estados de oxidación $+2$ y $+3$ .	Se requiere casi exclusivamente para la síntesis de la vitamina B12. (si se suministra esta vitamina al medio, la bacteria se vuelve independiente del cobalto libre). También tiene funcionalidad en las transcarboxilasas (bacterias del ácido propiónico).
Zinc Zn	El zinc es un metal de transición por su ubicación en la tabla periódica; sin embargo, tiene propiedades semejantes a algunos elementos alcalino térreos (Grupo II A), debido a que cuenta con los orbitales s y d llenos. Su estado de oxidación preferente es $+2$ .	Interviene en la estabilización de complejos enzimáticos como las ADN y ARN polimerasas, presente en las enzimas anhidrasa carbónica, y alcohol deshidrogenasa.
Molibdeno Mo	El molibdeno es un metal de transición que cuenta con varios estados de oxidación; siendo el más común el $+4$ .	Interviene en la síntesis de las molibdoflavoproteínas, implicadas en la asimilación de nitratos. Igualmente, participa como cofactor, junto con el Fe, en el complejo nitrogenasa de las bacterias fijadoras de $\text{N}_2$ atmosférico (nitrogenasa y nitrato reductasa y sulfito oxidasa, algún formato deshidrogenadas y oxotransferasas).
Níquel Ni	Es un metal de transición. Su estado de oxidación más común es $+2$ ; pero adicionalmente, puede trabajar con estados: 0, $+1$ y $+3$ . En las hidrógenasas cumple un papel fundamental como agente oxidante.	Participa en la mayoría de las funciones de las hidrogenasas, coenzima $\text{F}_{430}$ de los metágenos y en las deshidrogenadas del monóxido de carbono y ureasa.
Selenio Se	El selenio es un elemento considerado no metal; presenta varias formas alotrópicas y tiene como estados de oxidación: $+/- 2, 4, 6$ .	Se encuentra en enzimas como la formato deshidrogenasa y el aminoácido selenocisteína.
Tungsteno o Wolframio W	Es un metal de transición que trabaja con estados de oxidación positivos y que da lugar en algunas ocasiones a compuestos débilmente ácidos.	Forma parte de las formato deshidrogenadas y oxotransferasas de los microorganismos hipertermófilos.
Vanadio V	El vanadio es un metal que forma cationes en especial con estado de oxidación $+5$ .	Hace parte de las enzimas vanadio nitrogenasa y bromoperoxidasa. Algunas veces los microorganismos por mutaciones, son incapaces de elaborar sustancias esenciales para su desarrollo, convirtiéndose así, en microorganismos auxotróficos con respecto a esa sustancia.

Fuente: Autores.

De otro lado, se encuentran los **Factores de crecimiento**, que se refieren a moléculas específicas que algunas bacterias requieren en muy pequeña cantidad para crecer. Suelen ser coenzimas o sus precursores, como vitaminas, que determinadas bacterias no pueden sintetizar por sí mismas, al carecer en parte o totalmente de una ruta biosintética. Igualmente, en este grupo se incluyen algunos aminoácidos y las bases nitrogenadas purinas y pirimidinas, como, por ejemplo, las bacterias del género *Brucella* que requieren como factores de crecimiento en sus medios de cultivo la biotina, niacina, tiamina y ácido pantoténico. *Haemophilus* necesita como suplementos nutricionales los grupos hemo y nicotinamida adenina dinucleótido (Factor X y Factor V) (16).

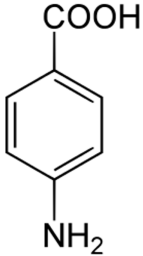
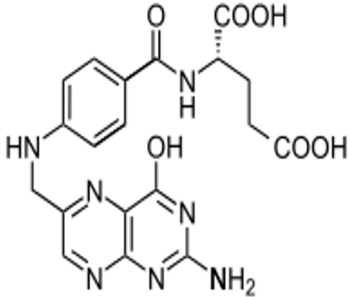
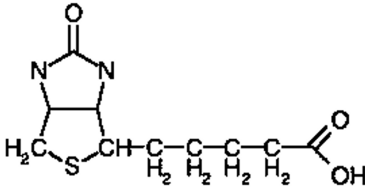
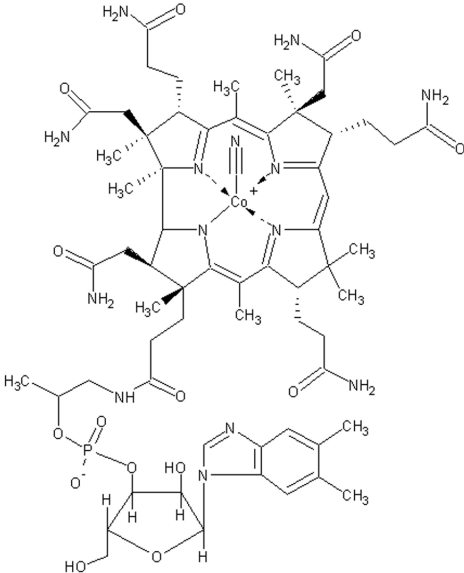
El *Faecalibacterium prausnitzii*, por ejemplo, requiere una gran cantidad de vitaminas para crecer, como biotina, ácido fólico, riboflavina o vitamina B12, que no puede sintetizar, así como otros factores de crecimiento como los ácidos grasos volátiles (ácido acético, ácido propiónico o ácido valérico) (17). Dunn y colaboradores, mostraron en 1946, que solo dos aminoácidos eran esenciales para el crecimiento de *Leuconostoc mesenteroides*, ácido glutámico y valina, mientras que para el crecimiento de *Lactobacillus brevis*, se requerían al menos 15 aminoácidos (18). Este alto requerimiento de aminoácidos puede explicarse por el hecho de que el medio base utilizado en ese momento no era rico en nutrientes comunes. De hecho, hoy en día, *Lactobacillus brevis* crece en un agar COS (Columbia

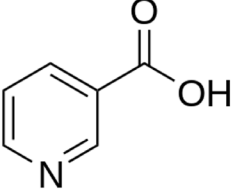
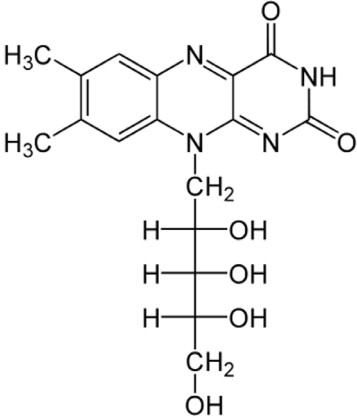
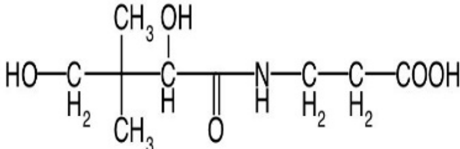
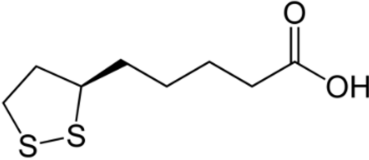
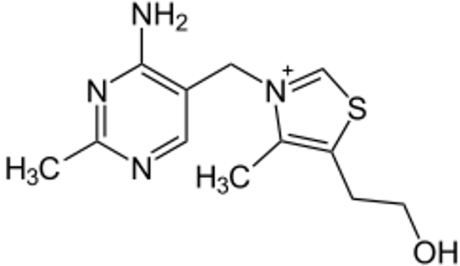
Blood Agar) (Biomérieux, Marcy l'Étoile, Francia), no suplementado con aminoácidos, pero compuesto de hidrolizado de caseína y peptona proteosa, fuentes importantes de aminoácidos (19).

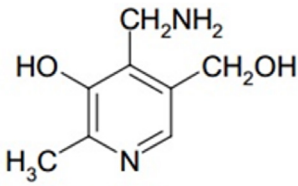
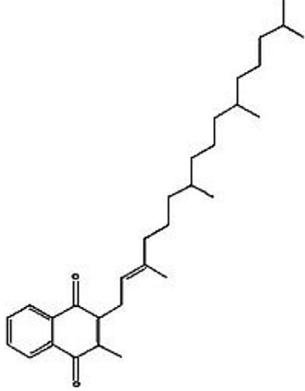
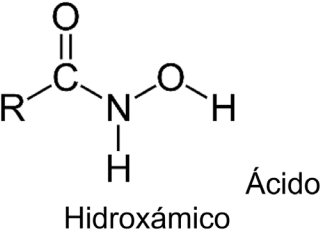
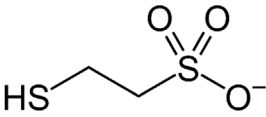
En los aminoácidos que conforman las proteínas, las cadenas laterales pueden estar ordenadas en sentido horario o antihorario – orientaciones que los químicos llaman “D” y “L” –, encontrándose casi siempre en la forma L. Al respecto, Matthew Waldor, y sus colegas encontraron que ciertas bacterias convierten aminoácidos específicos en formas D cuando necesitan retardar su crecimiento (20).

Las bases de purina y pirimidina, son necesarias para la síntesis de ácidos nucleicos, de hecho, algunas bacterias del ácido láctico necesitan adenina, guanina, timina o uracilo para crecer. Este es el caso en particular de *Leuconostoc mesenteroides*, para la cual la guanina es esencial en su desarrollo (21).

Tabla 4. Factores de crecimiento Bacteriano.

Factor	Fórmula	Función
<p>Ácido p-aminobenzoico (PABA) Ácido 4-amino benzoico <math>C_7H_7NO_2</math></p>		<p>Precursor del ácido fólico, el cual es indispensable para el desarrollo de la bacteria y sobre el cual tienen efecto algunos antibióticos.</p>
<p>Ácido fólico Vitamina B9 <math>C_{19}H_{19}N_7O_6</math></p>		<p>Interviene en el metabolismo de compuestos de un C del anillo benzénico del ácido ocasionando la transferencia de grupos metil.</p>
<p>Biotina Vitamina H o Vitamina B7 <math>C_{10}H_{16}N_2O_3S</math></p>		<p>Biosíntesis de ácidos grasos; promoviendo betadecarboxilaciones; fijación de <math>CO_2</math></p>
<p>Cobalamina Vitamina B12 <math>C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P</math></p>		<p>Interviene en reacciones de reducción y transferencia de restos monocarbonados; síntesis de desoxirribosa.</p>

Factor	Fórmula	Función
Niacina ácido nicotínico $C_6H_5NO_2$		Precursor del cofactor NAD; para la transferencia de cargas en las reacciones Redox.
Riboflavina Vitamina B2 $C_{17}H_{20}N_4O_6$		Precursor de los cofactores FAD y FMN
Ácido pantoténico Vitamina B5 $C_9H_{17}NO_5$		Precursor de la CoA, Tiamina (vitamina B1).  Interviene en reacciones de Descarboxilación de compuestos como transcetolasas, vitamina B6 (piridoxal, piridoxamina).  Así como en Transformaciones de aminoácidos y cetoácidos de los grupos de la Vitamina K y quinonas.  Transportadores de electrones (ubiquinonas).
Ácido lipoico 6,8-ácido tióctico $C_8H_{14}O_2S_2$		Promueve la transferencia de grupos acilo en la descarboxilación del piruvato y cetoglutarato.
Tiamina vitamina B1 $C_{12}H_{17}N_4OS$		Actúa como coenzima en procesos de descarboxilaciones y función de transcetolasa

Factor	Fórmula	Función
Vitamina B6 C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub> (Grupo piridoxal – piridoxamina; derivados del fosfato de piridoxal)		Actúa como coenzima en la transformación de aminoácidos y cetoácidos.
Grupo Vitamina K ; quinonas		Transporte de electrones, síntesis de esfingolípidos.
Hidroxamatos; ésteres del ácido hidroxámico		Compuestos que unen hierro, solubilización del hierro y transporte al interior celular
Coenzima M (CoM); anión sulfonato		Requerido por ciertos metanógenos, participa en la metanogénesis.

Fuente: Autores.

## Crecimiento Bacteriano

Se define como crecimiento de cualquier sistema biológico al aumento de la masa celular que implica su multiplicación (22). En organismos unicelulares que se dividen por fisión o por gemación, lo que ocurre es un aumento de la población. El crecimen-

to bacteriano se puede observar desde dos puntos de vista: a escala individual y a escala poblacional.

A escala individual, incluye una serie de procesos que hacen referencia al ciclo celular, en los cuales se encuentran: inicio y transcurso de la replicación cromosómica y de los plásmidos; segregación del cromoso-

ma y los plásmidos a las células hijas; síntesis de precursores de membranas y pared celular y señales que coordinan la replicación genómica con la división celular (23) Por su parte, el crecimiento a nivel poblacional incluye: la cinética de crecimiento; factores que afectan el tiempo de generación y los factores ambientales que limitan el crecimiento (24).

### *Métodos para la cuantificación del crecimiento bacteriano*

1. Por la medida del consumo de nutrientes o de producción de algún metabolito en particular por unidad de tiempo. En este caso el consumo de oxígeno ( $QO_2$ ) y consumo de gas carbónico ( $QCO_2$ ), se determinan por el respirómetro de Warburg o mediante la producción de ácidos.

2. Por métodos turbidimétricos, el fundamento de estos métodos radica en la interacción de la luz con un cultivo bacteriano. Las suspensiones bacterianas dispersan la luz, al igual que cualquier partícula “relativamente” pequeña suspendida en agua, por lo tanto, dicha dispersión es proporcional a la masa del cultivo. Esta medición se puede realizar con dos tipos de equipos.

- Espectrofotómetro: mide la densidad óptica (D.O.), es decir la absorbancia. En esta técnica hay que realizar una curva estándar para relacionar los valores de A (absorbancia) con la masa bacteriana en la muestra problema.

- Nefelómetro: difiere del espectrofotómetro en cuanto a que su dispositivo sensor está situado en ángulo recto respecto de la dirección de la luz incidente y lo que mide es la luz dispersada directamente por la preparación, esto le otorga mayor sensibilidad que el espectrofotómetro.
- Recuento directo: consiste en la observación al microscopio de volúmenes muy pequeños de suspensiones de bacterias. Se usan unos portaobjetos especiales denominados cámaras de Petroff-Hausser; para que la medida sea correcta, es necesario que la densidad de células sea del orden de  $10^5$  por ml.
- Recuento de viables: se realiza sembrando un volumen determinado de cultivo o muestra sobre el medio de cultivo sólido adecuado para estimar el número de viables contando el número de colonias que se forman, ya que cada una de estas deriva de una célula aislada; para que la medida sea correcta desde el punto de vista estadístico, es necesario contar más de 300 UFC. En ciertas ocasiones, en las que la densidad de microorganismos es demasiado baja, éstos se pueden recolectar por filtración a través de una membrana (de  $0.2 \mu\text{m}$  de tamaño de poro), la cual se coloca en un medio de cultivo adecuado para que se formen las colonias.

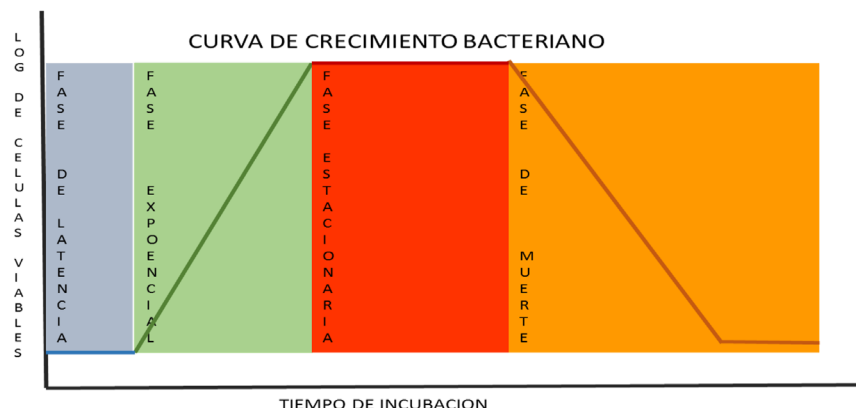
- Medida del número de partículas: En este método se utilizan contadores electrónicos de partículas. Estos sistemas no indican si las partículas corresponden a células vivas o muertas; pero pueden dar una idea del tamaño de las partículas.
- Medida de parámetros bioquímicos: en este caso pueden ser la cantidad de ADN, ARN, proteínas o peptidoglicano, entre otros por unidad de volumen de cultivo (25, 26, 27, 28).
- Fase exponencial o logarítmica: Tanto la velocidad de crecimiento como el consumo de nutrientes son máximos, las bacterias tienen un tiempo de generación mínimo y corresponde a la fase de infección y multiplicación del agente infeccioso dentro del organismo.
- Fase estacionaria: No se incrementa el número de bacterias y estas presentan un metabolismo diferente al de la fase exponencial; se observa acumulación y liberación de metabolitos secundarios que tienen importancia en el curso de las infecciones o intoxicaciones. Esta fase sucede porque se agotan uno o varios nutrientes esenciales en el medio, bien ser porque, los productos de desecho liberados en la fase de crecimiento exponencial convierten el medio en inhóspito para el crecimiento microbiano o por la presencia de competidores que limitan su crecimiento

### *Ciclo de Crecimiento de Poblaciones.*

En un medio líquido se pueden diferenciar cuatro fases en la evolución del crecimiento bacteriano:

- Fase de adaptación: Las bacterias acomodan su metabolismo a las nuevas condiciones ambientales y de nutrientes para iniciar el crecimiento exponencial.
- Fase de muerte: se produce una reducción del número de bacterias viables del cultivo (29, 30).

**Figura 2.** Curva de crecimiento Bacteriano.



Fuente: L. Corrales.



## Factores condicionantes del desarrollo bacteriano

Las bacterias se encuentran en la naturaleza en constante interrelación con otros organismos vivos y de esta interacción incide en su desarrollo. Por ejemplo, las bacterias endofíticas, las cuales son, bacterias beneficiosas para las plantas que prosperan dentro de ellas y pueden mejorar su crecimiento; esto se puede relacionar con una mejor absorción de nutrientes que regula el crecimiento y la síntesis de fitohormonas relacionadas con el estrés (31).

**Temperatura:** Para cada microorganismo existe una temperatura de crecimiento adecuada; en este sentido, se observa una temperatura mínima por debajo de la cual no hay crecimiento, a temperaturas mayores se produce un incremento lineal de la velocidad de crecimiento hasta que se alcanza la temperatura óptima y por encima de esta, la velocidad de crecimiento decae bruscamente y se produce la muerte celular.

El incremento de la velocidad de crecimiento en relación con el aumento de la temperatura se debe al incremento de la velocidad de las reacciones enzimáticas; mientras que, el crecimiento escaso o nulo a temperaturas bajas en relación con la óptima, se debe a la reducción de la velocidad de reacción enzimática y al cambio de estado de los lípidos de la membrana celular que pasan de ser fluidos a cristalinos (32). Así mismo, la muerte ocurre a altas temperaturas debido a la desnaturalización de las proteínas y también a las alteraciones producidas en las membranas lipídicas.

Sin embargo, se debe tener en cuenta que, a temperaturas bajas, el metabolismo celular se enlentece y las células paran de crecer, pero no mueren y pueden recuperar su capacidad de división si aumenta posteriormente la temperatura; lo que no ocurre en el caso contrario de altas temperaturas donde los microorganismos mueren, lo que permite esterilizar por calor y no por frío.

**Tabla 5.** Clasificación Bacteriana de acuerdo con las temperaturas Cardinales para su desarrollo.

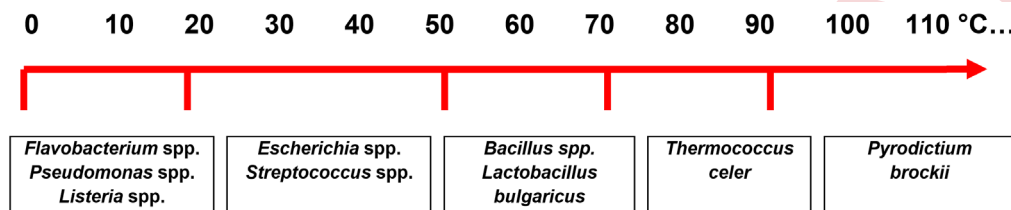
CLASIFICACIÓN	T. MÍNIMA	T. ÓPTIMA	T. MÁXIMA
PSICROTROFOS O PSICROTOLERANTES	-5 °C	0 °C	35 °C
PSICRÓFILA	0 °C	12 – 15 °C	20°C
MESÓFILA	20°C	35 – 37°C	42°C
TERMÓFILA	42°C	56°C	80°C
HIPERTERMÓFILA	60°C	80 °C	Más de 110 °C
TERMÓTROFOS	15 – 20 °C	30 – 40 °C	45 – 50 °C

**Fuente:** Tomado de Conceptos Básicos de Microbiología.

Los microorganismos implicados en la generación de infecciones son los mesófilos y algunos psicrotófos, sus temperaturas óptimas de crecimiento coinciden con las

corporales; estas bacterias, pueden producir además toxinas que causan intoxicaciones alimentarias (33).

Figura 3. Rangos de temperatura en el crecimiento bacteriano.



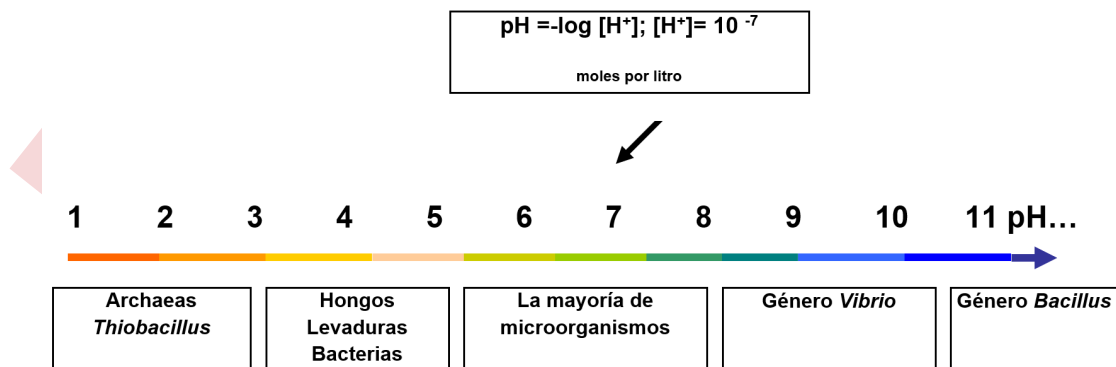
Fuente: Tomado de Conceptos básicos de microbiología. Corrales L y González A.

**El pH:** Las condiciones de pH del medio regulan, a su vez, el pH interno de la bacteria e influyen en el transporte de hidrogeniones a través de membrana citoplasmática. La mayoría de microorganismos que se desarrollan a pH 7 se denominan **neutrófilos**, los **acidófilos** se desarrollan a pH inferior a 5 y los que se desarrollan a pH mayores de 8 se denominan **basófilos** o **alcalófilos**. (33).

• Rangos de pH y el crecimiento de algunos microorganismos

El pH intracelular es ligeramente superior al del medio que rodea las células ya que, en muchos casos, la obtención de energía metabólica depende de la existencia de un gradiente en la concentración de protones a ambos lados de la membrana citoplasmática.

Figura 4. Rangos de pH en el crecimiento bacteriano.



Fuente: Tomado de Conceptos básicos de microbiología. Corrales L y González A.

El pH en los medios de cultivo suele bajar, lo cual confiere una ventaja selectiva frente a otros microorganismos competidores. Es así como, las bacterias lácticas, por ejemplo, producen grandes cantidades de ácido lác-

tico ( $\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$ ) y como consecuencia de esto, el pH del medio de cultivo disminuye a valores inferiores a los soportables por otras bacterias.

**Tabla 6.** Rangos de pH para el crecimiento bacteriano.

Microorganismo	Rango	Óptimo
Acidófilos	1-5,5	2-3
Neutrófilos	5,5-7,5	6,5-7,0
Basófilos o Alcalófilos	8,5-11,5	9,0-10,0

**Fuente:** Corrales L y González A.

## Actividad del agua

El agua como compuesto químico, está constituido por moléculas que presentan una geometría molecular de la cual resulta un momento dipolar elevado. La polaridad de la molécula y, por tanto, el sinnúmero de interacciones que éste compuesto propicia, se explica por el ángulo de enlace de  $104,9^\circ$ , esta particularidad se constituye en un factor determinante en las atracciones intermoleculares, los puentes de hidrógeno, la solubilidad y la tensión superficial. (34)

Las propiedades antes mencionadas influyen directamente en la “actividad de agua” ( $a_w$ ); la cual se define como la relación entre la presión de vapor de agua del sustrato de cultivo (P) y la presión de vapor de agua pura ( $P_0$ ); por tanto, la actividad del agua incide en el curso de reacciones químicas y bioquímicas.

Si los microorganismos se encuentran en un sustrato con una actividad de agua demasiado baja el crecimiento se detiene, esta detención no suele llevar a la muerte del microorganismo, sino que se mantiene en condiciones de resistencia durante un tiempo más o menos largo; en el caso de las esporas, la fase de resistencia puede ser considerada prácticamente ilimitada.

En relación con la actividad del agua se encuentran microorganismos **osmotolerantes**, cuando crecen en un rango amplio de  $a_w$ , un ejemplo es el *Staphylococcus aureus* que crece a concentraciones de sal 3M; **osmófilos** son aquellos que crecen en ambientes con altas actividades y cuando crecen en ambientes muy secos o con bajas actividades reciben el nombre de **xerófilos**. (5, 33, 35)

## Potencial de óxido-reducción (REDOX)

Las reacciones de óxido reducción son aquellos que se caracterizan por la presencia simultánea de una sustancia oxidante (gana electrones) y un agente reductor (pierde electrones) (8). El potencial redox mide la tendencia a ganar o a perder electrones, lo que ocasiona un cambio en el estado de oxidación de cada especie, según sea el caso.

Uno de los factores que intervienen en el potencial redox, aunque no el único, es la concentración de oxígeno ( $O_2$ ). Hay microorganismos que requieren ambientes oxidantes para crecer, mientras que otros necesitan ambientes reductores; cuando una bacteria requiere un ambiente oxidante, desarrolla un metabolismo oxidativo (respiratorio) en cambio cuando requiere ambientes reductores optan por un metabolismo fermentativo.

Una bacteria es aerobia cuando necesita del oxígeno para vivir y es anaerobia en dos casos, cuando no lo necesita, denominada “anaerobia tolerante” o cuando muere en presencia del oxígeno “anaerobias estrictas”. Dentro de este grupo de bacterias se encuentran algunas que llevan a cabo un metabolismo oxidativo porque usan otro aceptor final de electrones que actúa como oxidante ambiental, ejemplo, de éstas son las que “respiran” nitratos ( $NO_3^-$ ), sulfatos ( $SO_4^{2-}$ ) u otros compuestos capaces de aceptar electrones y funcionan como agentes oxidantes.

En el curso de ciertas reacciones metabólicas redox se forman compuestos altamente reactivos (radicales libres, formas superóxido) que pueden dañar las proteínas, membranas y ácidos nucleicos produciendo la muerte de las células. Las células se protegen de estos compuestos por la síntesis de enzimas como la superóxido dismutasa (SOD), peroxidasa y catalasa. Las bacterias anaerobias estrictas carecen éstas o las tienen en niveles muy bajos de forma que no pueden sobrevivir en presencia de oxígeno. (5, 36)

De otra parte, existen bacterias reductoras de metales como *Geobacter sulfurreducens*, las cuales transfieren electrones más allá de sus membranas externas a los óxidos de Fe (III) y Mn (IV); en este sentido, los óxidos metálicos insolubles en el medio ambiente representan un depósito común y vasto de energía para algunos microorganismos respiratorios capaces de transferir electrones a través de sus membranas aislantes a los aceptores externos, un proceso denominado transferencia de electrones extracelular (37).

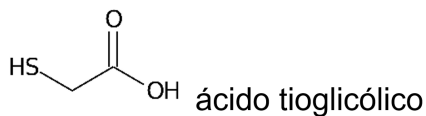
## Medios de cultivo

**Caldos de Enriquecimiento:** contienen agentes inhibidores a baja concentración, que retrasan el crecimiento de la microbiota contaminante y permiten el crecimiento del microorganismo que se quiere recuperar (29).

**Caldo nutritivo con Extracto de Carne y NaCl (Cloruro de Sodio):** es utilizado para la recuperación de microorganismos no exigentes; se puede suplementar con extracto de levadura, peptonas, glucosa, y otros componentes.

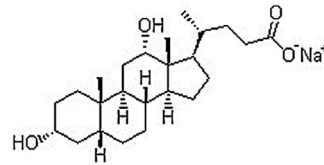
**Caldo Tioglicolato:** se suplementa con caseína, extracto de levadura, carne y tioglicolato. Para el aislamiento de anaerobios, se añaden además hemina y vitamina K.

El tioglicolato es un compuesto derivado del ácido tioglicólico, rico en átomos de azufre que facilita, el transporte de electrones.



Es el caldo más utilizado en microbiología clínica porque ofrece un bajo potencial redox, por lo cual permite el óptimo desarrollo de las bacterias anaerobias. Favorece también el crecimiento de aerobios, microaerófilos e incluso de microorganismos exigentes (38).

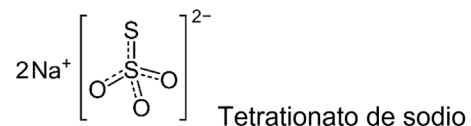
**Caldo Gram negativos (GN):** contiene agentes inhibidores a baja concentración como el citrato y desoxicolato (sal biliar), los cuales inhiben el desarrollo de las bacterias Gram positivas y retrasan el crecimiento de las coliformes; se utiliza como medio de enriquecimiento para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella* en muestras de heces e hisopados rectales.



Desoxicolato de Sodio

**Caldo selenito F:** Contiene como agente inhibidor el selenito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ), el cual inhibe los enterococos y retrasa el crecimiento de las coliformes, se puede añadir cisteína que favorece el crecimiento de *Salmonella*.

**Caldo tetrionato:** Contiene sales biliares y tetrionato sódico (se genera en la reacción de tiosulfato con yodo), los cuales inhiben las bacterias Gram positivas y las coliformes que no tienen la enzima tetrionato reductasa. Se utiliza como medio de enriquecimiento para el aislamiento de *Salmonella*.



El tetrionato de sodio es una sal proveniente del anión sulfito ( $\text{SO}_3^-$ ), enriquecido con otro átomo de azufre que incrementa la densidad electrónica y, por lo tanto, facilita el transporte de electrones.

**Caldo peptona complementada:** medio con pH 8,4 que se utiliza como enriquecimiento para el aislamiento de especies de *Vibrio*, antes de pasar a subcultivos en medios más selectivos.

**Caldo tioglicolato Campy:** es un medio semisólido por la adición de agar, similar en componentes al caldo tioglicolato suplementado con antibióticos. Se utiliza para el enriquecimiento de especies de *Campylobacter* antes de subcultivar en medios más selectivos.

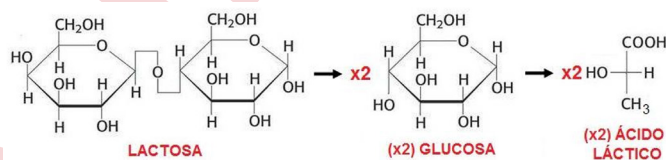
**Caldo Todd-Hewitt con sangre y antibióticos:** compuesto por infusión cerebro corazón, peptona, glucosa  $C_6H_{12}O_6$ , cloruro de sodio, NaCl, fosfato de sodio,  $Na_3PO_4$  y carbonato de sodio,  $Na_2CO_3$ . Como inhibidores contiene ácido nalidixico ( $C_{12}H_{12}N_2O_3$ ) y gentamicina ( $C_{21}H_{43}N_5O_7$ ) o colistina ( $C_{52}H_{98}N_{16}O_{13}$ ), se utiliza como medio de enriquecimiento para *Streptococcus agalactiae* de muestras genitales (16, 39).

**Caldo con carne picada:** caldo nutritivo al cual se le añaden trozos de carne como fuente de proteínas, posee un bajo potencial redox, lo cual favorece la recuperación de anaerobios, mejor cuando se añade una capa de parafina líquida, la cual, se utiliza para aislar el cultivo bacteriano del  $O_2$  del ambiente.

**Leche con tornasol:** caldo enriquecido al cual se le añade leche (descremada), su uso se fundamenta en la capacidad de ciertos microorganismos de producir determinadas reacciones metabólicas como fermentación de la lactosa, caseolisis (peptonización), y coagulación de la caseína  $C_{38}H_{57}N_9O_9$ . Estas reacciones se ponen de manifiesto mediante un indicador redox y de pH, como el tornasol.

La caseína es una proteína sobre la cual actúa la enzima caseinasa, rompiendo los enlaces peptídicos y la estructura cuaternaria, originando asociaciones más pequeñas que pueden aglutinarse cuando se alcanza el punto isoeléctrico. El crecimiento se interpreta de la siguiente manera:

*Color rosado en el medio de cultivo:* Fermentación de la lactosa y por lo tanto es una reacción ácida, en la cual, como producto de la reacción se obtiene el ácido láctico:



Cuando no hay cambio de color en el medio de cultivo, no se ha producido fermentación de la lactosa ni se han utilizado las sustancias nitrogenadas del medio. De otra parte, un color azul en el medio de cultivo, indica que el microorganismo ha utilizado las sustancias nitrogenadas del medio, produciendo reacción alcalina.

Un color blanco en el medio de cultivo, indica que se ha producido una peptonización de la proteína de la leche (digestión), y el tornasol se reduce a una leucobase. La producción de coágulo, indica coagulación de la leche, se alcanza el punto isoeléctrico de la proteína y la producción de gas, por la aparición de burbujas ( $CO_2$  y  $H_2$ ) en el medio.

**Caldo verde brillante bilis al 2%:** es un medio selectivo recomendado para la prueba confirmatoria en la detección del grupo coliforme en aguas, leche, derivados lácteos y otros productos de importancia sanitaria, mediante la determinación del NMP (número más probable). La bilis y el verde brillante inhiben el desarrollo indeseable de la flora acompañante de los coliformes e incluso suprimen el crecimiento de los anaerobios fermentadores de la lactosa como es el caso de *Clostridium perfringens*. La presencia de gas después de 24 – 48 horas a 35° C de incubación se considera como prueba positiva para la presencia del grupo *Coli – Enterobacter* (40).

### **Medios de cultivo en placa de aislamiento primario de uso rutinario**

- No Selectivos: para cultivo de una amplia variedad de organismos difíciles de crecer “in vitro”. A menudo están enriquecidos con nutrientes como: sangre, suero, hemoglobina, factores de crecimiento X, V, aminoácidos, y vitaminas entre otros.
- Selectivos: de moderada o de alta selectividad, a los cuales se les añaden sustancias que inhiben el crecimiento de ciertos grupos bacterianos permitiendo a la vez el crecimiento de aquellas que se desean seleccionar. Algunas sustancias inhibitoras son el cristal violeta que inhibe las bacterias Gram posi-

vas. Otra manera es modificar la fuente de carbono; si se sustituye la glucosa por maltosa, se seleccionan aquellos microorganismos capaces de metabolizarla.

- Enriquecidos: algunos microorganismos no son capaces de desarrollarse en medios de cultivo normales, para cultivarlos se requiere añadir sustancias altamente nutritivas como sangre, suero, cofactores, vitaminas, extractos de tejidos animales y las bacterias que crecen en ellos se denominan exigentes o fastidiosas (41).

Los medios enriquecidos en los cuales se suprime el crecimiento de la flora competitiva normal se hacen mediante el uso de antibióticos específicos, como kanamicina ( $C_{18}H_{36}N_4O_{11}$ ) y vancomicina ( $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$ ).

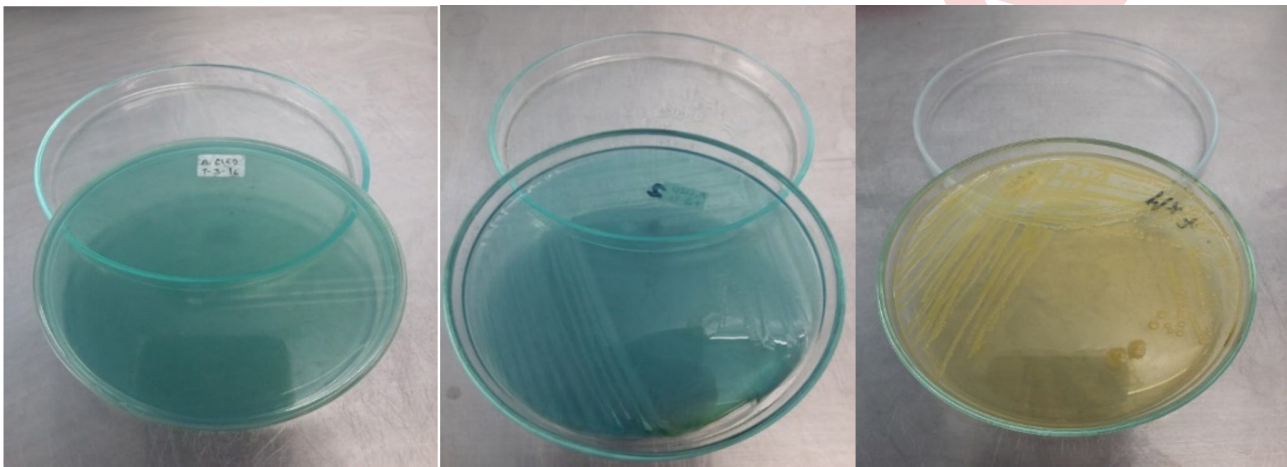
### **Agar Cled (cistina, lactosa, deficiente en electrolitos):**

Es un medio no selectivo diferencial, recomendado para el análisis bacteriológico de orina ya que en él crecen la gran mayoría de las bacterias, tanto Gram negativas como Gram positivas, patógenas de vías urinarias. Debido a que en su composición tiene deficiencia en electrolitos (no contiene cloruro de sodio), impide que las colonias del género *Proteus* invadan la placa de cultivo (efecto swarming), por lo tanto, este medio facilita el recuento de las unidades formadoras de colonias (UFC).

El único carbohidrato que contiene es La lactosa; la cistina, facilita el crecimiento de las bacterias coliformes dependientes de ella y el azul de bromotimol funciona como indicador, el cual permite distinguir las colo-

nias de bacterias fermentadoras de las que no lo son ya que vira a amarillo en pH ácido y se torna de un color azul más intenso en pH alcalino (42).

**Foto 1.** Agar CLED, de izquierda a derecha: medio sin sembrar, microorganismo no fermentador de lactosa, microorganismo fermentador de lactosa.



**Fuente:** L. Corrales.

### *Agar Nutritivo*

Es un medio de cultivo no selectivo, utilizado para el aislamiento y recuento de microorganismos que tienen requerimientos nutricionales escasos, su uso está descrito principalmente para procedimientos en el análisis de alimentos, aguas y otros materiales de importancia sanitaria. La pluripectona y el extracto de carne aportan nutrientes para el desarrollo bacteriano; el cloruro de sodio (NaCl) mantiene el balance osmótico y el agar es el agente solidificante. Puede ser suplementado con sangre ovina defibrinada estéril, para favorecer el crecimiento de microorganismos exigentes en sus requerimientos nutricionales y en este caso permi-

te una clara visualización de las reacciones de hemólisis.

### *Agar BHI (infusión cerebro-corazón)*

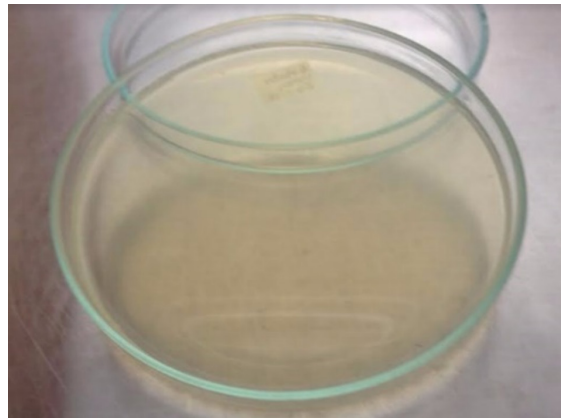
La infusión cerebro-corazón es una fórmula que contiene muchos nutrientes ya sea como caldo o medio sólido y opcionalmente con sangre adicional. Los componentes clave incluyen infusión de distintos tejidos animales con el agregado de peptona, tampón fosfato ( $\text{HPO}_4^-$ ) y una pequeña concentración de glucosa que proporciona la fuente de energía accesible.



Este medio en presentación de caldo se emplea con frecuencia como medio para hemocultivo y como medio base para muchas pruebas metabólicas, en especial para la identificación del género *Streptococcus*. Cuando al medio se le adiciona 6.5% de

cloruro de sodio, las sales activas actúan como agentes diferenciales y selectivos, los cuales interfieren en la permeabilidad y el equilibrio eléctrico y osmótico en microorganismos intolerables a esta sal (43).

**Foto 2.** Agar BHI sin sembrar.



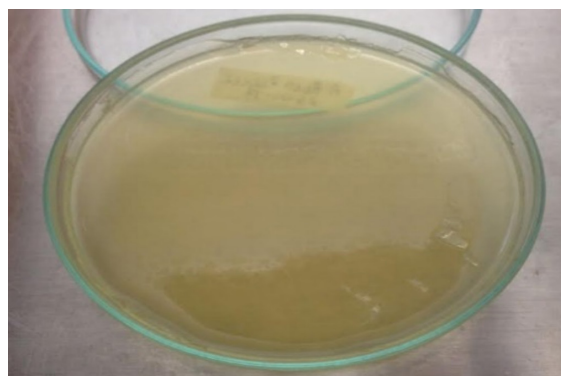
**Fuente:** L. Corrales.

### Agar TSA (triptona-soja)

Medio rico de uso general para el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos. Se produce por digestión enzimática de la soja y de la caseína, con frecuencia se

utiliza como agar base para otros tipos de medios tales como agar sangre o chocolate. En este medio pueden crecer microorganismos exigentes como algunas especies de *Brucella*, *Corynebacterium*, *Listeria*, *Neisseria* y *Vibrio* (16).

**Foto 3.** Agar tripticasa Soja.



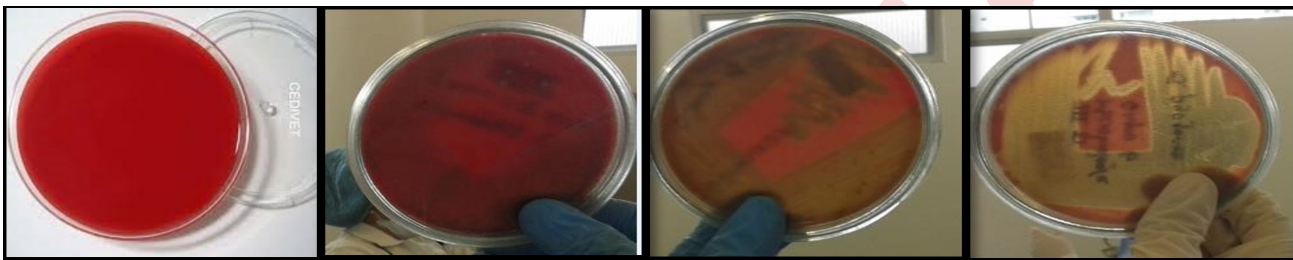
**Fuente:** L. Corrales.

## Agar Sangre

El agar sangre es un medio no selectivo, compuesto por un agar base que contiene una fuente proteica al cual se le agrega de 5% a 8% de sangre ovina; el agar sangre,

permite el crecimiento de la mayoría de las bacterias (Gram positivas y Gram negativas), permite verificar capacidad hemolítica (medio diferencial), las hemólisis que se pueden evidenciar en este medio son: beta, alfa y gamma.

**Foto 4.** Hemólisis en agar sangre. De izquierda a derecha: agar sangre sin sembrar, producción de hemólisis gama, hemólisis alfa y hemólisis beta.



Fuente: L. Corrales.

El agar sangre está preparado con un medio de cultivo deshidratado denominado agar base sangre, el cual está compuesto por agar-agar, infusión de músculo de corazón, peptona, cloruro de sodio; el color del medio es ámbar claro; cuando se agrega la sangre, su color cambia a rojo cereza. La sangre utilizada para preparar el medio generalmente es sangre de cordero, pero también puede ser sangre humana o de caballo, y, al respecto es importante considerar que algunas bacterias varían el tipo de hemólisis de acuerdo con la naturaleza de la sangre. El uso se fundamenta en que la infusión de músculo de corazón y la peptona, otorgan al medio un alto valor nutritivo, que permite el crecimiento de una gran variedad de bacterias y otros microorganismos, aún de aquellos nutricionalmente exigentes. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico.

**Hemolisinas:** cerca del 35% de las toxinas producidas por las bacterias son del tipo “Toxinas membranolíticas” (TM). La característica más importante de los efectos de estas toxinas es sobre la organización en la bicapa fosfolipídica de la membrana plasmática de células humanas y/o animales. La pérdida de la integridad de la membrana conlleva a un desbalance osmótico, reflejado por la hinchazón de la célula debido al ingreso de agua y desorden del gradiente electroquímico que conduce a la lisis y muerte celular, contribuyendo a la virulencia de la bacteria y jugando un rol importante en la patogenia bacteriana. Las TM fueron identificadas “in vitro” por su característica de lisar glóbulos rojos sensibles de humanos y otras especies animales, con la aparición de un halo de hemólisis alrededor de las colonias bacterianas en agar sangre. Sin embargo, actualmente se sabe con certeza que la

mayoría de hemolisinas bacterianas actúan sobre células distintas a los glóbulos rojos, causando daño tisular o muerte de muchos de los animales de experimentación. Es por esta razón, que se propuso el término “citotoxina” o “toxina citolítica” para describir correctamente el rango de sus actividades biológicas (16, 44).

Como se expuso anteriormente, en el agar sangre, se pueden diferenciar tres tipos de hemólisis:

*Hemolisis alfa:* Lisis parcial de los glóbulos rojos, con un halo de color verdoso alrededor de las colonias, debido a la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina, con la liberación de un producto de degradación llamado biliverdina por el peróxido de hidrógeno generado en el metabolismo de los microorganismos.

*Hemolisis beta:* Lisis total de los glóbulos rojos. Se observa un halo claro, traslúcido alrededor de la colonia, estas hemolisinas interactúan con el colesterol en la membrana celular, dando como resultado el deterioro de esta estructura celular protectora. La estreptolisina, una exotoxina que causa la lisis completa de los hematíes, (Estreptolisina O, citotoxina sensible al oxígeno. Estreptolisina S, citotoxina oxígeno estable.)

*Hemolisis gamma:* Ausencia de lisis de los glóbulos rojos. El medio de cultivo no presenta modificaciones de color y aspecto alrededor de las colonias (45).

### *Agar Chocolate*

Este medio permite el crecimiento de microorganismos exigentes en sus requerimientos nutricionales, como es el caso de algunos *Streptococcus*, *Haemophilus* y *Neisserias* patógenas; corresponde a la misma fórmula del medio agar sangre, en el cual, por calentamiento a 60°C se lisan los glóbulos rojos, éstos al ser lisados liberan la hemoglobina y otros nutrientes como factor X (hemina) y factor V (Nicotin Adenin Dinucleótido - NAD).

El dinucleótido de nicotinamida y adenina, más conocido como NAD<sup>+</sup> en su forma oxidada y NADH en su forma reducida, corresponde a una coenzima que se encuentra en las células vivas; está compuesta por dos nucleótidos unidos por sus grupos fosfatos, uno de ellos una base de adenina y el otro de nicotinamida. Su función principal es intervenir en el intercambio de electrones e hidrogeniones en la producción de energía celular (46) (47). El factor X, denominado hemina y también protoporfirina es un pigmento que contiene hierro (Fe) y suministra los compuestos tetrapirrólicos necesarios para la síntesis de citocromos y enzimas. Este medio de cultivo, es muy nutritivo por la presencia de peptona, tripteína, extracto de levadura, extracto de corazón y almidón, se pueden agregar suplementos definidos que proporciona el factor V, vitaminas, aminoácidos, coenzimas, glucosa, iones férricos (Fe<sup>+3</sup>) y otros factores que favorecen el crecimiento de especies exigentes (48, 49).

**Foto 5.** Agar Chocolate.

**Fuente:** L. Corrales.

### *Agar Mueller Hinton*

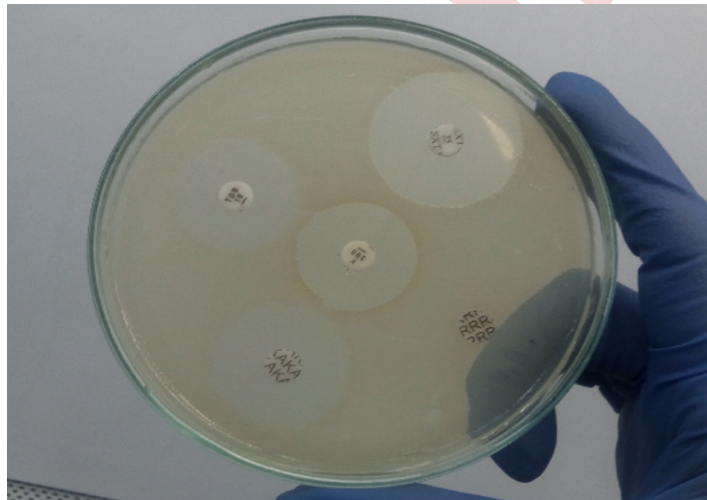
Es un medio de cultivo rico, diseñado especialmente para hacer ensayos de sensibilidad frente a antimicrobianos y recomendado por el Comité de la Organización Mundial de la Salud para la estandarización de pruebas de susceptibilidad por no contener sustancias inhibidoras de los antimicrobianos, por ejemplo, el PABA (ácido p-amino benzoico), que anula la actividad de sulfamidas, así como por su reproductibilidad. Además, es útil con el agregado de sangre para el cultivo y aislamiento de microorganismos nutricionalmente exigentes. El agar Mueller-Hinton, se utiliza para la realización del ensayo de difusión en placa, en tanto que el caldo Mueller-Hinton se emplea para la determinación de la concentración mínima inhibidora en el ensayo de diluciones seriadas (50).

Solo bacterias aeróbicas o facultativas que crecen satisfactoriamente en agar Mueller Hinton, sin suplementar, podrían ser testeadas en este medio. Para los test con cepas que no crecen satisfactoriamente en Mueller Hinton no suplementado como *S. pneumoniae*, estreptococos  $\beta$  hemolíticos y del grupo Viridans, se requiere adicionar sangre de oveja desfibrinada al medio fundido y enfriado, en una concentración final de 5 % (V/V) (51).

**Tabla 7.** Variación de la actividad de diferentes antimicrobianos con el cambio del pH del medio.

AUMENTO DE LA ACTIVIDAD		DISMINUCION DE LA ACTIVIDAD	PEQUEÑOS CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD
pH ácido	pH alcalino	pH ácido	Aumento o disminución del pH
Amoxicilina Ampicilina Carbenicilina Cloxacilina Piperacilina Tetraciclina Doxiciclina Minociclina Nitrofurantoina	Amicacina Netilmicina Estreptomicina Tobramicina Claritromicina Eritromicina Ac. Nalidixico Quinolonas Fluoradas	Azitromicina Claritromicina Clindamicina Metronidazol	Penicilina Cefalotina Cefalexina Cefoperazona Ceftazidima Ceftriaxona Cloranfenicol Polimixina B Sulfonamidas Trimetoprima

**Fuente:** Corrales L y González A.

**Foto 6.** Prueba de sensibilidad y resistencia a antibióticos por el método Kirby Bauer en Agar Muller Hinton.

**Fuente:** L. Corrales.

### Agar *Gardnerella*

Es un medio parcialmente selectivo y de diferenciación para el aislamiento de *Gardnerella vaginalis* a partir de muestras clínicas. El medio está suplementado con peptona de proteasa para mejorar el crecimiento de *Gardnerella*. Se añade anfotericina B para reducir el crecimiento de las levaduras como *Candida spp.* que también son frecuentes en las muestras vaginales, se añade

sangre humana como nutriente y para detectar la beta-hemólisis difusa característica de este microorganismo (49). La detección del organismo en medios utilizados sistemáticamente es difícil dado que la *Gardnerella* y otras bacterias tales como lactobacilos y estreptococos pueden producir alfa hemólisis en medios con sangre de carnero, no obstante, en medios con sangre humana, produce la beta-hemólisis característica (52, 53).

### Agar Thayer Martin

Utilizado para el aislamiento del gonococo, este medio es un agar chocolate enriquecido al cual se ha añadido una mezcla de tres antibióticos específicos que inhiben el crecimiento del resto de la flora acompañante (51). Es selectivo para la recuperación de *Neisseria gonorrhoeae* y *Neisseria meningitidis* por la presencia de suplemento de antibióticos constituido por vancomicina, colistina, nistatina y trimetoprima que inhibe el desarrollo de microorganismos Gram positivos y Gram negativos y candidas, y sin efecto inhibitorio para neiserias. El medio de cultivo es altamente nutritivo ya que contiene agar base GC, hemoglobina y el suplemento de enriquecimiento Vitox o Isovitalex que contiene: vitamina B12, L-glutamina, CIH guanina, adenina, ac. p-aminobenzoico, L-cistina, NAD (coenzima I), cocarboxilasa, nitrato férrico  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ , CIH tiamina, CIH cisteína y glucosa (54, 55).

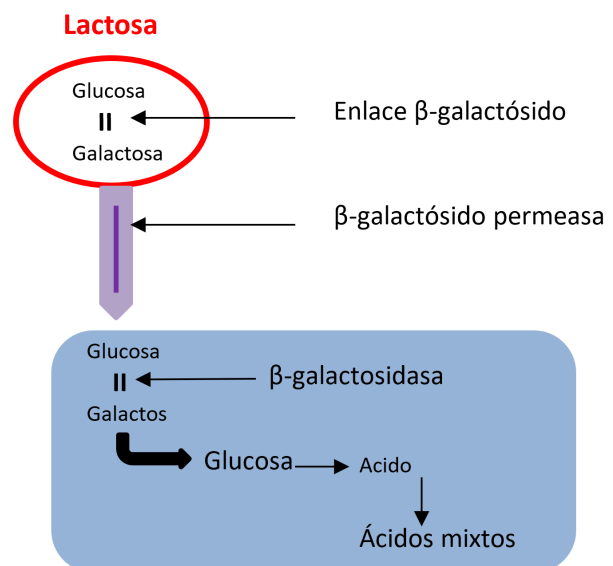
### Agar Mac Conkey

Es un medio selectivo porque contiene sales biliares y cristal violeta que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas y de algunas Gram negativas exigentes y diferencial por la lactosa que proporciona la única fuente de carbono para el desarrollo bacteriano.

Este medio se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos a partir

de muestras clínicas, aguas y alimentos; todas las especies de la familia Enterobacteriaceae se desarrollan con buen crecimiento. La bacteria requiere dos enzimas para degradar el azúcar, la lactosa permeasa (galactósido permeasa), que transporta el disacárido al interior de las células y la B-galactosidasa, que cataliza la hidrólisis de lactosa en sus dos monosacáridos glucosa y galactosa. Las bacterias que sintetizan las dos enzimas son fermentadoras rápidas y las bacterias que solo sintetizan la B-galactosidasa son fermentadoras lentas; el indicador es el rojo neutro, así que en medio ácido se observa de un color rosa intenso o fucsia en las colonias o alrededor de las mismas que corresponde a la reacción de fermentación positiva (16, 50).

**Figura 5.** Proceso Físicoquímico para la fermentación de la Lactosa.

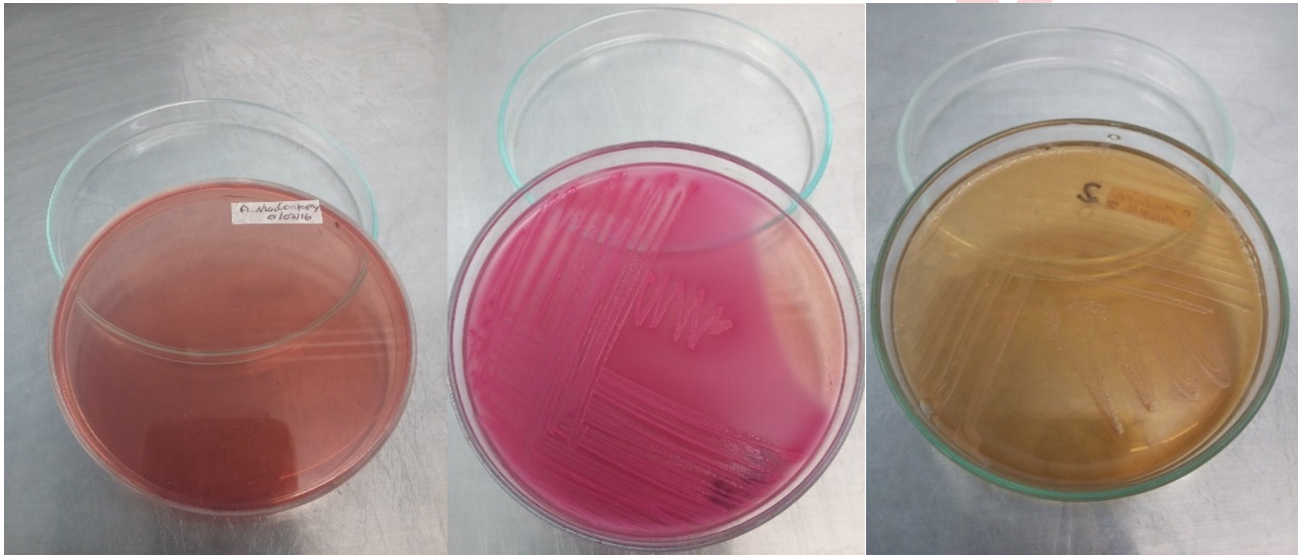


**Fuente:** L. Corrales.

Se recomienda el uso de este medio en muestras clínicas con posible flora microbiana mixta, tales como procedentes de la orina, sistema respiratorio, heridas y otras,

porque permite la agrupación preliminar de bacterias entéricas y otras bacterias Gram negativas en organismos fermentadores y no fermentadores de lactosa (56).

**Foto 7.** Agar Mac Conkey (De izquierda a derecha: Medio sin sembrar, fermentación de lactosa positiva y fermentación de lactosa negativa).



**Fuente:** L. Corrales.

### Agar Endo

Es un medio importante para el examen microbiológico del agua potable y residual, los productos lácteos y los alimentos. El medio se utiliza aún en microbiología clínica y en otros sectores para el aislamiento y la diferenciación de la familia Enterobacteriaceae. La selectividad del agar Endo, se debe a la combinación del sulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) con la fucsina básica, lo cual ocasiona la supresión parcial de los microorga-

nismos Gram positivos (57). Los coliformes fermentan la lactosa, produciendo colonias color rosa oscuro a rojizo con un brillo metálico verdoso iridiscente y una coloración similar en el medio. Las colonias de microorganismos que no fermentan la lactosa son incoloras o de color rosa pálido en contraste con el fondo rosa claro del medio (58).

**Foto 8.** Endo en microplacas deshidratadas para ser utilizado en la técnica de filtración por membrana, para análisis microbiológico del agua. (a la izquierda medio hidratado sin membrana de filtración, derecha medio con crecimiento bacteriano de coliformes totales después de incubación).



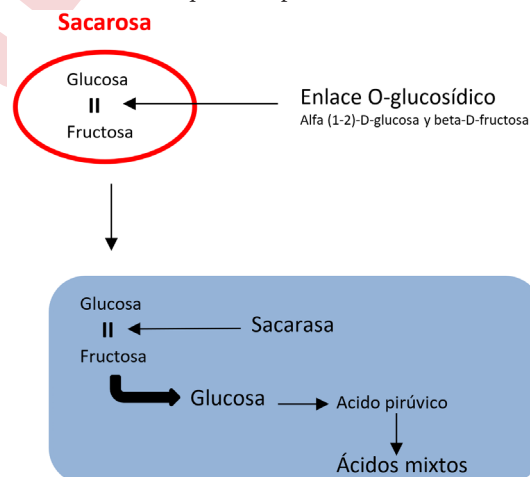
Fuente: L. Corrales.

### Agar Eosina Azul De Metileno (EMB)

Este medio de cultivo tiene como inhibidores los colorantes eosina y azul de metileno; como hidratos de carbono, lactosa y sacarosa y como indicador eosina y azul de metileno. Permite la diferenciación de colonias de organismos fermentadores de lactosa y aquellos que no la fermentan; el contenido de eosina y azul de metileno inhiben el de-

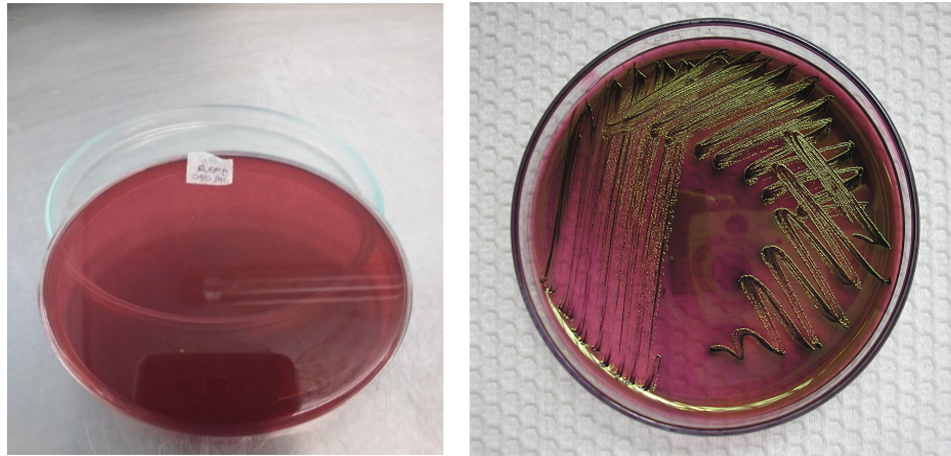
sarrollo de microorganismos Gram positivos. La presencia de sacarosa permite, para algunos miembros del grupo coliforme, fermentarla con más facilidad que la lactosa. Las colonias lactosa positiva presentan un color azul o moradas con brillo metálico o poseen centros oscuros con periferias transparentes incoloras y las que son negativas se observan incoloras o rosa pálido transparentes (59).

**Figura 6.** Procesos Físicoquímicos para la fermentación de la sacarosa.



Fuente: L. Corrales.



**Foto 9.** Agar EMB sin sembrar y con fermentación de azúcares positivo.

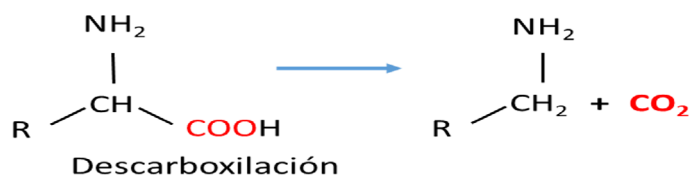
Fuente: L. Corrales.

### Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)

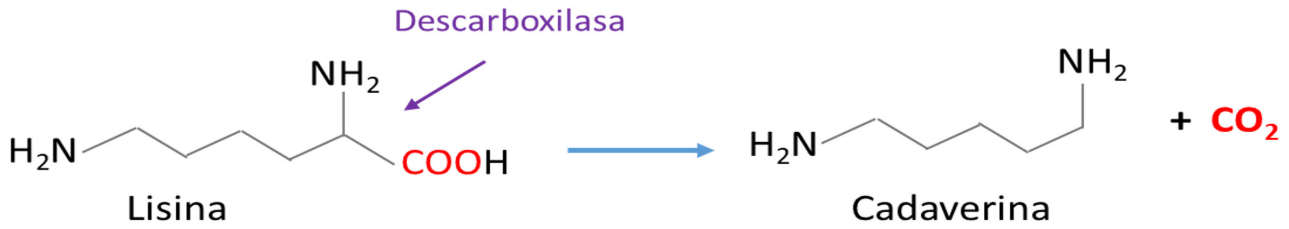
Contiene como inhibidor cloruro de sodio (NaCl), tres hidratos de carbono: xilosa (C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>), sacarosa (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) y lactosa (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>), el indicador es el rojo fenol y la fuente de azufre es el tiosulfato de sodio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). La xilosa es una aldo-pentosa, un monosacárido que contiene cinco átomos de carbono y un grupo funcional aldehído (-CHO) que tiene un isómero funcional que es la xilulosa (C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>) (50, 60).

Es un medio selectivo para aislamiento y diferenciación de Enterobacterias entero-

patógenas como *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*. La fermentación de los azúcares (xilosa, lactosa y sacarosa) producen cambio de color de rojo a amarillo por el indicador rojo de fenol, debido a la oxidación del grupo carbonilo. El Tiosulfato de sodio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) y la sal férrica (Citrato férrico) revelan la formación de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) por la precipitación de sulfuro de férrico (Fe<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) de color negro presente en las colonias; los microorganismos productores de cadaverina, se evidencian por la formación de un color rojo púrpura alrededor de las colonias dado por el aumento del pH (16).

**Figura 7.** Reacción general de descarboxilación.

Fuente: L. Caycedo

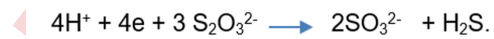
**Figura 8.** Reacción de Descarboxilación del aminoácido lisina.

Fuente: L. Caycedo

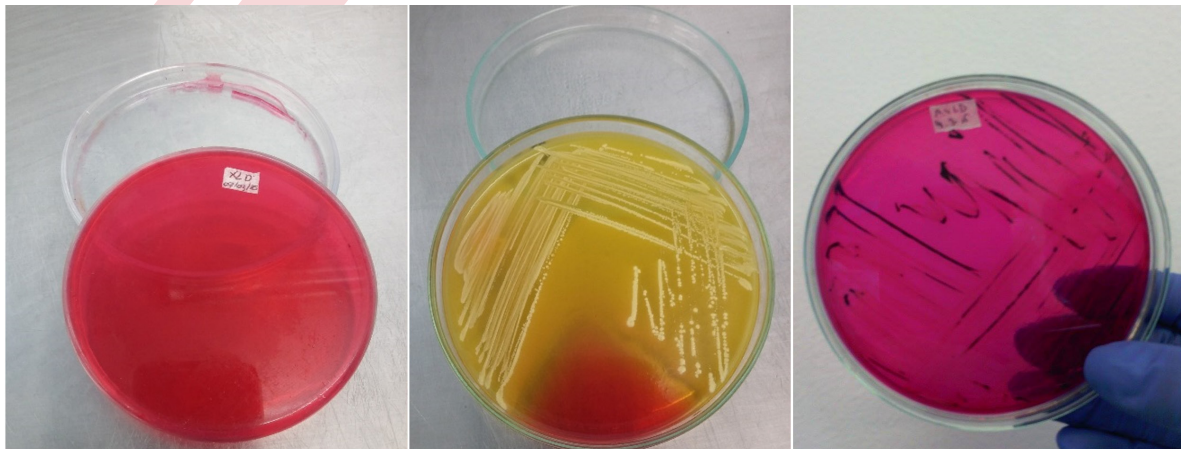
De otro lado, las proteólisis de las proteínas producen aminoácidos individuales; ciertas bacterias heterotróficas pueden liberar enzimáticamente el azufre de los diversos aminoácidos azufrados, produciendo H<sub>2</sub>S gaseoso, peptona, cisteína, cistina, metionina y tiosulfato (S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>) los cuales son fuente de azufre. Las enzimas responsables de esta actividad son la cisteína desulfhidrasa y la tiosulfato reductasa.

El catabolismo anaerobio de la cisteína produce H<sub>2</sub>S, ácido pirúvico y amoníaco. El anión tiosulfato S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> reemplaza al grupo sulfato (SO<sub>4</sub><sup>=</sup>) como aceptor de electrones y

es la fuente de azufre del microorganismo, según la siguiente reacción:



El H<sub>2</sub>S es un gas incoloro, su producción se detecta cuando el gas reacciona con ciertos metales, como plomo (Pb), hierro (Fe) o bismuto (Bi) originando sulfuros (60, 61). Por lo anterior, es necesario un segundo indicador, así que se propicia la reacción con una sal fuerte de hierro (citrato de amonio férrico), lo cual produce un precipitado negro insoluble de sulfuro ferroso metálico (FeS).

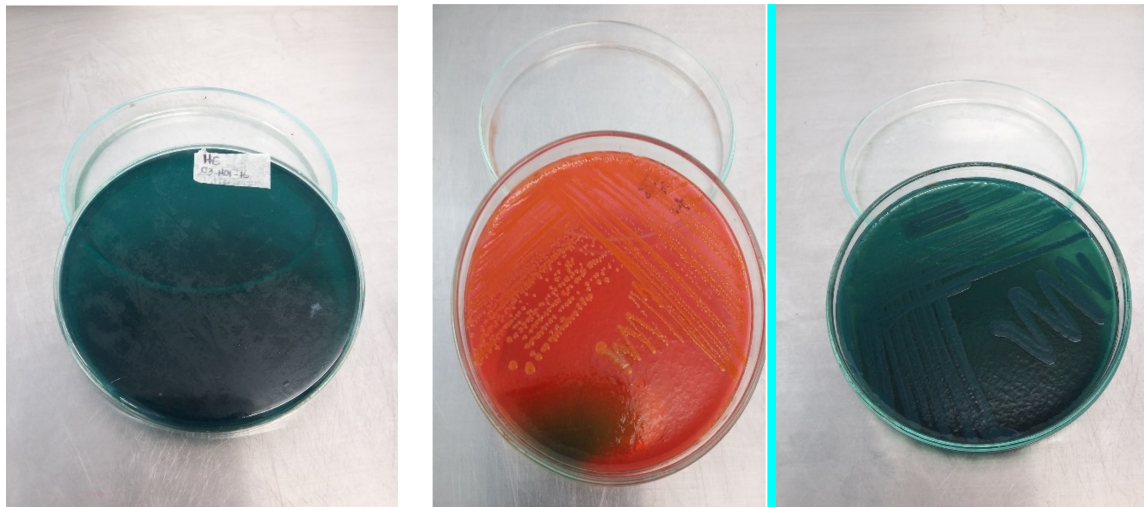
**Foto 10.** Agar XLD. (De izquierda a derecha agar XLD sin sembrar, Fermentación de azúcares positivo, descarboxilación de lisina y producción de H<sub>2</sub>S).

### Agar Hektoen Enterico

Este medio contiene como inhibidor sales biliares, como hidratos de carbono lactosa, sacarosa y salicina, posee dos indicadores: azul de bromotimol y fucsina ácida y como fuente de azufre tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ). La salicina es un glucósido  $\beta$ -alcohólico, conformada por glucosa y alcohol salicílico que están unidos por un puente éter acetálico, la presencia del alcohol ligado al azúcar aumenta la solubilidad debido a la formación de puentes de hidrógeno.

La presencia de los dos indicadores diferencia las colonias de bacterias fermentadoras de las no fermentadoras, las primeras toman un color amarillo-anaranjado y las segundas, azul-verdoso. La presencia de sacarosa evita la selección de patógenos falsamente positivos. Con el tiosulfato de sodio y el amonio férrico se detectan los productores de sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ) por el precipitado negro en el centro de la colonia. Este es un medio ideal para el aislamiento selectivo de *Salmonella*, *Escherichia* y *Shigella*, a partir de heces y alimentos (16, 62).

**Foto 11.** Agar HE (De izquierda a derecha agar Hecktoen Entérico sin sembrar, fermentación de azúcares positivo y crecimiento sin fermentación de azúcares.



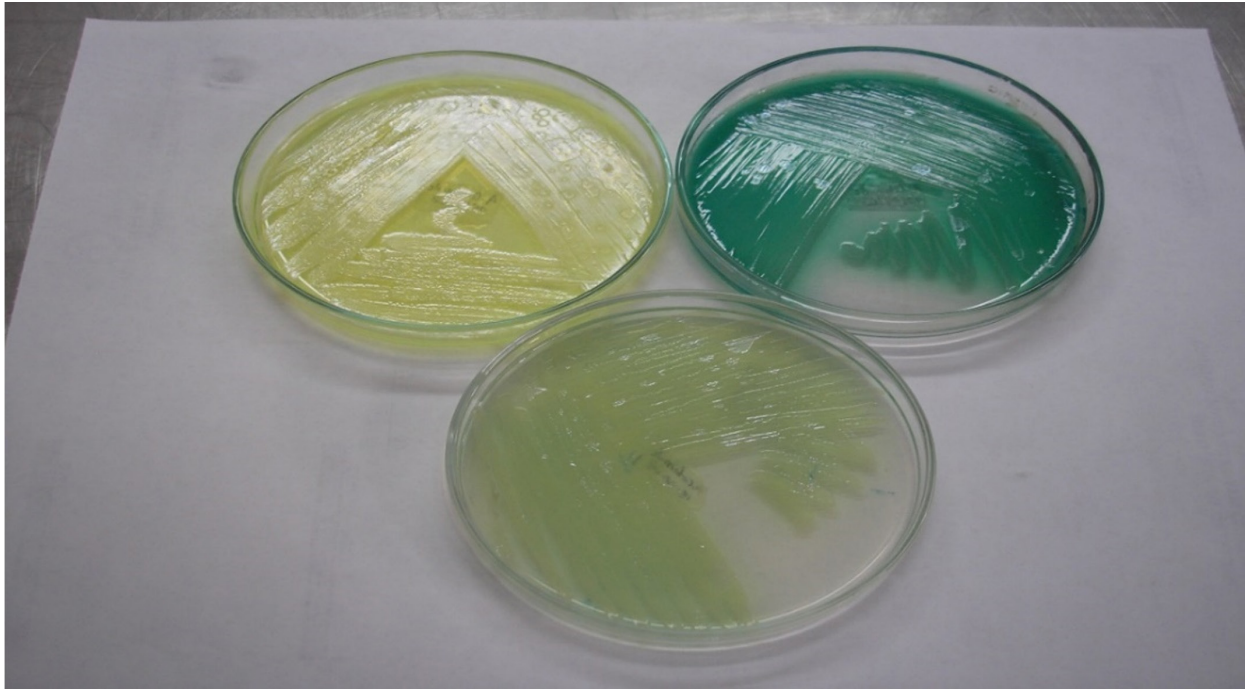
### Agar Cetrimide

Este medio cuenta con tiosulfato citrato como inhibidor y azul de timol y de bromotimol como indicadores; es un medio selectivo y diferencial para aislamiento de *Pseudomonas* a partir de diversas muestras ya que permite evidenciar la formación de pigmentos. El cetrimide, reactivo está constituido por una mezcla de sales derivadas del Bromo ( $\text{Br}^{-1}$ ), de las cuales la mayor

concentración corresponde a Bromuro de hexadeciltrimetilamonio ( $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}$ ) que constituye el componente que inhibe la flora acompañante (63,64).

Las colonias de *Pseudomonas aeruginosa* forman un pigmento de color verde-azulado llamado piocianina que es fluorescente a la luz UV, Esta reacción se observa gracias a su bioluminiscencia que requiere  $\text{O}_2$ .

**Foto 12.** Producción de los pigmentos pioverdina y fluoresceína en el medio cetrimide.



**Fuente:** L. Corrales.

### Agar Salado Manitol

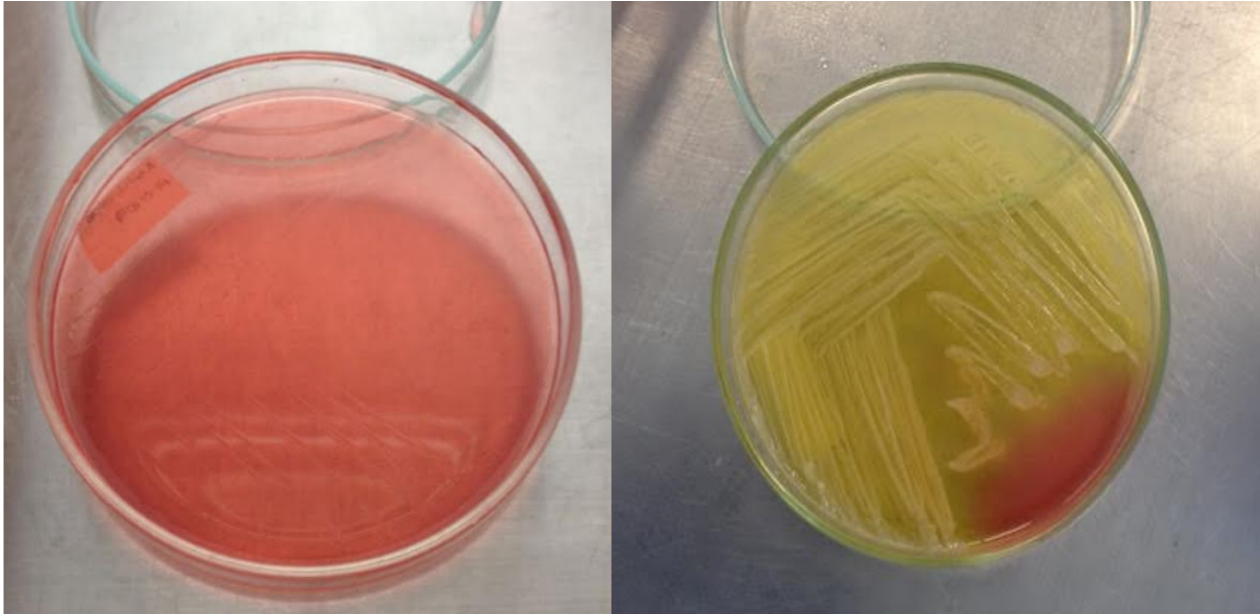
Se emplea para el aislamiento selectivo y recuento de *Staphylococcus aureus* en productos alimenticios, productos farmacéuticos y cosméticos; es un medio altamente selectivo por su alta concentración salina; los estafilococos coagulasa positiva hidrolizan el manitol (edulcorante obtenido de la hidrogenación del azúcar manosa) acidificando el medio; las colonias aparecen rodeadas de una zona amarilla brillante, los estafilococos coagulasa negativos, presentan colonias rodeadas de una zona roja o púrpura.

En el medio de cultivo, el extracto de carne y la pluripeptona, constituyen la fuente de

carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales, el manitol es el hidrato de carbono fermentable, el cloruro de sodio (que se encuentra en alta concentración) es el agente selectivo que inhibe el desarrollo de la flora acompañante, y el rojo fenol es el indicador de pH (65).

Las bacterias que crecen en un medio con alta concentración de sal y que además fermentan el manitol, producen ácidos, con lo que se modifica el pH del medio y por lo mismo vira el indicador de pH del color rojo a amarillo. Los estafilococos crecen en altas concentraciones de sal, y pueden o no fermentar el manitol.

**Foto 13.** Agar Salado Manitol. (Izquierda medio sin sembrar, Derecha: Fermentación positiva Manitol).

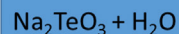
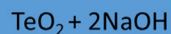


Fuente: L. Corrales.

### Agar Baird-Parker

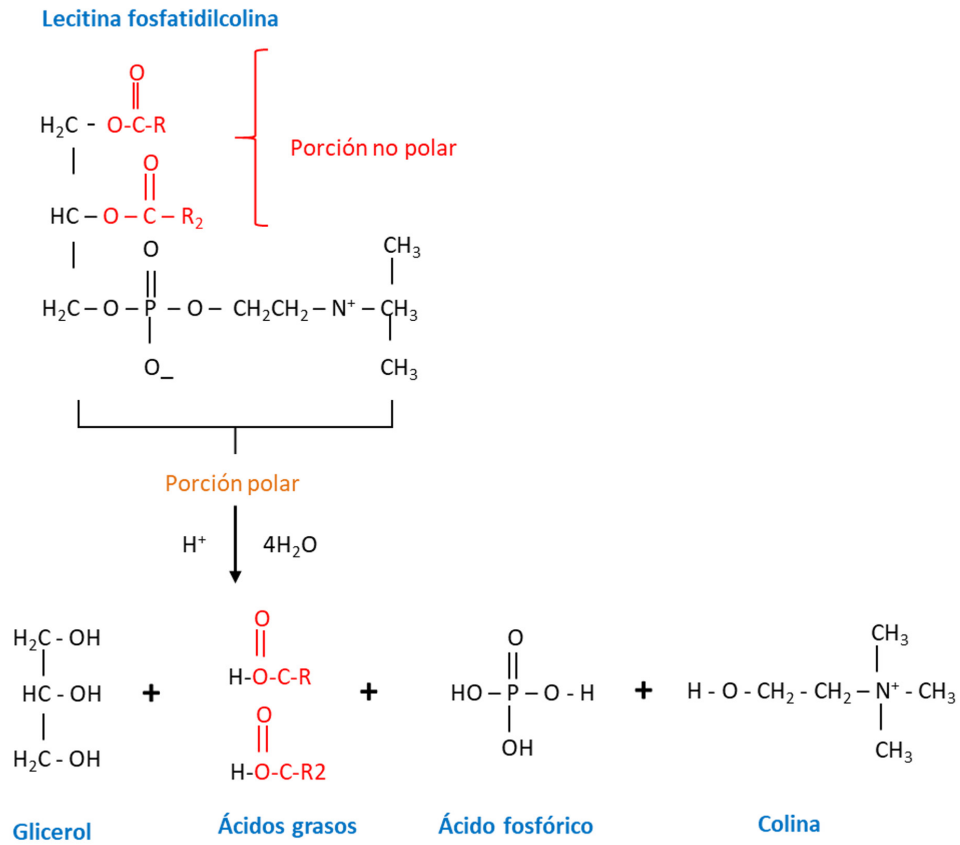
Medio de alta especificidad diagnóstica, selectivo y diferencial para el aislamiento y recuento de *Staphylococcus coagulasa* positiva. Es un medio altamente nutritivo que permite el crecimiento selectivo de *Staphylococcus* ya que el telurito de potasio ( $K_2TeO_3$ )

y el cloruro de Litio (LiCl), inhiben el desarrollo de la flora acompañante presente en la muestra. Los *Staphylococcus coagulasa* positiva reducen el telurito a telurio y así se originan colonias de color negro. Las bacterias que tienen actividad lecitinasa, actúan sobre la yema de huevo produciendo un halo claro alrededor de la colonia (16).

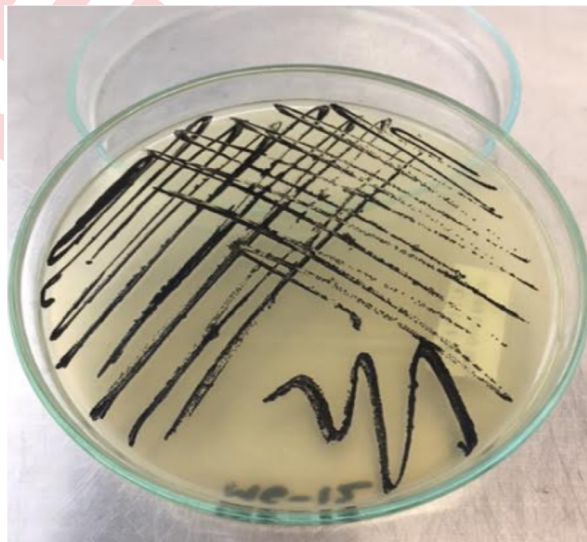


La fosfatidilcolina conocida como lecitina, es un fosfolípido que, junto con las sales biliares, ayuda a la solubilización de los ácidos biliares en la bilis (65). Es el componente más abundante de la fracción fosfatídica que puede extraerse de la yema de huevo. La fosfatidilcolina es uno de los

principales constituyentes de las bicapas lipídicas de las membranas celulares. La fosfolipasa D cataliza la hidrólisis de fosfatidilcolina a ácido fosfatídico, liberando la colina, soluble en el citosol, que puede usarse para sintetizar triacilgliceroles y otros lípidos de membrana (66).

**Figura 9.** Actividad de la Lecitinas.

Fuente: L. Corrales.

**Foto 14.** Agar Baird Parker con formación de Teluro de sodio y actividad lecitinas.

Fuente: L. Corrales.

### Agar TCBS

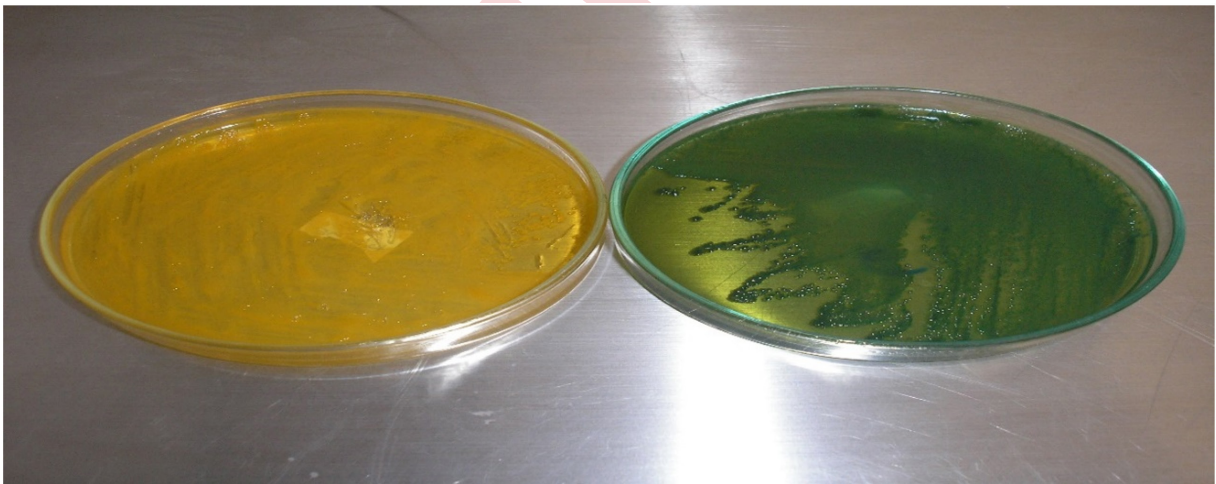
El extracto de levadura, la peptona de carne y la tripteína aportan nutrientes para el desarrollo de las bacterias, este es el medio selectivo más adecuado para el aislamiento de las especies de *Vibrio*, e inhibidor para la mayoría de las enterobacterias.

La inhibición está dada por las altas concentraciones de tiosulfato y citrato, la presencia de bilis y el pH que es fuertemente alcalino. La degradación de la sacarosa es variable entre las especies de *Vibrio*; las colonias son verdes para las cepas que no la utilizan y amarillas para aquellas que producen ácido a partir de este azúcar. Los indicadores de

pH son azul de timol y azul de bromotimol, que pasan de color azul al amarillo en medio ácido (50).

Es importante tener en cuenta, que en el medio la proporción de sacarosa está equilibrada de forma tal que no se inhiba el crecimiento bacteriano por exceso de ácido; el NaCl favorece el crecimiento de microorganismos halófilos y halotolerantes e inhibe el desarrollo de los no tolerantes (67). El tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) aporta azufre y junto con el citrato férrico ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}$ ) permiten la formación de iones sulfato ( $\text{SO}_4^{-2}$ ), iones sulfuro ( $\text{S}^{-2}$ ) y la reducción a iones ferroso ( $\text{Fe}^{+2}$ ).

**Foto 15.** Agar TCBS (Derecha fermentación de sacarosa positiva, izquierda fermentación de sacarosa negativa).



**Fuente:** L. Corrales.

### Medio Löwenstein-Jensen

Löwenstein-Jensen es una base para la preparación de varios medios destinados al aislamiento, cultivo y diferenciación de micobacterias. La mezcla de huevos, constitui-

dos en su clara por la proteína ovoalbúmina y en la yema por vitaminas A, E, D, ácido fólico, B12, B6, B2, B1 y minerales como hierro (Fe), fósforo (P), potasio (K) y magnesio (Mg), que constituyen soporte para el crecimiento de una gran variedad de mi-

cobacterias. El verde de malaquita inhibe a gran parte de la flora acompañante (68). Por su parte, el agregado de glicerina estimula el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis*, pero inhibe el desarrollo de gran parte de *M. bovis*., si se agrega un 5% de NaCl, se pueden seleccionar micobacterias tolerantes a la sal, como es el caso de *M. smegmatis*.

Para la siembra se recomienda, en procedimientos de rutina, inocular la muestra previamente descontaminada, sobre la superficie del medio de cultivo. Incubación 35-37°C; a los 7 días de incubación, se observa por primera vez si hubo crecimiento. Luego, se debe observar cada semana, hasta un total de 8 semanas, para establecer las características morfológicas y la presencia o ausencia de pigmento en las colonias (50).

**Foto 16.** Cultivo de *M. tuberculosis* en LJ con verde de malaquita



**Fuente:** L. Corrales.

### *Schaedler Kanamycina-Vancomicina Agar Con 5% Sangre De Cordero*

Se utiliza para el aislamiento selectivo de *Bacteroides*, *Prevotella* y diversos anaerobios Gram negativos a partir de muestras clínicas. El medio base es el agar Schaedler,

un medio altamente nutritivo, desarrollado específicamente para el crecimiento de anaerobios obligados. Cuando se le agrega vitamina K1 y hemina, se constituye en la base para varios medios selectivos, incluidos Schaedler-KV Agar con 5% de sangre de cordero.

La combinación de kanamicina y vancomicina se usa en el aislamiento selectivo de anaerobios Gram negativos; la adición de tres peptonas le proporcionan los nutrientes para el desarrollo bacteriano, y la glucosa es fuente de energía, contiene además un tampón Tris (hidroximetil-aminometano), de fórmula  $(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2$ , para evitar la reducción excesiva del pH durante la fermentación de la glucosa. El extracto de levadura es una rica fuente de vitaminas; la hemina y la sangre de carnero suministran hemo o factor X, necesario para el metabolismo respiratorio de una variedad de anaerobios estrictos. Se considera que la vitamina K favorece el crecimiento de una variedad de anaerobios Gram negativos. El cloruro de sodio, proporciona los electrolitos esenciales; la kanamicina inhibe los bacilos anaerobios Gram negativos facultativos y muchas otras bacterias facultativas, mientras que, la vancomicina inhibe las bacterias Gram positivas. La adición de estos agentes antimicrobianos convierte al medio en selectivo para anaerobios Gram negativos estrictos, tales como *Bacteroides* y *Prevotella* (69, 70).



## Agar Feniletanol (Agar Alcohol Fenil Etílico)

Es un medio selectivo para el aislamiento de Estafilococos y Estreptococos a partir de diversas muestras con flora mixta. La peptona, el extracto de levadura y el extracto de carne, proporcionan los nutrientes necesarios para el desarrollo de los microorganismos Gram positivos. La presencia del alcohol fenil etílico (feniletanol) inhibe el desarrollo de los microorganismos Gram negativos, ya que evita la síntesis de DNA. La adición de sangre de carnero al 5% no se recomienda para la determinación de reacciones hemolíticas, ya que se pueden presentar reacciones atípicas. También evita el crecimiento en velo de algunas especies de *Clostridium* como *Clostridium septicum*, facilitando de este modo su aislamiento. Se aconseja sembrar en este medio las muestras purulentas o cuando sea previsible una infección mixta (71).

## Conclusiones

1. La nutrición bacteriana corresponde a un conjunto de reacciones químicas en las que intervienen la energía y diferentes sustancias en forma de elementos, iones y compuestos; bien sea, en procesos anabólicos o catabólicos.

2. Los cultivos bacterianos, constituyen uno de los aportes más importantes desde la microbiología en la comprensión y el

diagnóstico de los procesos infecciosos; en su composición, se encuentran sustancias orgánicas e inorgánicas que determinan diferentes mecanismos de reacción.

3. La temperatura, el pH, la actividad del agua y el potencial Redox son propiedades fisicoquímicas que inciden directamente en el crecimiento bacteriano.

4. La selectividad y la especificidad de los medios de cultivo se explican por las sustancias utilizadas en la preparación de los mismos y por las propiedades fisicoquímicas de los azúcares, las proteínas, y los indicadores que revelan el comportamiento bacteriano.

5. La comprensión de la nutrición y el crecimiento bacteriano implican el conocimiento de reacciones tales como fermentación, oxido-reducción y descarboxilación entre otras.

6. Los aportes de la metagenómica en la identificación de especies bacterianas se enriquecen con la culturómica y el uso de medios de cultivo específicos en el aislamiento de estas especies.

## Referencias

1. Bonnet M, Lagier JC, Raoult D, Khelaifia S. Cultivo bacteriano a través de condiciones selectivas y no selectivas: la evolución de los medios de cultivo en microbiología clínica. *Nuevos microbios Nueva infección*. 2019; 34: 100622. Publicado el 30 de noviembre de 2019 doi: 10.1016 / j.nmni.2019.100622.

2. Lagier JC, Hugon P, Khelaifia S., Fournier PE, La Scola B., Raoult D. El renacimiento de la cultura en microbiología a través del ejemplo de la culturómica para estudiar la microbiota intestinal humana. *Clin Microbiol Rev.* 2015; 28: 237–264. - PMC - PubMed
3. Power DA, Johnson JA 2ª ed. Becton, Dickinson and Company; Chispas: 2009. Manual de Difco™ y BBL™.
4. Lagier JC, Edouard S, Pagnier I, Mediannikov O, Drancourt M, Raoult D. Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(1):208-236. doi:10.1128/CMR.00110-14
5. Corrales LC, Antolinez DM, Bohórquez JA, Corredor AM. 2015. Anaerobic bacteria: processes they perform and their contribution to life sustainability on the planet. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá, Colombia.
6. Kumar S. JP Medical Ltd; Nueva Delhi: 2012. Libro de texto de microbiología.
7. Atlas RM 3ª ed. CRC Press; Boca Raton, FL: 2010. Manual de medios microbiológicos. [ Google Scholar ]
8. Petrucci, R. Herring, F. Madura, J. Bissonnette, C. Química General. Principios y aplicaciones modernas. 11ª edición. Editorial Pearson. 2017.
9. Karp, Gerald. (2009). Biología Celular y Molecular. Editorial McGrawHill, 5.ª edición. México.
10. Atlas RM 3ª ed. CRC Press; Boca Raton, FL: 2010. Manual de medios microbiológicos. [ Google Scholar ]
11. Kumar S. JP Medical Ltd; Nueva Delhi: 2012. Libro de texto de microbiología. [ Google Scholar ]
12. Bernal, G.; Illanes, A. y Ciampi, L. Isolation and partial purification of a metabolite from a mutant strain of *Bacillus* sp. *Electronic Journal of Biotechnology, On line.* [Consultado 18-06-2020]. Disponible en: <http://www/ejbiotechnology.info/content/vol5/1550c1/index.html>
13. Angulo-Cortés Jimena P, García-Díaz Anamaría, Pedroza Aura Marina, María Mercedes Martínez-Salgado, Viviana Gutiérrez-Romero. Diseño de un medio para la producción de un co-cultivo de bacterias fosfato solubilizadoras con actividad fosfatasa. *SICI: 2012, Vol. 17 N° 1: 43-52*
14. Corrales Ramirez, Lucía Constanza; Arevalo Galvez, Zuly Yurieth And Moreno Burbano, Vanessa Estefanía. Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *Nova.* 2014, vol.12, n.21, pp.68-79. ISSN 1794-2470.
15. Corrales Ramírez Lucía Constanza, Liliana Caycedo Lozano, María Angélica Gómez Méndez, Sonia Julieth Ramos Rojas, Jessica Natalia Rodríguez Torres. *Bacillus* spp: una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. *NOVA.* 2017; 15 (27): 45-65.
16. Corrales L., Ávila. S., Estupiñán. M., *Bacteriología Teoría y Práctica.* Bogotá- Colombia: Editorial Universidad Colegio Mayor De Cundinamarca; 2013.
17. Duncan SH, Hold GL, Harmsen HJ, Stewart CS, Flint HJ Requisitos de crecimiento y productos de fermentación de *Fusobacterium prausnitzii*, y una propuesta para reclasificarlo como *Faecalibacterium prausnitzii* gen. nov., *peine. nov.* *Int J Syst Evol Microbiol.* 2002; 52: 2141–2146.
18. Dunn MS, Shankman S., Camien MN, Block H. Los requisitos de aminoácidos de veintitrés bacterias de ácido láctico. *J Biol Chem.* 1947; 168: 1–22.
19. Magdoub MN, Hassan ZM, Effat BA, Sadek ZI, Tawfik NF, Mabrouk AM Propiedades probióticas de algunas bacterias de ácido láctico aisladas de productos lácteos egipcios. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 2015; 4: 758–766. [ Google Scholar ]
20. Wozniak RA, Fouts DE, Spagnoletti M, et al. Genómica comparativa de ICE: información sobre la evolución de la familia de ICE SXT / R391. *PLoS*

- Genet . 2009; 5 (12): e1000786. doi: 10.1371 / journal.pgen.1000786
21. Werkman CH, Wilson PW Academic Press Inc .; Nueva York: 1951. Fisiología bacteriana. [ Google Scholar ]
  22. Organización Panamericana de la Salud, Peligros Biológicos. Consultado junio 18 de 2020. Disponible en: [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=en](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=en)
  23. Chodavarapu S, Kaguni JM. Iniciación de replicación en bacterias. *Las enzimas*. 2016; 39: 1-30. doi: 10.1016 / bs.enz.2016.03.001.
  24. Surovtsev IV, Jacobs-Wagner C. Organización subcelular: una característica crítica de la replicación de células bacterianas. *Celular*. 2018; 172 (6): 1271-1293. doi: 10.1016 / j.cell.2018.01.014.
  25. Peitz I, van Leeuwen R. Single-cell bacteria growth monitoring by automated DEP-facilitated image analysis. *Lab Chip*. 2010;10(21):2944-2951. doi:10.1039/c004691d.
  26. Willis L, Huang KC. Dimensionar el ciclo celular bacteriano. *Nat Rev Microbiol* . 2017; 15 (10): 606-620. doi: 10.1038 / nrmicro.2017.79.
  27. Kim K, Kim S, Jeon JS. Visual Estimation of Bacterial Growth Level in Microfluidic Culture Systems. *Sensors (Basel)*. 2018;18(2):447. Published 2018 Feb 3. doi:10.3390/s18020447
  28. Georgiou PC, Mouton JW, Pournaras S, Meletiadis J. Cuantificación bacteriana en homogeneizados de tejidos de estudios farmacodinámicos in vivo utilizando curvas de crecimiento. *J Med Microbiol*. 2020; 69 (5): 676-684. doi: 10.1099 / jmm.0.001183.
  29. Corrales L., González A., Ávila S., Conceptos Básicos de Microbiología. Bogotá- Colombia: Editorial Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca; 2008.
  30. Kim K, Choi D, Lim H, Kim H, Jeon JS. Examen in situ basado en marcadores de visión del crecimiento bacteriano en medios de cultivo líquidos. *Sensores (Basilea)*. 2016; 16 (12): 2179. Publicado el 18 de diciembre de 2016 doi: 10.3390 / s16122179
  31. Afzal I, Shinwari ZK, Sikandar S, Shahzad S. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiol Res*. 2019; 221:36-49. doi: 10.1016/j.micres.2019.02.001
  32. Prescott LM, Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ 5ème edition. De Boeck Supérieur; Louvain-la-Neuve: 2018. Microbiología.
  33. Madigan, m.t., Martinko j. M., Parker, J. Brock *Biología de los microorganismos*. 8va edición. Editorial Prentice Hall. Madrid 2002.
  34. Marín B. Manual de química del agua. Editorial Universidad del Magdalena. Santa Martha. Colombia. 2009; 17.
  35. Wijtzes T, McClure PJ, Zwietering MH, Roberts TA. Modelling bacterial growth of *Listeria monocytogenes* as a function of water activity, pH and temperature. *Int J Food Microbiol*. 1993;18(2):139-149. doi:10.1016/0168-1605(93)90218-6
  36. Levar CE, Hoffman CL, Dunshee AJ, Toner BM, Bond DR. Redox potential as a master variable controlling pathways of metal reduction by *Geobacter sulfurreducens*. *ISME J*. 2017;11(3):741-752. doi:10.1038/ismej.2016.146
  37. Levar CE, Chan CH, Mehta-Kolte MG, Bond DR. An inner membrane cytochrome required only for reduction of high redox potential extracellular electron acceptors. *mBio*. 2014;5(6): e02034. Published 2014 Nov 25. doi:10.1128/mBio.02034-14
  38. Singh S, Eldin C, Kowalczywska M, Raoult D. Axenic culture of fastidious and intracellular bacteria. *Trends Microbiol*. 2013;21(2):92-99. doi:10.1016/j.tim.2012.10.007

39. Volker Gurtier, Jack Trevors. *Methods in Microbiology*. Vol 45. *Microbiology of Atypical Environments*. Academic press – Elsevier . 2018. ISBN: 978-0-12-81814604-0
40. Dione N, Khelaifia S, La Scola B, Lagier JC, Raoult D. A quasi-universal medium to break the aerobic/ anaerobic bacterial culture dichotomy in clinical microbiology. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22(1):53-58. doi: 10.1016/j.cmi.2015.10.032
41. Lagier JC, Edouard S, Pagnier I, Mediannikov O, Drancourt M, Raoult D. Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev*. 2015;28(1):208-236. doi:10.1128/CMR.00110-14
42. Atiaja Espin Diana Maribel Ramirez Guano Silvia Elizabeth. Trabajo de investigación Resistencia antimicrobiana de bacterias patógenas presentes en el agua del río Chanchán. Riobamba – Ecuador 2019.
43. Jennifer T. Lau, Fiona J. Whelan, Isiri Herath, Christine H. Lee, Stephen M. Collins, Premysl Bercik, Michael G. Surette. Capturing the diversity of the human gut microbiota through culture-enriched molecular profiling. *Genome Medicine* (2016) 8:72. DOI 10.1186/s13073-016-0327-7
44. Vilaseca Méndez Juan C., Tamargo Martínez Isis, Pérez Monrrás Miriam. Producción y purificación parcial de la hemolisina principal (Neumolisina) de *Streptococcus pneumoniae*. *Rev Cubana Med Trop* [Internet]. 1999 Dic [citado 2020 Jun 25]; 51(3):160-165. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07601999000300004&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07601999000300004&lng=es).
45. Bakás L, Maté S, Vazquez R, Herlax V. E. coli alpha-hemolysin and properties. Chapter 4. En: Ekinici D, editor. *Biochemistry*. Rijeka (Croacia): InTech; 2012. p. 107-40.
46. Rodwell Victor W., David A. Bender, Kathleen M. Botham, Peter J. Kennelly, P. Anthony Weil. Harper. *Bioquímica ilustrada*, 30 ed. P
47. Xiaodong Wang, Tony Saba, Humphrey HP Yiu, Russell F. Howe, James A. Anderson, Jiafu Shi. Cofactor NAD (P) H Regeneración inspirada en vías heterogéneas. *Chem*, Volume 2, Issue 5, 11 de mayo de 2017 , páginas 621-654. [citado junio 25 de 2020]. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2451929417301754>
48. Chun-Hsing Liao, Chih-Cheng Lai, Meng-Shuian Hsu, Fang-Yeh Chu, Mei-Yu Wu, Yu-Tsung Huang, Po-Ren Hsueh. Susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de *Neisseria gonorrhoeae* determinados por la dilución de agar, difusión de disco y métodos Etest: comparación de resultados usando agar GC y agar chocolate. *Revista internacional de agentes antimicrobianos*. Volumen 35, Número 5 , mayo de 2010 , páginas 457-460.
49. Yen-Hung Liu, Yu-Tsung Huang, Chun-Hsing Liao, Po-Ren Hsueh. Antimicrobial susceptibilities and molecular typing of *neisseria gonorrhoeae* isolates at a medical centre in Taiwan, 2001–2013 with an emphasis on high rate of azithromycin resistance among the isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Volume 51, Issue 5, May 2018, Pages 768-774 May 2018, Pages 768-774
50. Koneman, E. *Diagnóstico Microbiológico*. 6ª edición. Editorial medica panamericana. España. 2008.
51. Atiaja Espin Diana Maribel Ramirez Guano Silvia Elizabeth. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN Resistencia antimicrobiana de bacterias patógenas presentes en el agua del río Chanchán. Riobamba – Ecuador 2019.
52. Shaw Carol E., Michele E. Forsyth, William R. Bowie, William A. Black. Identificación presunta rápida de *Gardnerella vaginalis* ( *Haemophilus vaginalis* ) de medios de agar sangre humana. *Journal of Clinical Microbiology* Jul 1981, 14 (1) 108-110.
53. Alexander Swidsinski, Werner Mendling, Vera Loening-Baucke Sonja Swidsinski Yvonne Dörffel Jürgen Scholze bHerbert Lochs . Una biopelícula adherente de *Gardnerella vaginalis* persiste en el epitelio vaginal después de la terapia estándar con

- metronidazol oral. Revista estadounidense de obstetricia y ginecología. Volumen 198, Número 1 , enero de 2008, páginas 97.e1-97.e6 Enero de 2008 , páginas 97.e1-97.e6
54. Culture for urethral gonorrhoea from asymptomatic men positive for neisseria gonorrhoeae by urine aptima combo 2 testing (Poster) Melanie Bissessor\*. Melbourne Sexual Health Centre, Sexual Health, Carlton, Australia 10.1136/sextrans-2019-sti.692. [https://sti.bmj.com/content/95/Suppl\\_1/A275.3?utm\\_content=americas&utm\\_campaign=usage&utm\\_medium=cpc&utm\\_source=trendmd](https://sti.bmj.com/content/95/Suppl_1/A275.3?utm_content=americas&utm_campaign=usage&utm_medium=cpc&utm_source=trendmd)
  55. Amanda Beverly, Jill R. Bailey-Griffin, Jane R. Schwebke. Placas de agar InTray GC medio frente a agar Thayer-Martin modificado para el diagnóstico de gonorrea a partir de muestras endocervicales. JCM. Vol 38.10.3825-3826.2000
  56. Corrales Ramírez LC, Sánchez Leal LC, Escucha Rodríguez FA. Determinación de la presencia de bacterias patógenas para el humano en aguas de riego en la cuenca alta de la sabana de Bogotá; D.C. Colombia. NOVA [Internet]. 31dic.2014 [citado 25jun.2020];12(22). Available from: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/277>
  57. WO Grabow, M du Preez, Comparison of m-Endo LES, MacConkey, and Teepol Media for Membrane Filtration Counting of Total Coliform Bacteria in Water. Applied and environmental microbiology, Vol. 38, No. 3. Sept. 1979, p. 351-358
  58. Atiaja Espin Diana Maribel Ramirez Guano Silvia Elizabeth. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN Resistencia antimicrobiana de bacterias patógenas presentes en el agua del río Chanchán. Riobamba – Ecuador 2019.
  59. Perçin D, Colakoğlu S, Durmaz S, Ekincioğlu P. Rektal Sürüntü Örneklerinde Karbapeneme Dirençli Klebsiella pneumoniae Taranmasında Klasik Yöntemlerle Ertapenemli EMB Besiyerinin Karşılaştırılması [Comparison of ertapenem-EMB Agar with traditional methods for screening carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae from rectal swabs]. Mikrobiyol Bul. 2012;46(4):546-552.
  60. Cuamatzi Tapia Óscar, Bioquímica de los procesos metabólicos. Reverte, 2004, p 50.
  61. Guodong Zhang, Keith A. Lampel. Comparison of Chromogenic Biolog Rainbow Agar Shigella/Aeromonas with Xylose Lysine Desoxycholate Agar for Isolation and Detection of Shigella spp. from Foods. Journal of Food Protection, Vol. 73, No. 8, 2010, Pages 1458–1465
  62. J. M. Perez, P. Cavalli, C. Roure, R. Renac, Y. Gille, A. M. Freydiere. Comparison of Four Chromogenic Media and Hektoen Agar for Detection and Presumptive Identification of Salmonella Strains in Human Stools. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 41, No. 3. Mar. 2003, p. 1130–1134
  63. Oliva-Menacho José Enrique, García-Hjarles Marco Antonio, Oliva-Candela José Arturo, De la Cruz-Roca Hugo Saturnino. Contamination of medical stethoscopes with pathogenic bacteria in a level III hospital in Lima, Peru. Rev Med Hered [Internet]. 2016 Abr [citado 2020 Jun 25]; 27(2): 83-88. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2016000200003&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2016000200003&lng=es). <http://dx.doi.org/10.20453/rmh.v27i2.2842>.
  64. Adrián J. Acuña, Cecilia F. Torres, Graciela N. Pucci, Oscar H. Pucci. Evaluación del tiempo de vida de bacterias potencialmente patógenas en sedimentos marinos. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 2011; 31:124-129.
  65. Sejas Claros Alfredo, Zurita Céspedes Brian Iván, Rodríguez Álvarez María Ximena, Espinoza Amurrio Jhasmany Brian, Sejas Revollo Magaly. PREVALENCIA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN PORTADORES NASALES DEL PERSONAL DE ENFERMERIA - HOSPITAL VIEDMA. Rev Cient Cienc Méd [Internet]. 2016 [citado 2020 Jun 25]; 19(1): 29-33. Disponible en: <http://www>

scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1817-74332016000100006&lng=es.

66. Gabriela Nogueira Viçosa Paula Mendonça Moraes Anderson Keizo Yamazi Luís Augusto Nero. Enumeración de *Staphylococcus* spp. Coagulasa y termonucleasas positivas. en leche cruda y queso blando fresco: una evaluación de agar Baird-Parker, agar de fibrinógeno de plasma de conejo y el sistema de conteo Petrifilm™ Staph Express. *Microbiología de Alimentos*, Volumen 27, Número 4, junio de 2010, páginas 447-452. Junio de 2010, páginas 447-452. [citado junio 25 de 2020], disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002009002846>
67. Angela Di Pinto, Valentina Terio, Lucia Novello, Giuseppina Tantillo. Comparación entre el agar tiosulfato-citrato-sal biliar sacarosa (TCBS) y CHROMagar Vibrio para aislar *Vibrio parahaemolyticus*. *Control de alimentos*. Volumen 22, Número 1, enero de 2011, páginas 124-127. [Citado 25 de junio 2020]. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713510001957>
68. S Rishi , P Sinha , B Malhotra , N Pal. Un estudio comparativo para la detección de micobacterias por bactec MGIT 960, lowenstein jensen media y examen directo de frotis AFB. *Revista India de Microbiología Médica*, Año: 2007 | Volumen: 25 | Problema: 4 | Página: 383-386. [citado junio 20 de 2020]. Disponible: <http://www.ijmm.org/article.asp?issn=0255-0857;year=2007;volume=25;issue=4;spage=383;epage=386;aulast=rishi>
69. Corrales LC, Antolinez Romero DM, Bohórquez Macías JA, Corredor Vargas AM. Identificación de microbiota bucal en caninos en estado de abandono. *nova* [Internet]. 15 de noviembre de 2019 [citado 25 de junio de 2020];17(32):39 -64. Disponible en: <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/nova/article/view/3632>
70. José Manuel Ruiz- Giardin, Mercedes Alonso, Jerónimo Jaquetti, Susana Sánchez, Teresa Saldaña, Antonio Zapatero. Diagnostic reliability of anaerobic blood cultures in bacteremias from a critical care unit. *Medicina Clínica*. Volume 132, Issue 19, 23 May 2009, Pages 729-734. [citado junio 20 de 2020]. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025775309005260>
71. M. R. Litterio Bürki, H. Lopardo. La anaerobiosis más allá de las bacterias anaerobias. Su importancia en la recuperación de microorganismos aerobios a partir de materiales purulentos. *Revista Argentina de Microbiología* (2010) 42: 102-107 ISSN 0325-7541 [ citado 12 de junio de 2020]. Disponible: <https://www.redalyc.org/pdf/2130/213014892007.pdf>

# Potencial antimicrobiano de extractos de plantas medicinales y sus mezclas frente a bacterias asociadas con conjuntivitis

Antimicrobial potential of plant extracts and their mixtures against bacteria associated with conjunctivitis

Wendy Johanna Velasco Garcia<sup>1</sup>, Ludy C. Pabón Baquero<sup>2</sup>, Patricia Hernández-Rodríguez<sup>3</sup>

## Resumen

**Introducción.** La conjuntivitis bacteriana es una de las infecciones oculares con mayor tasa de consulta oftálmica, siendo el género *Staphylococcus* el agente etiológico que presenta mayor resistencia a los antibióticos. **Objetivo.** Determinar el potencial antimicrobiano de extractos de plantas medicinales y sus mezclas frente a bacterias asociadas con conjuntivitis. **Métodos.** A partir de plantas como Belladona, Caléndula, Albahaca, Achiote y Romerillo se prepararon los extractos etanólicos y se evaluó su potencial antibacteriano frente a *S. aureus* y *S. epidermidis*, mediante las técnicas de difusión en disco y dilución en tubo. El efecto de las mezclas se determinó para el extracto con mejor actividad y el antibiótico con mayor halo de inhibición a través de la técnica de tablero. **Resultados.** Se encontró que el extracto con mayor potencial para *S. aureus* fue el de achiote (hojas) con un halo de inhibición de 13 mm y CMI de 15 mg/mL, mientras que para *S. epidermidis* fueron los de hojas y frutos de achiote con halos de 16,6 y 9,6 mm y CMI de 15 y 30 mg/mL respectivamente. En relación con las combinaciones, el extracto de achiote y ciprofloxacina mostró un efecto de sinergia parcial para *S. aureus* con una CFI de 0,83 y un efecto aditivo para *S. epidermidis* con una CFI de 1,84. **Conclusiones.** Este trabajo se constituye en la base de futuras investigaciones orientadas hacia el desarrollo de bioproductos de uso ocular que puedan ser considerados como alternativa en el tratamiento de infecciones causadas por *Staphylococcus*.

1. Bióloga, Integrante del Semillero SIEZ. Universidad de La Salle (Bogotá- Colombia).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1169-0994>  
CvLac: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000069399](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000069399)

2. Docente Investigador Departamento de Ciencias Básicas, Grupo BIOMIGEN (Biología Molecular e Inmunogenética).  
Universidad de La Salle (Bogotá- Colombia).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8723-0436>.  
CvLac: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000948780](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000948780)

3. Docente Investigador Departamento de Ciencias Básicas, Grupo BIOMIGEN (Biología Molecular e Inmunogenética).  
Universidad de La Salle (Bogotá- Colombia).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1730-9648>  
CvLac: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000183695](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000183695)

**Palabras claves:** conjuntivitis, actividad antimicrobiana, extractos de plantas, *staphylococcus*, infecciones

## Abstract

**Introduction.** Bacterial conjunctivitis is one of the ocular infections with the highest rate of ophthalmic consultation, being the *Staphylococcus* genus the etiological agent that presents the greatest resistance to antibiotics. **Objective.** To determine the antimicrobial potential of medicinal plant extracts and their mixtures against bacteria associated with conjunctivitis. **Methods.** From plants such as *Belladonna*, *Calendula*, *Basil*, *Achiote* and *Romerillo*, ethanolic extracts were prepared and their antibacterial potential against *S. aureus* and *S. epidermidis* was evaluated by means of disk diffusion and tube dilution techniques. The effect of the mixtures was determined for the extract with the best activity and the antibiotic with the highest inhibition halo through the board technique. **Results.** It was found that the extract with the highest potential for *S. aureus* was that of annatto (leaves) with an inhibition halo of 13 mm and MICs of 15 mg / mL, while for *S. epidermidis* it was those of annatto leaves and fruits with halos of 16.6 and 9.6 mm and MICs of 15 and 30 mg / mL respectively. In relation to the combinations, the annatto extract and ciprofloxacin showed a partial synergistic effect for *S. aureus* with a CFI of 0.83 and an additive effect for *S. epidermidis* with a CFI of 1.84. **Conclusions.** This work constitutes the basis for future research aimed at the development of bioproducts for ocular use that can be considered as an alternative in the treatment of infections caused by *Staphylococcus*.

**Keywords:** conjunctivitis, antibacterial activity, plant extracts, *staphylococcus*, infection.

## Introducción

La conjuntivitis es una de las enfermedades oculares más comúnmente consultadas, la cual consiste en la inflamación o infección de la conjuntiva cuyo origen puede ser de tipo infeccioso o no infeccioso (1). La conjuntivitis de tipo bacteriano es causada por estafilococos y estreptococos (2), entre los que se han reportado a *S. epidermidis* (43-48%), *S. aureus* (35-28%), *Streptococ-*

*cus pneumoniae* (4%) y *Corynebacterium sp.* (2%), entre otros (3,4)

Dentro de los protocolos establecidos para disminuir propagación de la infección, se recomienda el uso de tratamientos tópicos, acompañado de estrategias de educación al paciente sobre técnicas de limpieza (5). Este tipo de tratamientos preliminares, a pesar de tener una alta efectividad en casos no agudos tiene como desventaja el tiempo



prolongado del tratamiento, si se compara con el uso de antibióticos comerciales (6,7). Sin embargo, por tratarse de una infección altamente contagiosa, en la práctica clínica si el problema no se ha resuelto en tres días, se opta por la medicación con antibióticos como penicilina, amoxicilina, gentamicina, ciprofloxacina, rifampicina, vancomicina y eritromicina sin un estudio microbiológico previo (8). Esta situación junto a la falta de valoración por un profesional de la salud y la automedicación ha llevado a problemas de resistencia de los microorganismos frente a los antibióticos comerciales (9).

El género *Staphylococcus* en especial las cepas de *S. aureus* tienen un amplio rango de resistencia a los antibióticos, considerándoseles como resistentes y multiresistentes, como respuesta a la presión selectiva dada por los tratamientos antimicrobianos (10). Además teniendo en cuenta los efectos adversos generados en el paciente como afectaciones al sistema nervioso central y periférico y complicaciones neurológicas durante el tratamiento con ciertos antibióticos (11), se ha propuesto la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento, donde el uso de las plantas medicinales ha permitido conocer de manera general sus propiedades benéficas para el ser humano (12). Sin embargo, la actividad antimicrobiana en general es reducida si se compara con el efecto directo de los antibióticos; por tal razón, se han postulado nuevas estrategias como las combinaciones entre extractos y antibióticos donde se potencializa la actividad del extracto y se reducen los efectos

adversos de los antibióticos (13). Por todo lo anterior, es importante la realización de estudios basados en la evaluación del potencial antimicrobiano de extractos de plantas medicinales y sus mezclas frente a microorganismos asociados con conjuntivitis bacterianas como *S. epidermidis* y *S. aureus*

## **Materiales y métodos**

### *Selección de plantas*

Se realizó una búsqueda de las plantas que son utilizadas comúnmente en la medicina tradicional Latinoamericana, para el tratamiento de conjuntivitis o de infecciones oculares. (14-18). Para la selección de especies, se tuvieron en cuenta como criterios combinados a) frecuencia de citación mayor a tres en los documentos seleccionados, b) la no existencia de reportes de actividad antimicrobiana para extractos etanólicos de especies recolectadas en Colombia frente a *S. aureus* y *S. epidermidis*. Las plantas que cumplieron con estos criterios fueron adquiridas en las plazas de mercado de Bogotá-Colombia. Con un ejemplar completo de cada especie se realizó la identificación taxonómica a través de las claves del Gentry (19) y con la colaboración del personal científico del herbario del Museo de La Salle (Colombia).

### *Obtención de extractos*

El material vegetal limpio se secó en un horno a 37°C por 3 días. Posteriormente,

se procedió a moler aproximadamente 300 g del material y se sometió a maceración con etanol al 96% en una proporción 1:2 (peso-volumen), el solvente se removió por destilación a presión reducida y se determinó el rendimiento de extracción.

### *Evaluación de susceptibilidad de extractos y de tres antibióticos comerciales*

#### ***Preparación del inóculo***

Se usaron cepas de referencia *S. epidermidis* ATCC14990 y *S. aureus* ATCC 25923. El inóculo de cada bacteria se preparó tomando de 3 a 4 colonias de la cepa y se sembró con la técnica de estría en placas con Muller Hinton (MH) solidificado, incubando a 37°C por 24 h. Para cada uno de los ensayos, se partió de un inóculo con una absorbancia de 0,1 utilizando un espectrofotómetro Genesys a una longitud de onda de 600 nm (20).

#### ***Difusión en disco***

El inóculo se sembró masivamente sobre medio MH solidificado. Posteriormente, sensidiscos de 6mm de diámetro fueron impregnados con 15µL de cada uno de los extractos a una concentración de 30 mg/mL disueltos en DMSO al 10%, y fueron distribuidos en las cajas de Petri (21). Los antibióticos empleados para evaluar la susceptibilidad fueron marca: Becton Dickinson col): Ciprofloxacina (5µg), Oxitetraciclina (30µg), Eritromicina (15µg). Después de 24 h de incubación se tomaron los diámetros de inhibición de crecimiento alrededor

de los sensidiscos (22). Este procedimiento se realizó por triplicado y se tuvo en cuenta controles de medio y solvente.

#### ***Dilución en tubo***

Para determinar la CMI de los extractos y de los dos antibióticos que presentaron mayor halo de inhibición en difusión en disco, se realizaron diluciones seriadas (60 – 1,8 mg/mL en DMSO al 10% para los extractos y 4 - 0,015 mg/mL de solución salina para los antibióticos). Para lo cual, se incubó por 24 h 500 µL de cada uno de los tratamientos con 500µL de inóculo en caldo MH. Posteriormente se agregó 50 µL de resazurina a 2 mg/mL y después de 2 horas se realizó la lectura de susceptibilidad e inhibición. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado y se emplearon controles del crecimiento bacteriano, medio y solvente (DMSO 10% y solución salina).

### *Evaluación de la interacción entre combinaciones*

Para la evaluación se empleó la técnica del tablero para el extracto y el antibiótico con la menor CMI y (23). Para lo cual se realizó previamente la preparación de 36 mezclas en una microplaca, cuyas concentraciones tanto del extracto como del antibiótico varió desde el doble de la CMI a cuatro diluciones por debajo de esta cantidad. Así mismo se evaluó cada uno de los tratamientos por separado. Posteriormente, en cada uno de los pozos se adicionó 100 µL del inóculo en caldo MH y se incubó por 24 h a 37°C. Posteriormente, se usó 20 µL de una solu-

ción de resazurina a 2 mg/mL y se incubó por 24 h más. Adicionalmente, para corroborar los resultados, se realizó el método de García (24), en el cual 2 µL de cada uno de los tratamientos se incubó durante 24 h para determinar el crecimiento o no de colonias bacterianas. La interpretación de los resultados se realizó mediante isobogramas y el cálculo del índice de concentración fraccionaria inhibitoria ( $\Sigma$ CFI) (23).

### **Análisis estadístico**

Todos los resultados fueron expresados como el promedio de los ensayos por tripli-

cado, con su respectiva desviación estándar. Los datos fueron analizados usando el programa estadístico InfoStat y Excel.

### **Resultados**

La Tabla 1 presenta los rendimientos de extracción para la obtención de los extractos, se observa un alto porcentaje en belladona seguido del extracto de caléndula.

**Tabla 1.** Porcentaje de rendimiento de extracción para las plantas seleccionadas.

# Tubo	Descripcion	Correspondencia	V antib µl	V extr µl	C extr mg/ml
1	Bacteria+medio				
2	1/2 Mic antib= bacteria+Antib	0,06	500		
3	3/4 Mic ant= bacteria+antib	0,09	500		
4	1Mic ant= bacteria+antib	0,12	500		
5	3/2 Mic ant= bacteria+antib	0,18	500		
6	2Mic= bact+ antib	0,24	500		
7	1/2 Mic Extr= bacteria+extr	7,5		500	22
8	3/4 Mic Extr= bacteria+extr	11,25		500	30
9	1 Mic Extr= bacteria+extr	15		500	45
10	3/2Mic Extr= bacteria+extr	22,5		500	60
11	2 Mic Extr= bacteria+extr	30		500	90
12	1/2 Mic anti y 1/2 Mic extr	1	250	250	45
13	1/2 Mic anti y 3/4 Mic extr	1	250	250	64
14	1/2 Mic anti y 1 Mic extr	1	250	250	90
15	1/2 Mic anti y 3/2 Mic extr	1	250	250	134,8

# Tubo	Descripcion	Correspondencia	V antib $\mu$ l	V extr $\mu$ l	C extr mg/ml
16	1/2 Mic anti y 2 Mic extr	1	250	250	180
17	3/4 Mic anti y 1/2 Mic extr	2	250	250	45
18	3/4 Mic anti y 3/4 Mic extr	2	250	250	64
19	3/4 Mic anti y 1 Mic extr	2	250	250	90
20	3/4 Mic anti y 3/2 Mic extr	2	250	250	134,8
21	3/4 Mic anti y 2 Mic extr	2	250	250	180
22	1Mic anti y 1/2 Mic extr	3	250	250	45
23	1Mic anti y 3/4 Mic extr	3	250	250	64
24	1Mic anti y 1 Mic extr	3	250	250	90
25	1Mic anti y 3/2 Mic extr	3	250	250	134,8
26	1Mic anti y 2 Mic extr	3	250	250	180
27	3/2 Mic ant y 1/2 mic ext	4	250	250	45
28	3/2 Mic ant y 3/4 mic ext	4	250	250	64
29	3/2 Mic ant y 1 mic ext	4	250	250	90
30	3/2 Mic ant y 3/2 mic ext	4	250	250	134,8
31	3/2 Mic ant y 2 mic ext	4	250	250	180
32	2 Mic ant y 1/2 mic ext	5	250	250	45
33	2 Mic ant y 3/4 mic ext	5	250	250	64
34	2 Mic ant y 1 mic ext	5	250	250	90
35	2 Mic ant y 3/2 mic ext	5	250	250	134,8
36	2 Mic ant y 2 mic ext	5	250	250	180

Fuente. Elaboración propia.

En la actividad antimicrobiana evaluada por difusión en disco se encontró que los mayores halos de inhibición fueron para el extracto de hojas de achiote frente a *S. aureus* y los de frutos y hojas de achiote para *S. epidermidis* (Tabla 2). En cuanto a las CMI de los extractos, la mayoría mostraron una acción inhibitoria a 30 mg/mL; sin embargo, se resalta que la CMI del extracto de hojas de achiote fue de 15 mg/mL para ambas

cepas bacterianas. El extracto de romerillo no presentó actividad antimicrobiana frente a ninguna de las dos cepas evaluadas. Los resultados de los antibiogramas permitieron determinar que todos antibióticos presentaron efecto inhibitorio frente a *S. aureus* y *S. epidermidis*, siendo la ciprofloxacina el de mayor efectividad. Las CMI de los antibióticos muestran valores más bajos frente a *S. aureus* que para *S. epidermidis*.

**Tabla 2.** Resultados de inhibición de los extractos y antibióticos frente a *S. aureus* y *S. epidermidis*.

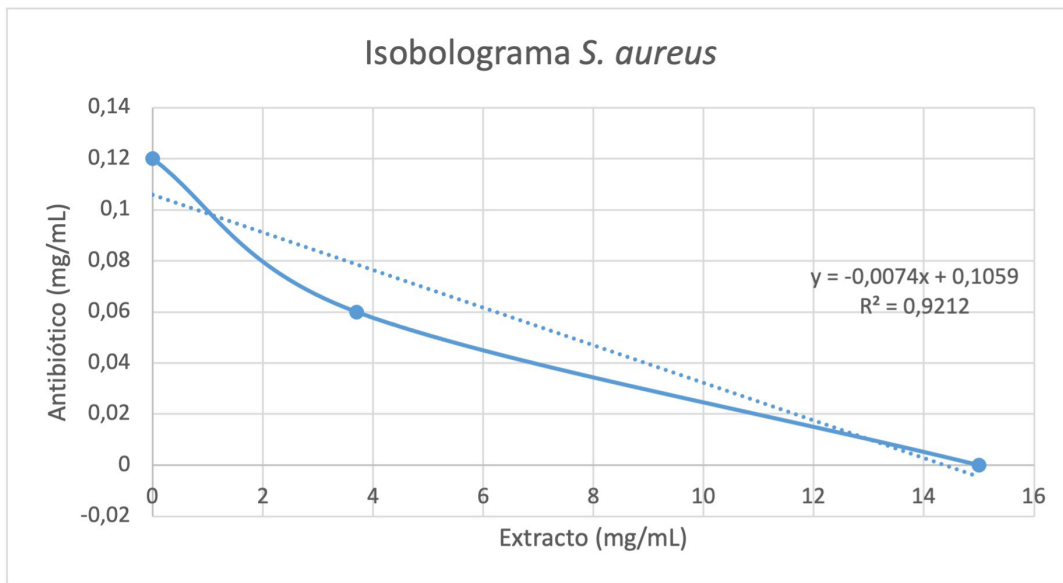
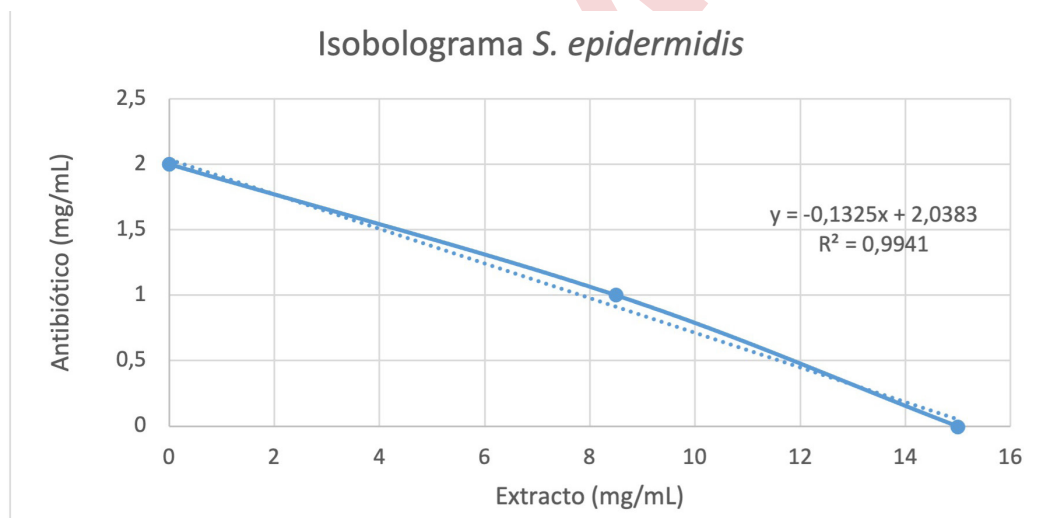
Pesar 28,8 mg y disolver en 30 mL							Tubo	Cantidad	Solvente
Antibiotico	1	0,12		3000	8 mL	1	3	8	8
	2	0,18		3000	8 mL	2	4	8	8
	3	0,24	3750	3000	8 mL	3	5	8	8
	4	0,36	3750	3000	8 mL	4	6	8	8
	5	0,48	3750	3000	8 mL	5	7	8	8
	6	0,72	3750		8 mL	6	7	12	4
	7	0,96	3750		8 mL	7	7	6	0
Pesar 3,6 g y disolver en 30 mL							Tubo	Cantidad	Solvente
Extracto	A	15		1500	6 mL	A	C	6	6
	B	22		1500	6 mL	B	D	6	6
	C	30	3750	1500	6 mL	C	E	6	6
	D	45	3750	1500	6 mL	D	F	6	6
	E	60	3750	1500	6 mL	E	G	6	6
	F	90	3750		6 mL	F	G	9	3
	G	120	3750		6 mL	G	G	6	0

Fuente. Elaboración propia.

### Evaluación del efecto sinérgico

El diseño experimental permitió determinar que la mezcla ciprofloxacina y el extracto de hojas de achiote presentó un valor de CFI 0,83 frente a *S. aureus* correspondiente a un efecto de sinergismo parcial o bajo y un CFI de 1,24 frente a *S. epidermidis* cuyo efecto

es aditivo. Esto fue corroborado mediante la elaboración de los isobogramas que se presentan en la figura 1 y 2, en los cuales se observa gráficamente el efecto sinérgico frente a *S. aureus*, mediante una línea cóncava que conecta los ejes X y Y, y un efecto indiferente para *S. epidermidis* representado por una línea casi recta.

**Figura 1.** Isoblograma para la mezcla de ciprofloxacina con extracto de hojas de achiote frente a *S. aureus*.**Figura 2.** Isoblograma para la mezcla de ciprofloxacina con extracto de hojas de achiote frente a *S. epidermidis*.

## Discusión

Este estudio parte de la revisión de 54 plantas empleadas la medicina tradicional empleadas en el tratamiento de infecciones oculares y que permitió la selección de cinco de ellas (caléndula, albahaca, achiote, sauco y llantén). Los porcentajes de rendimientos

para la obtención de los extractos etanólicos en general fue entre 7,6 y 34,3%, los cuales están acordes con lo reportado por otros autores. Por ejemplo, para *C. officinalis* los resultados de este estudio son superiores a los reportados previamente de 19,8 (25) y 19,5% (26) y cuyas diferencias pueden estar relacionadas con la época de recolección, ya que los cambios estacionales y las

condiciones del suelo generan en la planta un estrés oxidativo que produce cambios en la producción de los metabolitos (27). Para albahaca, achiote, sauco y llantén no se ha realizado extracciones con etanol o es el primer reporte de estudios fitoquímicos, por lo que no pueden ser comparados al no emplear el mismo solvente.

Los resultados de actividad antimicrobiana permitieron establecer que los extractos con mayor potencial inhibitorio frente a las dos cepas seleccionadas fueron el extracto de hojas de achiote (13mm para *S. aureus* y 16,6mm frente a *S. epidermidis*), seguido por el del fruto de achiote (9,6mm frente a *S. epidermidis*), a 30 mg/mL como la máxima concentración evaluada, con el fin de evitar que su actividad no estuviera asociada a su toxicidad (28). Así mismo, se obtuvieron como CMI de 30 mg/mL para casi todos los extractos, a excepción del extracto hojas de achiote con 15 mg/mL para las dos cepas bacterianas.

*C. officinalis* es la especie que presenta el mayor número de reportes de evaluación de actividad antimicrobiana frente a cepas del género *Staphylococcus*, variando los resultados de un estudio a otro. Para esta especie, se han reportado resultados previos de halos de inhibición de 28 mm (25) y 18 mm (29,30), para los extractos etanólico y metanólico respectivamente. Sin embargo, también hay reportes en los cuales esta especie no ha presentado actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* (26,31). La diferencia en los resultados, posiblemente se debe

a la cantidad de extracto que fue utilizada para impregnar los discos, por el solvente de extracción, así como el lugar de procedencia del material vegetal (32). Las CMI concuerda con el obtenido por Roopashree y colaboradores (26), que reporta un valor de CMI de 32mg/mL, siendo cercano al obtenido en esta investigación.

Para la especie *O. basilicum* sólo existe un reporte CMI, el valor fue superior a lo reportado previamente para el etanólico (CMI: 4mg/mL)(33). En el caso de *B. orellana* se reporta una inhibición parcial del extracto de etanol/diclorometano frente a la cepa *S. aureus* (34). Adicionalmente, hay dos reportes, que coinciden entre ellos y en los cuales la CMI es de 1,28 mg/mL (33) , pero inferiores con lo reportado en este estudio, lo que puede estar relacionado con el solvente de extracción utilizado (metanol), un solvente más polar que el empleado en el presente estudio. Para el extracto de *A. belladonna* existe un reporte cuyo valor de halo de inhibición fue de 1,2mm frente a *S. aureus* (35), resultado tan bajo que permitiría confirmar que esta especie no posee actividad frente a *S. aureus*, como se determinó en este estudio. Finalmente, para la especie *D. rosmarinifolium* no hay reportes de estudios de actividad antimicrobiana frente a las dos bacterias empleadas.

Se conoce ampliamente el potencial antimicrobiano frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas (33) de especies de la familia Asteraceae, a la cual pertenece *C. officinalis* siendo consistente con los resul-

tados previos reportados para otras especies como *Artemisia absinthium* (36) y *Baccharis dracunculifolia* (37), que han mostrado inhibición principalmente frente a *S. aureus*. El potencial de las especies de esta familia, ha sido asociado a la presencia de flavonoides, aceites volátiles y compuestos poliacetilénicos, diterpenos y ácidos fenólicos (38). Aunque ya se ha reportado el aislamiento de algunos compuestos para *C. officinalis* (26,30), *O. Basilicum* (39,40) y *B. orellana* (41), a ninguno en particular se ha atribuido los efectos antimicrobianos por lo que es importante continuar con la realización de estudios biodirigidos que permitan identificar cuáles son moléculas responsables de la actividad que presentaron las especies objeto de este estudio.

Los antibióticos seleccionados como controles para este estudio, mostraron sensibilidad frente a las cepas *S. aureus* y *S. epidermidis* de acuerdo a los patrones establecidas por CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute) (42) y EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) (43), y frente a la misma cepa de referencia *S. aureus* 25923, donde se reporta para la ciprofloxacina un halo de inhibición 32mm (44) acorde al obtenido con el de la presente investigación y uno de 42mm (25), que aunque es superior, esta diferencia puede estar relacionada con la cantidad del antibiótico en el sensidisco (4500µg). En cuanto a las CMI's para estos antibióticos frente a *S. epidermidis* se han reportado valores para la ciprofloxacina y la eritromicina de 0,25 mg/mL (45), y para

el primer antibiótico otro reporte de 0,125 mg/mL (46). Para *S. aureus*, se reportan valores de CMI para la ciprofloxacina de 1,2 mg/mL (47), 0,024 mg/mL (48) y 0,5 µg/mL (49), siendo el resultado obtenido en el presente estudio un valor intermedio a los estudios previos, y cuyas diferencias pueden ser explicadas debido a la concentración del inóculo empleados en los ensayos, a la marca del antibiótico empleado o incluso al tipo de procedencia de la cepa de referencia (50).

A pesar del potencial antibacteriano que presentan las plantas medicinales frente a algunas cepas bacterianas, estas no son frecuentemente utilizadas, debido a las altas concentraciones necesarias para la inhibición de los microorganismos, la susceptibilidad a la degradación y las reacciones adversas que pueden aparecer si se emplean en dosis inadecuadas o por períodos prolongados (51). Sin embargo, el uso de mezclas de extractos con antibióticos, ofrece como ventajas la conservación del efecto del antibiótico, pero a su vez la disminución de los efectos secundarios, costos y de los casos de resistencia que se presentan frente a los medicamentos comerciales. A partir de la evaluación de la mezcla de ciprofloxacina con extracto de hojas de achote, se encontró un efecto de sinergismo parcial frente a *S. aureus* y un efecto aditivo frente a *S. epidermidis*, siendo este estudio el primer reporte del uso de esta mezcla en evaluaciones del tipo de interacciones que se presentan. Sin embargo, este tipo de estrategias también han sido evaluadas previamente para mez-



clas de otros extractos con ciprofloxacina, tales es el caso de *Platycarpha glomerata* que también presenta dos efectos diferentes, un efecto antagónico para el extracto de hojas frente a *S. aureus* 25925 (CFIs 2,5) y un efecto sinérgico al emplear el extracto de rizoma (CFIs 0,1) (44). Para la mezcla de *Ansellia africana* con este mismo antibiótico se obtuvo un efecto antagónico (CFI de 1,5) frente a *S. aureus* 14468.

Para otros antibióticos se ha establecido un efecto sinérgico al combinar el extracto etanólico de romero con cefuroxima frente a una cepa meticilino-resistente de *S. aureus*. (CFI de 0,62) (52), o el demostrado por ampicilina y *Cuspidaria convoluta* con valores de CFI entre 0.125 y 0.5 frente a una cepa de *S. aureus* y una multi-resistente (53). Sin embargo, también es posible encontrar efecto antagonista, como lo reportado para la mezcla entre vancomicina y el extracto de *Boesenbergia rotunda* para *S. aureus* 20651 cuya CFI fue de 1,02; mientras que se presentó un efecto aditivo frente a las cepas *S. aureus* 20652, *S. aureus* 29213 y *S. epidermidis* 14932, con un valor de CFI de 1 (54).

## Conclusion

La mayoría de los extractos mostraron actividad frente a *S. aureus* a excepción de Belladona. Por el contrario, para *S. epidermidis* el número de extractos con actividad fue menor, solo belladona y achiote mos-

traron inhibición. Finalmente, la mezcla de ciprofloxacina con extracto de hojas de achiote frente a *S. aureus* mostró un efecto de sinergismo parcial, mientras que la misma mezcla presentó un efecto aditivo para *S. epidermidis*. En este sentido, el uso de los extractos de plantas como achiote podrían hacer parte de terapias alternativas para el tratamiento de infecciones oculares causadas por estas bacterias. Igualmente, la aplicación de evaluaciones sinérgicas entre sustancias es una alternativa que puede ser positiva de acuerdo a la interacción entre los tratamientos utilizados.

---

## Agradecimiento:

Al personal científico del Museo de La Salle por su colaboración en la identificación en el material vegetal y al Departamento de Ciencias Básicas de Universidad de La Salle por el préstamo de los equipos empleados en este estudio. Adicionalmente, al Centro de Investigación en Salud y Visión (CISVI) y la Vicerrectoría de Investigación y Transferencia de la Universidad de La Salle por la financiación del proyecto.

## Rol de los autores:

Los autores LP y PHR aportaron en toda la parte del diseño experimental, verificación de los resultados y en general en el análisis de estos, siendo un aporte esencial en la construcción del documento final. WV se encargó de la parte experimental del estudio y de la búsqueda de información asociada a la selección del material y la necesaria

para la construcción de la discusión de los resultados.

### **Conflicto de intereses:**

Los autores no incurren en conflictos de intereses.

### **Fuentes de Financiamiento:**

Financiado por Centro de Investigación en Salud y Visión (CISVI) y la Vicerrectoría de Investigación y Transferencia de la Universidad de La Salle, bajo el macroproyecto “Diseño de un prototipo de antifaz herbal con uso potencial para la conjuntivitis bacteriana”.

## **Referencias**

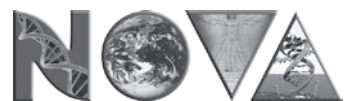
- Alfonso SA, Fawley JD, Lu XA. Conjunctivitis. *Prim Care - Clin Off Pract*. 2015;42:4543.
- Viliani F, Edelstein M, Buckley E, Llamas A, Dar O. Mining and emerging infectious diseases: Results of the Infectious Disease Risk Assessment and Management (IDRAM) initiative pilot. *Extr Ind Soc [Internet]*. 2017;4(2):251–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.exis.2016.08.009>
- Khalil RM, Abdelbary GA, Basha M, Awad GEA, el-Hashemy HA. Enhancement of lomefloxacin Hcl ocular efficacy via niosomal encapsulation: in vitro characterization and in vivo evaluation. *J Liposome Res*. 2017;27(4):312–23.
- Ndam LM, Mih AM, Tening AS, Fongod AGN, Temenu NA, Fujii Y. Phytochemical analysis, antimicrobial and antioxidant activities of *Euphorbia golondrina* L.C. Wheeler (Euphorbiaceae Juss.): an unexplored medicinal herb reported from Cameroon. *Springerplus*. 2016;5(1).
- Everitt HA, Little PS, Smith PWF. A randomised controlled trial of management strategies for acute infective conjunctivitis in general practice. *Br Med J*. 2006;333(7563):321–4.
- Visscher KL, Hutnik CML, Thomas M. Evidence-based treatment of acute infective conjunctivitis: Breaking the cycle of antibiotic prescribing. *Can Fam Physician*. 2009;55(11):1071–5.
- Swe Swe-Han K, Mlisana KP, Pillay M. Analysis of clinical and microbiological data on *Acinetobacter baumannii* strains assist the preauthorization of antibiotics at the patient level for an effective antibiotic stewardship program. *J Infect Public Health [Internet]*. 2017;10(5):608–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2017.01.014>
- Soliman OAE-A, Mohamed EAM, El-Dahan MS, Khatera NAA. Potential Use of Cyclodextrin Complexes for Enhanced Stability, Anti-inflammatory Efficacy, and Ocular Bioavailability of Lote-prednol Etabonate. *AAPS PharmSciTech [Internet]*. 2016;18(4). Available from: <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-016-0589-9>
- Khameneh B, Diab R, Ghazvini K, Fazly Bazzaz BS. Breakthroughs in bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them. *Microb Pathog [Internet]*. 2016;95:32–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2016.02.009>
- Carreras B. Análisis bacteriológicos en el tratamiento de las conjuntivitis. Comparación de la resistencia a antibióticos entre 1982 y 2008. *Arch Soc Esp Oftalmol [Internet]*. 2012;87(4):107–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.oftal.2011.11.017>
- Esposito S, Canevini MP, Principi N. Complications associated with antibiotic administration: neurological adverse events and interference with antiepileptic drugs. *Int J Antimicrob Agents [Internet]*. 2017;50(1):1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.01.027>
- Petrovska B. Historical review of medicinal plants usage. *Pharmacogn Rev [Internet]*. 2012;6(11):1. Available from: <http://www.phcogrev.com/text.asp?2012/6/11/1/95849>

13. Tresjota C. Interacción entre fármacos y plantas medicinales. *An Sis San Navarra* [Internet]. 2006;29(2):1–12. Available from: <http://www.zcommunications.org/naked-imperialism-by-john-bellamy-foster>
14. Fonnegra, G. R.; Jiménez RSL. Plantas Medicinales Aprobadas en Colombia. Universidad de Antioquía. 2007;371.
15. Social. M de la P. *Vademécum Colombiano de Plantas Medicinales*. 2008;2008.
16. Arango M. *Plantas medicinales: botánica de interés médico*. Editorial Artes Gráficas Tizán. Colombia; 2006.
17. Gupta MP. 270 plantas medicinales iberoamericanas. *P I D C y Tecnol C A Bello*. 1995;1–576.
18. García Barriga H. *Flora medicinal de Colombia: botánica medica*. 1974. p. 99.
19. Gentry A. *A Field Guide to the Families and Genera of Woody Plants of Northwest South America (Colombia, Ecuador, Peru)*. 1996;895.
20. Dias-Souza MV, dos Santos RM, Cerávolo IP, Cosenza G, Ferreira Marçal PH, Figueiredo FJB. Euterpe oleracea pulp extract: Chemical analyses, antibiofilm activity against *Staphylococcus aureus*, cytotoxicity and interference on the activity of antimicrobial drugs. *Microb Pathog* [Internet]. 2018;114(November 2017):29–35. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.006>
21. Chakraborty S, Afaq N, Singh N, Majumdar S. Antimicrobial activity of *Cannabis sativa*, *Thuja orientalis* and *Psidium guajava* leaf extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Integr Med* [Internet]. 2018;16(5):350–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2095496418300815>
22. Ali Y, Islam MA, Muzahid NH, Sikder MOF, Hosain MA, Marzan LW. Characterization, prevalence and antibiogram study of *Staphylococcus aureus* in poultry. *Asian Pac J Trop Biomed* [Internet]. 2017;7(3):253–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.12.001>
23. Shi C, Zhao X, Meng R, Liu Z, Zhang G, Guo N. Synergistic antimicrobial effects of nisin and p-Anisaldehyde on *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk. *LWT - Food Sci Technol* [Internet]. 2017;84:222–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.056>
24. García Beltrán JM, Espinosa C, Guardiola FA, Esteban MÁ. In vitro effects of *Origanum vulgare* leaf extracts on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocytes, cytotoxic, bactericidal and antioxidant activities. *Fish Shellfish Immunol* [Internet]. 2018;79(April):1–10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.05.005>
25. Efstratiou E, Hussain AI, Nigam PS, Moore JE, Ayub MA, Rao JR. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. *Complement Ther Clin Pract* [Internet]. 2012;18(3):173–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctcp.2012.02.003>
26. Roopashree TS, Dang R, Shobha Rani RH, Narendra C. Antibacterial activity of antipsoriatic herbs: *Cassia tora*, *Momordica charantia* and *Calendula officinalis*. *Int J Appl Res Nat Prod*. 2008;1(3):20–8.
27. Isah T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biol Res*. 2019;52(1):39. Published 2019 Jul 29. doi:10.1186/s40659-019-0246-3
28. Lagarto A, Bueno V, Guerra I, Valdés O, Vega Y, Torres L. Acute and subchronic oral toxicities of *Calendula officinalis* extract in Wistar rats. *Exp Toxicol Pathol*. 2011;63(4):387–91.
29. Farjana A, Md. NZ, Kabir S. Antimicrobial activity of medicinal plant leaf extracts against pathogenic bacteria. *Asian Pacific J Trop Dis*. 2014;4(14):S920–3.
30. Meziou-Chebouti N, Merabet A, Behidj N, Bissadd F, Mokadem A, Akkacha N. Antimicrobial

Activity of Phenolic Extracts of Flowers *Calendula Officinalis* Cultivated in Algeria. 14th SGEM Geo-Conference Water Resour For Mar Ocean Ecosyst [Internet]. 2014;2:319-324 pp. Available from: <http://dx.doi.org/10.5593/SGEM2014/B32/S14.043%0Ahttps://sgemworld.at/sgemlib/spip.php?article4489>

31. Vora J, Srivastava A, Modi H. Antibacterial and antioxidant strategies for acne treatment through plant extracts. *Informatics Med Unlocked* [Internet]. 2017;(October):1-5. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352914817302010>
32. Ortiz DM, Posada SL, Noguera RR. Efecto de metabolitos secundarios de las plantas sobre la emisión entérica de metano en rumiantes. *Livest Res Rural Dev*. 2014;26(11).
33. Sharma A, Flores-Vallejo R del C, Cardoso-Taketa A, Villarreal ML. Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2017;208:264-329. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.045>
34. Chariandy CM, Seaforth CE, Phelps RH, Pollard G V., Khambay BPS. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. *J Ethnopharmacol*. 1999;64(3):265-70.
35. Munir N, Iqbal AS, Altaf I, Bashir R, Sharif N, Saleem F, et al. Evaluation of antioxidant and antimicrobial potential of two endangered plant species *Atropa belladonna* and *Matricaria chamomilla*. *African J Tradit Complement & Altern Med*. 2014;11:111-7.
36. Cruz-Galvez AM, Gómez-Aldapa CA, Villagómez-Ibarra JR, Chavarría-Hernández N, Rodríguez-Baños J, Rangel-Vargas E, et al. Antibacterial effect against foodborne bacteria of plants used in traditional medicine in central Mexico: Studies in vitro and in raw beef. *Food Control* [Internet]. 2013;32(1):289-95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.12.018>
37. Oliveira DE, Pereira AC, Figueiredo HCP, Carvalho DA, Silva G, Nunes AS, et al. Antibacterial activity of plant extracts from Brazilian southeast region. *Fitoterapia*. 2007;78(2):142-5.
38. Bouasla A, Bouasla I. Ethnobotanical survey of medicinal plants in northeastern of Algeria. *Phytomedicine*, 2017, vol. 36, p. 68-81.
39. Al-Abbasy DW, Pathare N, Al-Sabahi JN, Khan SA. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani basil (*Ocimum basilicum* Linn.). *Asian Pacific J Trop Dis*. 2015;5(8):645-9.
40. Opalchenova G, Obreshkova D. Comparative studies on the activity of basil--an essential oil from *Ocimum basilicum* L.--against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. *JMicrobiolMethods*. 2003;54(1):105-10.
41. Paredes Medina A, Perez Ortiz Z, Palacios Rosales V. Determinación de la actividad antimicrobiana de los frutos del *Bixa orellana* L. en cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* y *Klebsiella pneumoniae*. *Univ Nac Auton Nicar*. 2004;1:1-61.
42. CLSI. Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twent Informational Suppl. 2010;M100-S20.
43. Van den Driessche, F., Brackman, G., Swimberghe, R., Rigole, P., & Coenye T. Screening a repurposing library for potentiators of antibiotics against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Int J Antimicrob Agents*. 2017;49:315-20.
44. Penduka D, Mthembu W, Cele KH, Mosa RA, Zobolo AM, Opoku AR. Extracts of *Ansellia africana* and *Platycarpha glomerata* exhibit antibacterial activities against some respiratory tract, skin and soft tissue infections implicated bacteria. *South Afri-*

- can J Bot [Internet]. 2018;116:116–22. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.02.403>
45. Peeters L, Argudín M, Azadikhah S, Butaye P. Antimicrobial resistance and population structure of *Staphylococcus aureus* recovered from pigs farms. *Vet Microbiol.* 2015;180(1–2):151–6.
  46. Kadry AA, Tawfik AKF, Abu El-Asrar AA, Shibl AM. Elucidation of antibiotic effectiveness against *Staphylococcus epidermidis* during intraocular lens implantation. *Int J Antimicrob Agents.* 2001;18(1):55–9.
  47. Osonwa UE, Ugochukwu JI, Ajaegbu EE, Chukwu KI, Azevedo RB, Esimone CO. Enhancement of antibacterial activity of ciprofloxacin hydrochloride by complexation with sodium cholate. *Bull Fac Pharmacy, Cairo Univ [Internet].* 2017;55(September):0–1. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110093117300443>
  48. Choi JG, Choi JY, Mun SH, Kang OH, Bharaj P, Shin DW, et al. Antimicrobial activity and synergism of Sami-Hyanglyun-Hwan with ciprofloxacin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Asian Pac J Trop Med [Internet].* 2015;8(7):538–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.06.010>
  49. Wang D, Lu C, Sun F, Cui M, Mu H, Duan J, et al. A tanshinone I derivative enhances the activities of antibiotics against *Staphylococcus aureus* in vitro and in vivo. *Res Microbiol [Internet].* 2017;168(1):46–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2016.08.002>
  50. Obaidat M, Roess A, Mahasneh A, Al-Hakimi R. Antibiotic-resistance, enterotoxin gene profiles and farm-level prevalence of *Staphylococcus aureus* in cow, sheep and goat bulk tank milk in Jordan. *Int Dairy J [Internet].* 2018;81:28–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.02.001>
  51. Posadzki P, Watson L, Ernst E. Adverse effects of herbal medicines: an overview of systematic reviews. *Clinical medicine*, 2013, vol. 13, no 1, p. 7.
  52. Naser J, Awni Abu-Hijleh K. Antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. alone and in combination with cefuroxime against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [Internet]. Vol. 3, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 2010. p. 121–3. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764510600491>
  53. Torres CA, Nuñez MB, Isla MI, Castro MP, Gonzalez AM, Zampini IC. Antibacterial synergism of extracts from climbers belonging to Bignoniaceae family and commercial antibiotics against multi-resistant bacteria. *J Herb Med [Internet].* 2017;8:24–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hermed.2017.02.002>
  54. Teethaisong Y, Pimchan T, Srisawat R, Hobbs G, Eumkeb G. *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. extract potentiates the antibacterial activity of some  $\beta$ -lactams against  $\beta$ -lactam-resistant staphylococci. *J Glob Antimicrob Resist [Internet].* 2018;12:207–13. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.10.019>



**NOVA** Publicación Científica  
en Ciencias Biomédicas

# *Caenorhabditis elegans* como modelo de infección para el estudio de antimicrobianos

*Caenorhabditis elegans* as an infection model for the study of antimicrobials

Dayana Rodríguez Morales<sup>1</sup>, Yenny Yolanda. Lozano Jiménez<sup>2</sup>, Ruth Mélida Sánchez Mora<sup>3</sup>

## Resumen

A pesar de algunas limitaciones éticas, los animales juegan un papel importante como anfitriones sustitutos para investigar los mecanismos fisiopatológicos de enfermedades con el fin de indagar en ellos medicamentos contra diferentes patologías. Uno de los grandes problemas en salud pública a nivel mundial en el contexto farmacológico es la producción de antibióticos y la ocurrencia de resistencia microbiana, además, cada vez resulta más complejo el uso de modelos animales por las restricciones bioéticas actuales, no obstante, es necesario usar modelos simples en los estudios preliminares que permitan evaluar las interacciones huésped-patógeno-antimicrobiano. Al validar que *Caenorhabditis elegans* es susceptible a varias bacterias y además tiene la capacidad de responder a estímulos ambientales con cambios observables en el comportamiento tras ser alimentado con diversas bacterias, resulta muy útil usarlo en este tipo de investigaciones ya que tiene una vida promedio corta y no cuenta con restricciones éticas para su uso. Por lo anterior, en este artículo se revisa la susceptibilidad que tiene *C. elegans* de infectarse con diferentes bacterias, además, ya que aún no se ha validado completamente como modelo para poner a prueba antimicrobianos se propone que este nematodo es útil como modelo *In vivo* para evaluar infecciones y tratamientos antibacterianos.

**Palabras claves:** *caenorhabditis elegans*, modelo, nematodo, bacterias, antimicrobiano, antibióticos, infección.

1. Grupo Biotecnología y genética UCMC. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.  
CvLAC: [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000176007](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000176007)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9511-8583>  
Google académico: <https://scholar.google.es/citations?hl=es&user=soG6YX4AAAAJ>

2. Universidad de La Salle, Departamento de Ciencias Básicas. Grupo entomología y enfermedades transmitidas por vectores  
CvLAC [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000858790](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000858790)  
ORCID : <https://orcid.org/0000-0002-5419-2971>  
Google académico: <https://scholar.google.es/citations?hl=es&user=pErlypQAAAAJ>

3. Grupo biotecnología y genética UCMC. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.  
CvLAC [https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod\\_rh=0000464252](https://scienti.minciencias.gov.co/cvlac/visualizador/generarCurriculoCv.do?cod_rh=0000464252)  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0572-8418>  
Google académico: <https://scholar.google.es/citations?hl=es&user=6yJh6uAAAAJ>

Correo electrónico de correspondencia: drodriguez@unicolmayor.edu.co - ylozanoj@gmail.com - rmsanchezm@unicolmayor.edu.co

## Abstract

Despite some ethical limitations, animals play an important role as surrogate hosts in investigating the pathophysiological mechanisms of disease in order to test drugs against different pathologies. One of the great problems in public health worldwide in the pharmacological context is the production of antibiotics and the occurrence of microbial resistance, the use of animal models is becoming increasingly complex due to current bioethical restrictions, however, it is necessary to use models simple in preliminary studies that allow evaluating host-pathogen-antimicrobial interactions. Validating that *Caenorhabditis elegans* is susceptible to various bacteria and also has the ability to respond to environmental stimuli with observable changes in behavior after being fed with various bacteria, it is very useful to use it in this type of research since it has a short average life and does not have ethical restrictions for its use. Therefore, this article reviews the susceptibility of *C. elegans* to become infected with different bacteria, in addition, since it has not yet been fully validated as a model to test antimicrobials, it is proposed that this nematode is useful as an in vivo model. to evaluate infections and antibacterial treatments.

**Keywords:** *caenorhabditis elegans*, model, nematode, bacteria, antimicrobial, antibiotics, infection.

## Introducción

Diferentes campos de investigación a través del avance de la ciencia se han centrado en contribuir a la salud y al mejoramiento de la calidad de vida por medio de la producción de fármacos o sustancias que inhiban la progresión o desarrollo de una enfermedad, la clave para esto se basa en la comprensión de los organismos modelos para el estudio, donde se destacan animales primates, porcinos, roedores entre otros (1, 2). A pesar de algunas limitaciones, los animales juegan un papel importante como anfitriones sustitutos para investigar los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad y para poner a prueba en ellos medicamentos contra dicha patología.

Es importante destacar que el uso de animales en la investigación se guía por la promoción de un marco ético como el descrito por William Russell y Rex Birch hace más de 50 años donde estipulan que los animales deben ser reemplazados cuando sea posible, o donde esto no sea posible, los estudios deben usar métodos que reduzcan el número de animales requeridos y los procedimientos deben minimizar al máximo el dolor, el sufrimiento y la angustia (1,3,4). Es por ello que se han popularizado huéspedes de reemplazo que incluyen invertebrados como la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, las larvas de la polilla de cera mayor *Galleria mellonella* o el nematodo *Caenorhabditis elegans* (1).



Dentro de las mayores problemáticas de salud pública a nivel mundial en el ámbito farmacológico se destaca la producción de antibióticos, pues actualmente las bacterias son un gran problema ya que a través del tiempo estos microorganismos han desarrollado la capacidad de infectar a una gran variedad de especies susceptibles y muchas de estas bacterias han generado “resistencia” a ciertos medicamentos libres en el mercado (1, 3). Un informe de la Organización Mundial de la Salud describe cómo las bacterias resistentes a los antibióticos están presentes en todas las regiones del mundo, y que muchos países carecen incluso de los sistemas básicos para rastrear y controlar estos microbios peligrosos (1). A todo esto, se le suma la automedicación, el uso desmedido y el fácil acceso a los antibióticos existentes como predisposición para generar resistencia y como consecuencia el daño sustancial o la muerte de diferentes seres vivos en el mundo.

Es por ello, que en los últimos años los estudios se han centrado en desarrollar antimicrobianos efectivos capaces de inhibir bacterias patógenas, de hecho esto radica como prevención y urge la necesidad de incluir al sistema farmacológico medicamentos que den cobertura a aquellas cepas que actualmente ningún antibiótico existente logra controlar. Sin embargo, los antibióticos en desarrollo han tenido limitaciones para su validación, pues en su gran mayoría inicialmente se verifican en modelos *In vitro*, a partir de medios

convencionales de crecimiento bacteriano o en líneas celulares, luego de aprobar este proceso, se usan animales complejos y finalmente la ratificación en humanos lo que prolonga el tiempo del estudio (5).

No obstante, cada vez resulta más difícil usar modelos animales por todas las limitaciones bioéticas existentes y aunque en la primera fase experimental a nivel *In vitro* es efectiva, después la mayoría de medicamentos fracasan porque no se tiene en cuenta que el huésped infectado está conformado por un sistema completo de células, proteínas y al mismo tiempo respuestas fisicoquímicas que vuelven contraproducente el tratamiento, lo que hace necesario usar un modelo desde los inicios de la propuesta para ahorrar tiempo (1, 6). Para ello es necesario usar modelos simples en los estudios preliminares que permitan evaluar las interacciones huésped-patógeno-antimicrobiano.

Las características esenciales de un modelo infeccioso radican en la capacidad que tiene el animal de tener una homología significativa con el ser humano, así como montar respuestas inmunes completas y ser sensible a una gran variedad de infecciones con el fin de permitir entender diferentes condiciones que contribuyan a comprender dicha relación y agilizar los procesos investigativos de los fármacos propuestos. Por otro lado es importante determinar hospederos, que sean de fácil manejo y sin tantas restricciones éticas, de esta forma el modelo permitirá ofre-

cer soluciones a las problemáticas actuales que perjudican la calidad de vida de los seres vivos (1, 2, 4, 5).

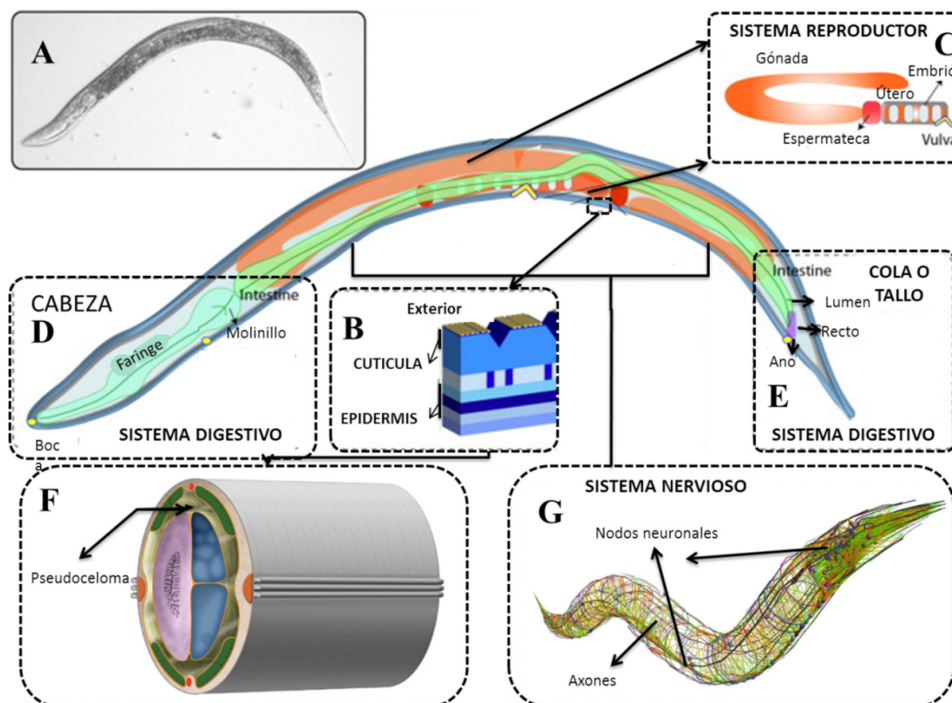
Hasta el momento, *Caenorhabditis elegans* ha demostrado ser susceptible a varias bacterias, con la capacidad de responder a estímulos ambientales con cambios observables en el comportamiento tras las infecciones. Por otro lado su estado de salud es estable al consumir su alimento normal de laboratorio (*Escherichia coli* OP50), es por ello que resulta muy útil usarlo en este tipo de investigaciones, adicionalmente *C. elegans* tiene una vida promedio corta y no cuenta con restricciones éticas para su uso (7). Por lo anterior, en este artículo se revisa la susceptibilidad que tiene *C. elegans* de infectarse con diferentes bacterias y al no estar validado completamente como modelo para poner a prueba antimicrobianos, se propone que este nematodo puede ser útil como modelo *In vivo* de infecciones y tratamientos bacterianos.

### **Generalidades del modelo *Caenorhabditis elegans***

*Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) fue inicialmente descrito y nombrado *Rhabditis elegans*, señalado por su valor potencial en la investigación genética (8), posteriormente fue colocado en el género *Caenorhabditis* (9). Su nombre es una mezcla de griego y latín (*Caeno*; reciente, *rabditis*; vara, *elegans*; bonito) (10, 11). Este nematodo está estrictamente relacionado con eucariotas y dado a los diferentes hallazgos hasta el momento existe una estrecha relación evolutiva con algunos mamíferos, haciendo correlación directa del 36% con el ser humano (12). *C. elegans* es de vía libre, tiene un tamaño inicial de 0.25 milímetros de largo y al llegar a la adultez mide 1.5 milímetro aproximadamente, se encuentra distribuido en todo el mundo, su principal alimento son las bacterias, su temperatura ideal oscila entre los 12-25°C durante todo su desarrollo y no son considerados patógenos para mamíferos, puesto que temperaturas superiores a los 30° inhabilitan su desarrollo (11, 12).

Este modelo tiene tejidos muy bien definidos y como todos los nematodos tienen una simetría corporal básica compuesto por dos tubos concéntricos separados por el “pseudoceloma” que aloja los sistemas de órganos principales y da la forma al animal, también, consta de una epidermis que protege los sistemas y a su vez cumple funciones neuromusculares junto con una cutícula colágena, además, la cavidad pseudocelómica, albergan los celomocitos, que actúan como carroñeros en la cavidad corporal. (11, 12). En este nematodo se han descrito tres sistemas muy bien definidos; el sistema reproductor, el nervioso y el digestivo, es por ello que algunas enfermedades e infecciones que involucran estos sistemas se pueden esclarecer en este modelo de laboratorio, Figura 1.

**Figura 1.** Anatomía de *C. elegans* adulto. (A): se observa una fotografía real del nematodo. (B): Conformación externa del nematodo. (C): Sistema reproductor. (D y E): Sistema Digestivo. (F): Líquido Pseudoceloma. (G): Sistema Nervioso.



**Fuente:** Tomado y Modificado de: Gonzalez-Moragas G. y colaboradores (13), Wormatlas (14), Prevedel R. y colaboradores (15).

El ciclo de vida de este invertebrado dura aproximadamente 3 a 4 días desde la embriogénesis hasta el adulto que pone huevos y su tamaño va aumentando proporcionalmente durante cada etapa larval L1, L2, L3 y L4 (11). Después del período reproductivo, los nematodos pueden vivir varias semanas más, antes de morir de senescencia (12). *C. elegans* tiene dos sexos naturales; XO machos y XX hembras hermafroditas. Los hermafroditas son simplemente hembras autofértiles y su puesta de huevos está entre los 300-350 por un solo animal, sin embargo, cuando ambos sexos están presentes, la hembra es muy receptiva y se aparea con el macho, en este caso la progenie es mucho más alta y logra producir más de 1000 descendientes cuando se aparea (16, 17).

### **Susceptibilidad bacteriana en el modelo *Caenorhabditis elegans***

Uno de los primeros agentes infecciosos utilizados en el modelo de *C. elegans* es la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas fluorescens* quien tiene la capacidad de causar muerte en los nematodos en la cepa silvestre N2 (18, 19). La muerte de los nematodos está mediada por las toxinas de esta bacteria segregadas durante la infección (20). Un estudio revela que el cianuro de hidrógeno es un factor tóxico producido por *P. aeruginosa* y es responsable de la muerte del nematodo (21). Por otro lado algunas cepas de *Pseudomonas spp* pueden causar un efecto letal que se asocia con una parálisis neuromuscular (22).

Así mismo la enterobacteria *Salmonella typhimurium*, es capaz de infectar y matar a *C. elegans* (23). Las bacterias se acumulan en la luz intestinal y los nematodos mueren en el transcurso de varios días (24). En consecuencia *Salmonella enteritidis* causa una infección persistente en el intestino de *C. elegans* y desencadena la muerte celular programada (PCD) (25). Es importante mencionar que gracias al modelo *C. elegans* - *Salmonella* es posible identificar factores de virulencia nuevos y previamente conocidos (26). Más aun, diferentes especies de *Burkholderia spp* matan a este nematodo utilizando una parálisis mediada por endotoxinas (27). Uno de los estudios sobre *Burkholderia pseudomallei* y *C. elegans* mostró que la fuerza de la virulencia de diferentes aislados clínicos es similar tanto en nematodos como en vertebrados superiores, lo que sugiere la presencia de un mecanismo evolutivamente conservado (28).

Garsin D. y colaboradores demostraron que las bacterias Gram positivas como *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus pneumoniae* matan a *Caenorhabditis* (29), además, *Streptococcus pyogenes* asesina al nematodo, tanto en medios líquidos como en sólidos, esta muerte está mediada por peróxido de hidrógeno y para que el nematodo muera se requieren bacterias vivas, pues en algunos casos él se ve afectado por microorganismos incluso cuando están muertos, sin embargo, en algunas ocasiones la producción de catalasa puede inhibir la muerte. A diferencia de las infecciones con *S. typhimurium* o *P. aeruginosa* no se observa acumulación bacte-

riana de *S. pyogenes* en el interior *C. elegans*, lo que excluye la participación de procesos similares de infección por cada bacteria (30). Por el contrario *Staphylococcus aureus* extermina al nematodo en el transcurso de varios días en un proceso que se correlaciona con la acumulación de bacterias dentro de su tracto digestivo (31).

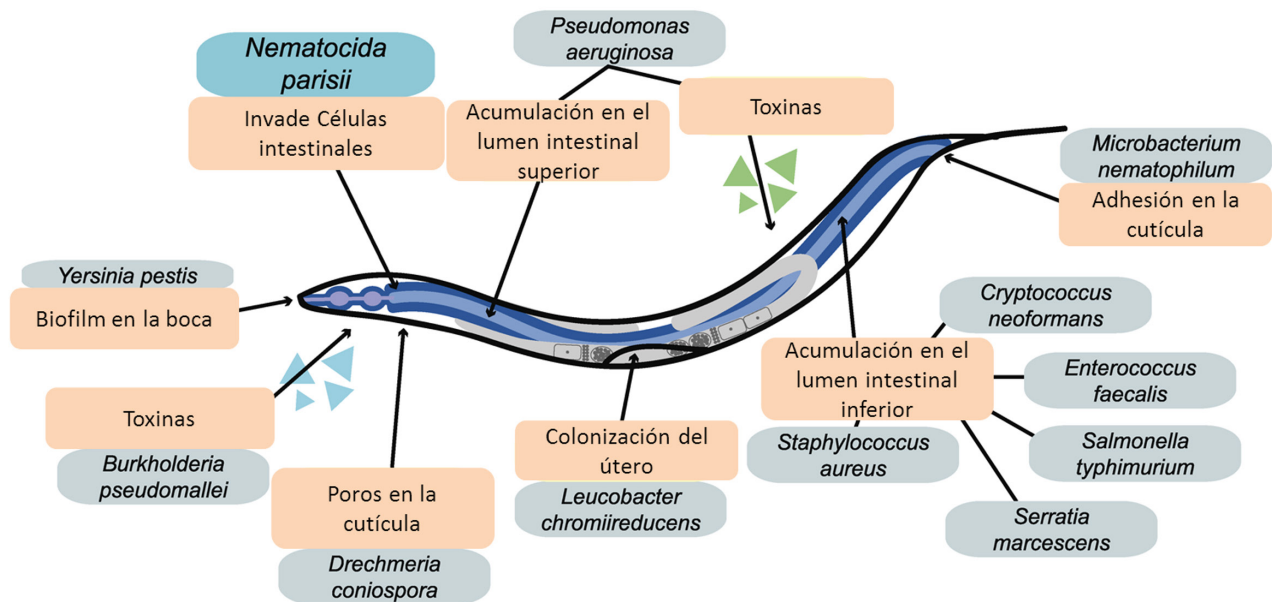
Otro de los hallazgos importantes es que algunos agentes pueden inducir cambios morfológicos en el nematodo como *Microbacterium nematophilum*, pues estas bacterias se adhieren a la cutícula rectal y posanal de los nematodos susceptibles, e inducen una hinchazón local sustancial del tejido hipodérmico subyacente. La hinchazón conduce al estreñimiento y al crecimiento lento del animal infectado, pero la infección no es letal (32). En este orden de ideas *Serratia marcescens*, también es capaz de infectar al nematodo e inducir una respuesta inmune dentro del organismo del nematodo (33). *Yersinia pestis*, la bacteria causante de la peste bubónica fue utilizada en este invertebrado para determinar la formación de Biofilm dentro del nematodo, los resultados arrojan que este microorganismo obstruye las vías de alimentación causando su muerte, de hecho, algunas cepas de *C. elegans* mutantes son resistentes a la formación de biopelículas, por lo tanto, ofrece un sistema experimental potencialmente útil para investigar interacciones mediadas por Biofilm entre bacterias e invertebrados (34, 35).

Otras investigaciones sugieren que cuando *C. elegans* es alimentado con; *Streptoverti-*

*cillium albireticuli*, *Bacillus megaterium*, *Shewanella frigidimarina*, *Shewanella massilia*, *Aeromonas hydrophila*, *Photobacterium luminescens*, *Xenorhabdus nematophila*, dichos microorganismos generan una reacción ne-

matocida (19, 36). Uno de los estudios que resumen algunas bacterias que afectan al nematodo por la acumulación bacteriana en cavidades corporales se expresa en la Figura 2, a través de un diagrama anatómico (37).

**Figura 2.** Microorganismos nematocidas en *C. elegans*.

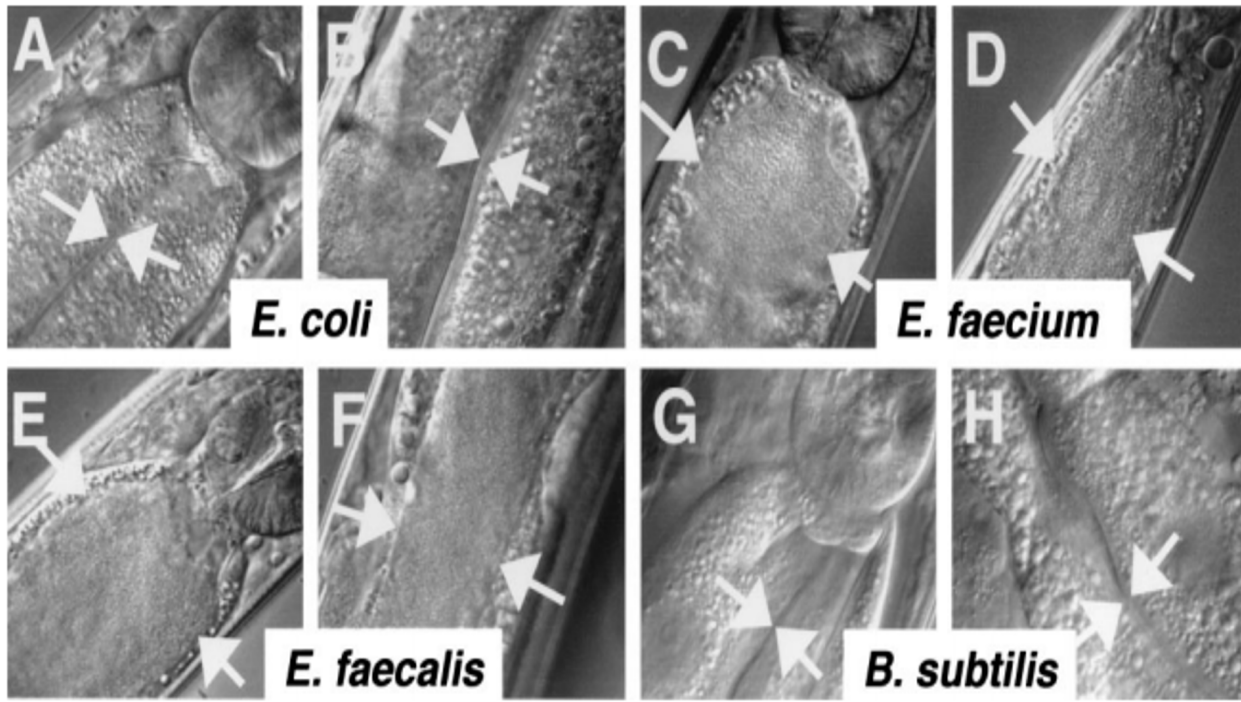


**Fuente:** Tomado y Modificado de: Hodgkin J. y colaboradores (37).

Es importante mencionar que cuando los nematodos se alimentan con su dieta estándar de laboratorio (la cepa OP50 de *Escherichia coli*), las bacterias no se encuentran dentro de la luz intestinal hasta 48 horas después de la última etapa larval (L4), y no provocan daño tisular extenso hasta el día de su muerte, alguna inhibición en su ciclo de vida o morfología común; por el contrario funciona como una fuente de alimento prolongando a diferencia de las bacterias mencionadas anteriormente que causan la muerte o algún perjuicio en el nematodo (33). No obstante, aún no se conoce un perfil completo de la reacción de *C. elegans*

ante todos los microorganismos o agentes infecciosos, sin embargo, se sabe que *Bacillus subtilis*, *Erwinia chrysanthemi*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Brucella sp* cepa 96-566 y *Mycobacterium fortuitum* ATCC 6841 no causan enfermedades evidentes y por consiguiente no asesinan al nematodo (19, 29). Por lo anterior se puede afirmar que estos agentes y muchos otros más sin estudiar pueden ser útiles para alimentar el nematodo. En la Figura 3, se puede observar la acumulación e infección bacteriana con respecto a aquellas bacterias que no afectan el nematodo.

**Figura 3.** *C. elegans* alimentado con *E. coli* y *B. subtilis* no se ve afectado ni hay acumulación bacteriana en comparación del consumo con *E. faecalis* y *E. faecium*.



Fuente: Tomado de: Garsin DA. y colaboradores (29).

En cuanto a los agentes micóticos se sabe que *C. elegans* puede usar varias levaduras, incluidas *Cryptococcus laurentii* y *Cryptococcus kuetsingii*, como única fuente de alimento, produciendo tamaños de cría similares tras el consumo *E. coli* OP50. Sin embargo, la levadura patógena humana *Cryptococcus neoformans* mata al nematodo (38). De modo similar *Candida albicans* y *Candida auris* son ingeridas por *C. elegans* y establecen una infección letal persistente en la vía intestinal del nematodo (39). Es importante destacar que los componentes clave de la patogénesis de *Candida sp* en mamíferos también están involucrados en la muerte de *C. elegans* (40). En los medios líquidos, las células de levadura experimentan un cambio morfológico para formar hifas, lo que

resulta en una destrucción agresiva del tejido y la muerte del nematodo (41).

### **Mecanismos de defensa y patogenia de *C. elegans* ante infecciones mediadas por microorganismos**

El contacto constante de *C. elegans* con microbios transmitidos por el suelo sugiere que este nematodo debe haber desarrollado respuestas protectoras contra los patógenos. Inicialmente no se tenía claro cómo funcionaba la inmunidad de este animal, es por ello que Mallo G. y colaboradores buscan comprender el sistema inmune de este invertebrado y realizan una infección con

*Serratia marcescens*, obteniendo como resultado la expresión de gran cantidad de genes tras el contagio (33). Actualmente se sabe que *C. elegans* puede protegerse de los pa-

tógenos a través del uso de barreras físicas, proteínas efectoras y vías de señalización, la Tabla 1, resume estos mecanismos.

**Tabla 1.** Mecanismos de defensa de *C. elegans*. PNL: neuropéptidos, CNC: caenacinas, MAPK: proteína quinasas activadas por mitógenos, TGF- $\beta$ : Factor de Crecimiento Transformante  $\beta$ , Daf-2: Gen que codifica un receptor insulínico en *C. elegans*. IGF-I: factor de crecimiento insulínico tipo I, TLR: Toll Like Receptor, ABF: Proteínas factor antibacteriano.

MECANISMOS DE DEFENSA <i>Caenorhabditis elegans</i>		
BARRERAS FÍSICAS	Cutícula	Primera línea de defensa, hinchazón y síntesis de PNL y CNC
	Boca	Molinillo o cavidad pseudoceiómica
	Ano	Segunda línea de defensa, vitan la entrada de sustancia y solo actúan como células excretoras y evitan la acumulación de sustancias.
	Vulva	
VÍAS DE SEÑALIZACIÓN	p38 (MAPK)	Relacionado con la muerte celular programada gonadal.
	TGF-P	Induce las larvas Dauer
	DAF-2 insulina / IGF-I	Vida del nematodo y el envejecimiento
	TLR	Están presente pero no parecen desempeñar un papel esencial en la inmunidad de <i>C. elegans</i> , aparentemente se activan ante el peligro
MOLÉCULAS EFECTORAS	Caenopores	Proteínas formadoras de poros que pueden matar bacterias
	Lisozimas	Intervienen en la regulación génica, vías de transducción de señales múltiples y el reconocimiento PAMPs
	ABF-1, ABF-2 y ABF3	Actúan como las defensinas de vertebrados

Fuente: Elaboración propia.

Las defensas físicas están mediadas inicialmente con la cutícula quien es la primera defensa del nematodo contra cualquier agente infeccioso que encuentre (42). La epidermis de *C. elegans* está en contacto con numerosos patógenos, existen innumerables microbios bacterianos y fúngicos que atacan a los nematodos después de una unión inicial a la cutícula, causando por ejemplo hinchazón o en otros casos la expresión de genes antimicrobianos que codifican neuropéptidos, (PNL) y una familia de péptidos estrechamente relacionados llamados caenacinas (CNC), (43). Cuando el ingreso patogéni-

co va más allá de la cutícula se pueden ver involucrados la boca, el ano, la vulva o las aberturas sensoriales. Los microbios que ingresan por la boca se encuentran inmediatamente con el molinillo, formado por tres pares de células musculares que se contraen simultáneamente, con el fin de romper los agentes infecciosos a medida que pasan de regreso al intestino. Las cepas mutantes que carecen de molinillo son más susceptibles a ciertas bacterias (42).

Se sabe que los nematodos no acumulan normalmente bacterias en el intestino, sino

que expulsan las mismas a través del ano, es por ello que al observar acumulación de gérmenes dentro de *C. elegans* es un signo claro de infección. Sin embargo una pequeña fracción de agentes infecciosos puede pasar intactos a través de la cutícula y entrar al intestino (42). Una vez en el intestino, algunas bacterias patógenas son capaces de proliferar como se mencionó anteriormente y matar a *C. elegans* mediante un proceso infeccioso o con el uso de toxinas. Por otro lado, este modelo produce una amplia variedad de proteínas y péptidos antimicrobianos potenciales, muchos de estos no tienen equivalentes estructurales en otras especies, y su espectro real de actividades aún no se ha probado (43).

Las primeras proteínas descritas fueron las de tipo saposina (SPP; también conocidas como caenopores, una familia numerosa, con 28 genes diferentes que codifican al menos 33 proteínas distintas), (44). Los caenopores comparten características estructurales y funcionales con los amebopores y con las proteínas citotóxicas de los vertebrados como la granulicina y NK-lisina, en común estas proteínas son formadoras de poros que pueden matar bacterias, se expresan predominantemente en el intestino de *C. elegans* y su activación es modulada por bacterias patógenas específicas (43, 44).

Una segunda clase de proteínas antimicrobianas bien caracterizadas son las lisozimas, de las cuales hay 15 en *C. elegans*, se cree que se secretan en la luz intestinal, donde actúan directamente sobre los microbios, de

hecho, ciertas lisozimas han demostrado ser importantes para la resistencia del nematodo a patógenos bacterianos Gram-positivos y Gram-negativos; estas, muestran patrones complejos de regulación génica y parecen ser objetivos de vías de transducción de señales múltiples y el reconocimiento de patógenos (43).

Tras diversas investigaciones se han descrito seis péptidos del factor antibacteriano homólogo (ABF) en *C. elegans*. Estos péptidos son algo similares a las defensinas de vertebrados. Basado en su secuencia, se cree que las proteínas ABF mata microbios por disrupción de membrana, las cuales se expresan conjuntamente (ABF-1, ABF-2 y ABF-3); ABF-2 principalmente en los tejidos faríngeos, mientras que ABF-3 se detectan en el intestino y ABF1 en ambas zonas (33). Cabe resaltar que el ABF-2 recombinante tiene una actividad antimicrobiana de amplio espectro demostrada *In Vitro*, con el mayor efecto observado en bacterias Gram-positivas (45).

En cuanto a las vías de señalización algunos estudios demuestran que los genes inducidos en infecciones por patógenos de mamíferos son homologas y se expresan durante la infección en el nematodo, (38). Por ejemplo, en el ser humano una de las vías más relevantes son la ruta p38 MAP quinasa y la vía de la muerte celular programada, tras diversos estudios se identificaron dos genes homólogos en el nematodo de la ruta de la proteína quinasa activada por mitógeno p38 (MAPK): NSY-1 y SEK-1 quienes



codifican una MAPK quinasa quinasa y una MAPK quinasa respectivamente (31, 42, 46). Asimismo, la disminución de PMK-1 un “p38 MAPK” en nematodos mutados, conduce a mayor susceptibilidad de infección lo anterior permite concluir que esos genes traducen una señal de defensa en el animal (42).

Tras lo anterior algunos investigadores afirman que esta vía de señalización parece ser conservada a través de la filogenia, se sabe que la ruta de señalización MAPK de p38 de mamífero media las respuestas al estrés y se activa por choque térmico, luz ultravioleta (UV), las citoquinas proinflamatorias como la IL-1 o TNF- $\alpha$ , o Lipopolisacáridos bacterianos, (46). La consecuencia de la activación de p38 en células de mamíferos es la muerte celular programada (PCD) (38), En *C. elegans*, existen homólogos que inducen la PCD activada por estrés y ocurre en las células gonadales del nematodo, en respuesta a la irradiación  $\gamma$  o a la alimentación de *Salmonella*. Probablemente dicha muerte celular puede inducirse en otros agentes infecciosos patógenos para el invertebrado. Más aún cuando el animal consume *E. coli* OP50, que es su alimento habitual en el laboratorio se produce un bajo nivel de muerte celular programada gonadal (25).

En un estudio dirigido a examinar varios mutantes definidos de *C. elegans* que poseen pérdida de la función en los genes *esp-2 / sek-1* y *esp-8 / nsy-1*, relacionados con p38 MAPK quinasa parecen estar directamente involucrados en defensa de nematodos con-

tra múltiples patógenos, pues tras la pérdida de dichos genes se encuentra que hay mayor susceptibilidad de muerte en todas las etapas de desarrollo a comparación de la cepa N2, lo que indica que el animal posee una vía de señalización conservada de la “p38 MAP quinasa” importante en la inmunidad del nematodo (31).

Otra vía de señalización asociada a infecciones en *C. elegans* es la relacionada con el factor de crecimiento transformante de tipo TGF- $\beta$  quien induce la formación de larvas Dauer en estos estadios la larva no se alimenta y presenta una cutícula más gruesa como defensa a factores ambientales externos (46). Una de las últimas vías analizadas es la DAF-2 insulina / IGF-I que se asocia directamente con la vida del nematodo y el envejecimiento (47). Por otro lado, la vía tipo Toll aunque está presente de manera ortóloga no parece desempeñar un papel esencial en la mediación de la inmunidad innata de *C. elegans*. Esto se concluye porque los nematodos con una mutación en *tol-1*, *pik-1*, *ikb-1* o *trf-1* no difieren significativamente de los animales de tipo salvaje en respuesta a diversos patógenos. Sin embargo se relaciona a comportamiento, pues la vía Toll suele asociarse como mecanismo de defensa para mantener a *C. elegans* alejado de sustancias potencialmente dañinas (42).

### **Uso de *C. elegans* como modelo para validar y demostrar la infección por bacterias**

Los organismos invertebrados son cada vez más reconocidos para el estudio de la patogénesis que causan diferentes microorganismos durante una infección. El nematodo *C. elegans* es susceptible a una variedad amplia de infecciones por bacterias, hongos y virus, lo que lo convierte en un modelo útil para el estudio de patógenos y simbiosis (19). Esta relación creciente entre *C. elegans* y microorganismos hace que el nematodo sea considerado un modelo de estudio atractivo a nivel de la interacción huésped-patógeno (42), además, la secuenciación completa del genoma de *C. elegans* indica que al menos el 36% de las 19,000 proteínas predichas tienen homólogos en humanos (22), por lo tanto, a pesar de la enorme distancia evolutiva entre humanos y nematodos, *C. elegans* es un modelo interesante para estudios de numerosos procesos de enfermedades infecciosas.

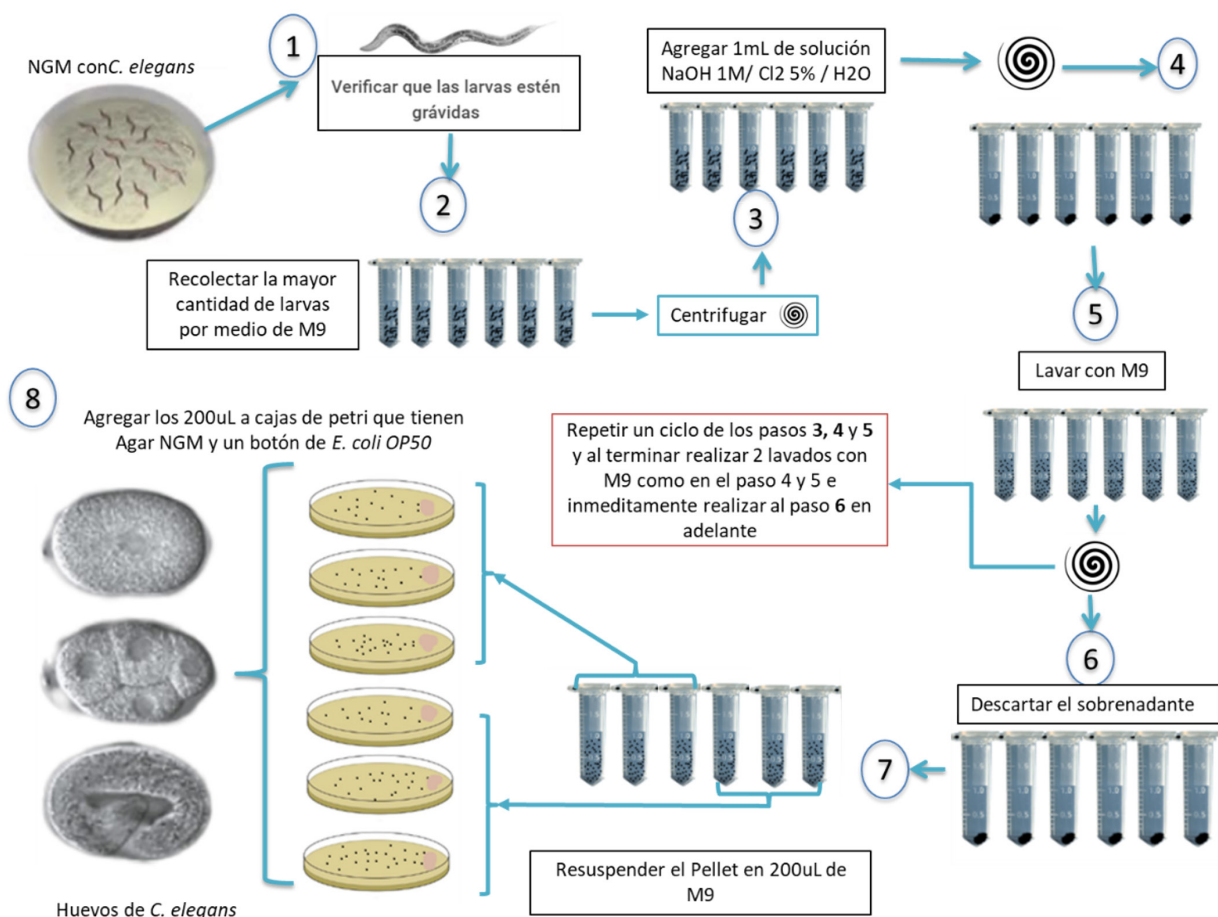
### **Sincronización de *C. elegans* como método inicial antes de cualquier ensayo**

Una de las principales ventajas del modelo de *C. elegans* es su fácil manipulación en el laboratorio. Inicialmente, se pueden obtener nematodos en un mismo estadio del ciclo de vida de una manera rápida y sencilla, lo que permite obtener una población homogénea durante el estudio. Antes de rea-

lizar cualquier ensayo es necesario efectuar una sincronización de los nematodos, esto permite que los animales a estudiar se encuentren en su totalidad en el mismo estadio larvario, bajo las mismas condiciones de nutrición y ambiente. Además, con la sincronización, se obtienen una gran cantidad de huevos que permiten realizar estudios a nivel embriológico en el modelo. Por otro lado, estos huevos se pueden diferenciar y se obtienen poblaciones en un mismo estadio larvario, estas larvas se pueden exponer a una sustancia o una condición definida, para identificar cambios concluyentes en las características fisiológicas del nematodo (48, 49).

La sincronización es clave para los estudios en el modelo infeccioso de *C. elegans*, pues permiten evaluar todo tipo de respuestas inmunes, ciclos de vida (antes, durante y después de la infección), observar cambios específicos a través del crecimiento y desarrollo pre y post contagio bacteriano, así como analizar la variabilidad morfológica o incluso la muerte. Todas estas características son esenciales para poner a prueba un tratamiento que promueva la mejoría del animal luego del contacto con el microorganismo problema. En la Figura 4, se evidencia el paso a paso de la sincronización según lo estandarizado por el grupo de investigación de Biotecnología y Genética UCMC de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca luego de analizar el protocolo del Wormbook y diferentes protocolos propuestos por otros investigadores (8, 45).

Figura 4. Método de sincronización de *C. elegans* para obtener larvas en un mismo estadio



Fuente: Elaboración propia.

## Ensayos fisiológicos en el modelo de infección de *C. elegans*

Los ensayos convencionales son muy útiles para determinar si los nematodos están infectados y si esta infección produjo algún cambio a nivel fenotípico o fisiológico, estos ensayos comienzan desde observar cambios por microscopia, hasta determinar las características de comportamiento que presenta el modelo como variaciones en longevidad, longitud, movilidad y reproducción. Los protocolos de estos ensayos son tomados del Wormbook, sin embargo, se deben

realizar las estandarizaciones dependiendo de la cepa a trabajar así como las variaciones según el enfoque de la investigación (49).

## Longevidad

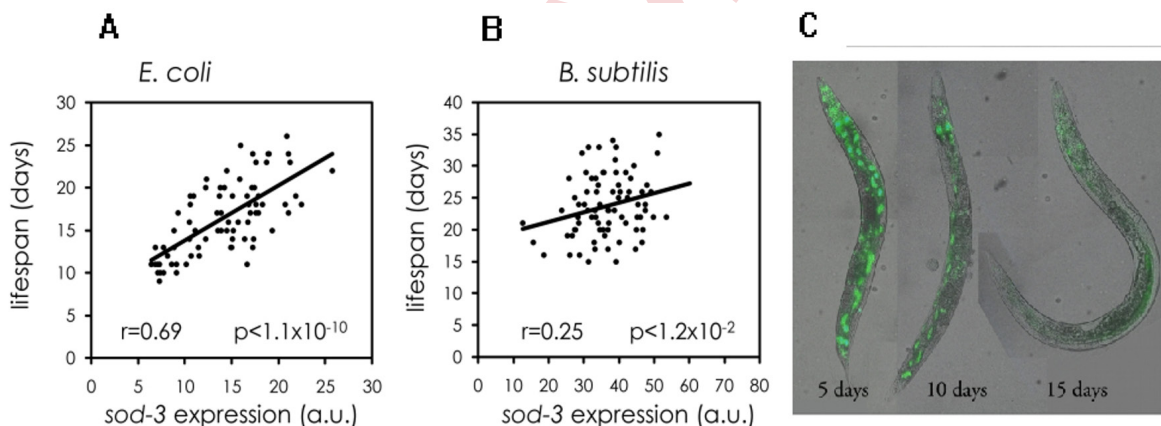
*C. elegans* es un modelo popular para estudiar el envejecimiento o longevidad debido a su corta vida útil y capacidad de rastreo genético, la medición de longevidad es un método directo que determina las consecuencias del envejecimiento y la muerte. Este procedimiento se fundamenta en contar nematodos vivos y muertos en poblaciones sincronizadas a intervalos de tiempo

regulares que se exponen a una condición como por ejemplo un agente patógeno, para luego generar curvas estadísticas de la vida útil e ilustrar los porcentajes de animales vivos en las poblaciones a lo largo del tiempo (50).

En un estudio realizado por Blanco A. y Kim S. luego de la sincronización de *C. elegans*, permitió evaluar la esperanza de vida tras la exposición del nematodo con *E. coli* y *B. subtilis*, Figura 5A y 5B. La evaluación se realizó durante el desarrollo del nematodo utilizando una cepa transgénica que

contiene un marcador de envejecimiento (*sod-3* unido con la proteína verde fluorescente (GFP)) cuya expresión disminuye con la edad. Este transgénico puede usarse para medir la edad fisiológica del nematodo, Figura 5C. Estos investigadores encontraron que los nematodos alimentados con *B. subtilis* viven más que los nematodos cultivados en *E. coli* y como se indicó anteriormente *B. subtilis* no afecta la vida del nematodo en comparación a otras bacterias que probablemente al usar esta cepa de *C. elegans* pueden disminuir significativamente su esperanza de vida (51).

**Figura 5.** Esperanza de vida de *C. elegans* *sod-3* marcado con GFP, (A): *C. elegans* alimentado con *E. coli*, (B) *C. elegans* marcado con *B. subtilis* (C) *C. elegans* *sod-3* marcado con GFP.



**Fuente:** Tomado y modificado de: Sanchez-Blanco A y colaboradores (51).

### Movilidad y Longitud

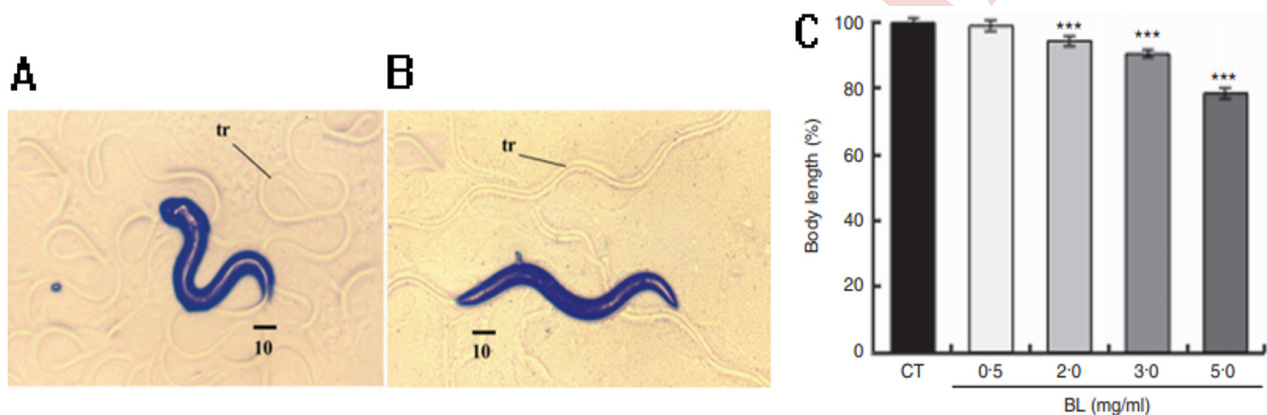
Para la *movilidad* se determinan las ondulaciones realizadas por el nematodo en estadio L4 durante 30 segundos y de la misma forma para el ensayo de *longitud* se miden los nematodos, usualmente tratados con levamisol con el fin de provocar la inmovilización de los nematodos y ser medidos en microscopio de retícula (52, 53).

En un estudio realizado por Joshua P. y colaboradores; Figura 6A y 6B, se puede observar como el nematodo tiene ondulaciones aberrantes cuando consume *Yersinia pseudotuberculosis* en comparación de un movimiento sinusoidal normal de los nematodos cuando se exponen a *E. coli* OP50, lo cual indica que algunas bacterias pueden afectar significativamente su movilidad y si este modelo se usa con el fin de tratar con

antibióticos a *Y. pseudotuberculosis* se esperaría que el animal recobrara su movimiento o mejorara el mismo a través del tiempo dependiendo de la dosis del fármaco (35). Por otro lado en un estudio realizado por Sugawara T. y colaboradores; Figura 6C., se observa como *Bifidobacterium longum* afec-

ta la longitud del nematodo en comparación con aquellos *C. elegans* que consumieron *E.coli* OP50, lo que indica también que hay probabilidad de que otros microorganismos repercutan en el crecimiento normal del nematodo. (54).

**Figura 6.** (A) *C. elegans* alimentado con *Y. pseudotuberculosis* genera un movimiento aberrante (curvas cerradas) (B) *C. elegans* cultivado en *E. coli* OP50 genera un movimiento sinusoidal normal. (C). Efectos de diferentes concentraciones de *Bifidobacterium longum* (BL) en el crecimiento de *C.elegans*, *E.coli* OP50 es el control (CT).



**Fuente:** Tomado y modificado de: Joshua GWP. y colaboradores (35) y Sugawara T. y colaboradores (54).

## Reproducción

Para los ensayos de reproducción, una vez los nematodos son sincronizados y alcanzan el estadio larvario L4, se debe realizar una transferencia a medios NGM que contiene las bacterias en estudio, después del tratamiento, se deposita un nematodo por caja y diariamente cada nematodo es analizado durante su periodo reproductivo (4 días), las placas con los huevos puestos por los nematodos se observan un par de días después de la eclosión de los huevos, en donde se deben contar los nematodos en estado larvario L2 y L3; a la vez que se verifica la fertilidad de los huevos por medio del número

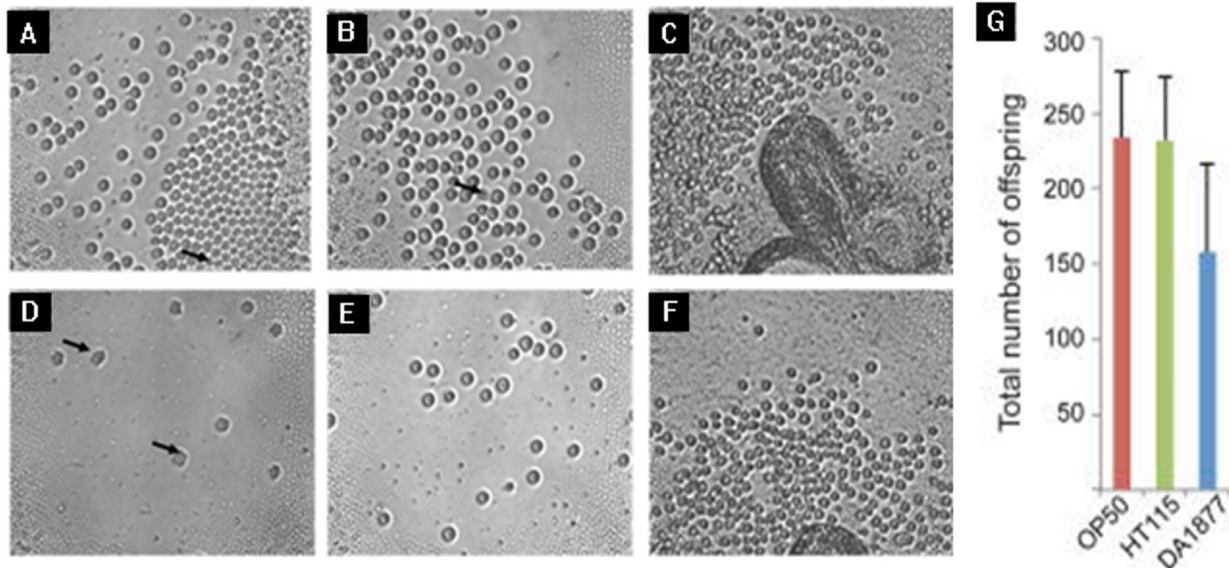
de larvas eclosionadas. Es importante estandarizar el ensayo de reproducción como lo reportan Bustos AVG. y colaboradores en el 2017, quienes describen los ensayos de reproducción en una cepa mutante NB327 de *C. elegans* modelo para el estudio de cáncer de pulmón y próstata (52).

En el estudio realizado por MacNeil L y colaboradores. estudiaron el tamaño de la cría de *C. elegans* expuestos a tres bacterias diferentes, *E. coli* OP50, *E. coli* HT115 y *Comomonas* DA1877, encontraron que la descendencia disminuye o reduce la fecundidad significativamente entre *E.coli* y *Comomonas* como se observa en la Figura 7G,

por otro lado Sharika L. y colaboradores; Figura 7A-F descubrieron que los exposiciones a *Staphylococcus aureus* y *Vibrio alginolyticus* tienen una diferencia en la morfología, el

tamaño y la activación de los espermatozoides provenientes de machos *C. elegans* en comparación con la dieta convencional con *E. coli* OP50 (55, 56).

**Figura 7.** Tamaño de cría de *C. elegans* cepa N2 en tres dietas diferentes *E. coli* OP50, *E. coli* HT115 y *Comomonas* DA1877. Las barras representan el número total promedio de prole por animal.



**Fuente:** Tomado y modificado de: MacNeil LT y colaboradores.(55) y Sharika L. y colaboradores (56).

### Evaluación de la infección en el Modelo de *C. elegans*

La utilidad de *C. elegans* como organismo modelo de infección es el resultado de su trazabilidad genética, tiempo de generación rápido, facilidad de propagación, un mapa de linaje celular bien definido y un genoma completamente secuenciado que contiene una gran cantidad de genes ortólogos de vertebrados (42). En comparación con otros animales este nematodo en particular tiene varias ventajas sobre otros modelos de mamíferos; no plantea tantas preocupaciones éticas como el uso de modelos vertebrados

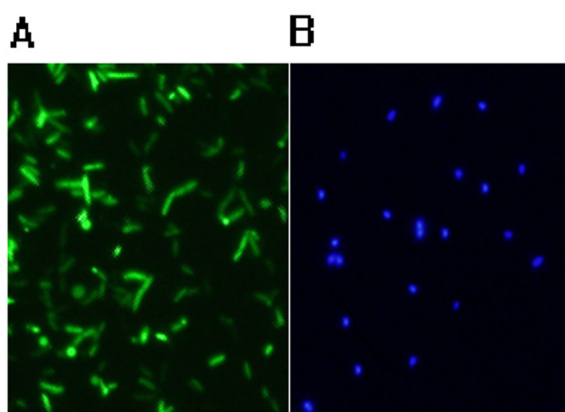
y los nematodos son fáciles de manipular en el laboratorio porque son lo suficientemente pequeños como para analizarlos en placas de microtitulación estándar (57).

Además la transparencia del cuerpo de *C. elegans* permite examinar el desarrollo y los cambios a nivel de una sola característica por medio de proteínas o sustancias fluorescentes en células vivas, de hecho la gran ventaja de este modelo como propuesta de infección radica en la capacidad que tienen las bacterias de ser teñidas fácilmente con sustancias fluorescentes o marcarse con GFP lo que facilita su observación al interior del nematodo. En la Figura 8, se obser-

va a *Pseudomonas putida* marcada con GFP y a *E. faecalis* teñida con DAPI. Una de las propuestas del grupo de Biotecnología y Genética UCM de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca radica en la posi-

bilidad de usar tinciones más sencillas para observar bacterias al interior del nematodo diferente al uso de plásmidos y la proteína verde fluorescente.

**Figura 8.** Bacterias fluorescentes. (A) *Pseudomonas putida* marcada con GFP. Tomado de: Duncan D. y colaboradores (58) y *E. faecalis* teñida con DAPI.



**Fuente:** Elaboración propia.

En un estudio elaborado por Aballay A, y colaboradores Figura 9 A-F, se puede observar la acumulación bacteriana y la presencia de las mismas por medio de la fluorescencia pues las bacterias *E. coli* OP50, *S. typhimurium* y *P. aeruginosa* fueron marcadas con plásmidos de expresión que llevan GFP, lo que permitió observarlas claramente en el intestino del nematodo por microscopio invertido y microscopia de fluorescencia, gracias a la transparencia del cuerpo de este modelo (24).

La fluorescencia de las bacterias marcadas con GFP también puede correlacionarse directamente con la inflamación del nematodo luego de la infección, factor que es muy frecuente dependiendo del tipo de bacteria y de su colonización dentro del cuerpo del nematodo. Por ejemplo, en un estudio rea-

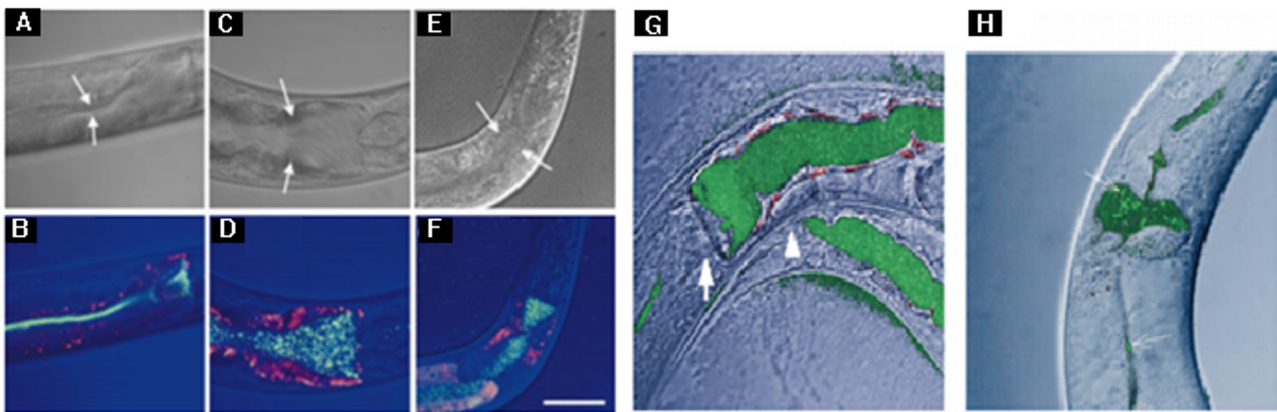
lizado por Sifri D. y colaboradores; Figura 9G y 9H, se observa la distensión del tracto digestivo de *C. elegans* alimentados con *S. aureus*, pero no con *E. coli* OP50. Gracias a la expresión del GFP los investigadores pueden correlacionar la morfología respectiva de los cocos o bacilos correspondientes a las bacterias en estudio y la respectiva respuesta frente a la inflamación en cada caso, concluyendo así que *S. aureus* afecta la morfología normal del modelo (31).

Durante la evaluación de la infección los investigadores observaron que cuando los nematodos en etapa L4 se alimentan con una cepa bacteriana que es patógena, se encuentran bacterias intactas dentro de la luz intestinal aproximadamente a las 6 horas postcontagio, ellas proliferan rápidamente y en algunos casos se evidencia una disten-

sión progresiva de la luz intestinal. Además, también reportan que los nematodos muestran pocos signos de infección durante las primeras 24 horas, su tasa de puesta de huevos es normal lo cual refleja que el estado general del nematodo es eficiente. Sin embargo, luego de este tiempo se observa que la locomoción del nematodo, el bombeo faríngeo y el forrajeo es anormal y posteriormente se evidencia una destrucción progresiva del epitelio intestinal y de la línea germinal, acompañado de una clara caída en la tasa de puesta de huevos después de 48 horas (31, 33).

Después de todo lo anterior, los nematodos comienzan a morir, y quedan inmóviles alrededor de las 72 horas de contacto con el agente. Muchos nematodos muertos pierden toda la arquitectura celular aparente. Además, tras la infección en algunos casos se observa el llamado fenotipo de “bolsa de nematodos”, en el cual los huevos de un hermafrodita grávido eclosionan internamente y las larvas resultantes consumen al progenitor (31). Es por ello que el tiempo de vida, así como el de infección pueden ser claves para poner a prueba antibióticos.

**Figura 9.** Colonización bacteriana en el intestino de *C. elegans* (A, B) *E. coli* OP50 marcada con GFP por 72 h, (C, D) *S. typhimurium* marcada con GFP por 72 h, (E, F) *P. aeruginosa* marcada con GFP durante 24 h. (G) cocos abundantes compatibles a *S. aureus* dentro de *C. elegans* con distensión del tracto digestivo. (H) Bacilos escasos compatibles con *E. coli* OP50 dentro de *C. elegans* sin distensión del tracto digestivo.



**Fuente:** Tomado de: Aballay A, y colaboradores (24) Y Sifri CD, y colaboradores (31).

### Mutantes para los estudios de infección en *C. elegans*

Actualmente, se han caracterizado mutantes que son susceptibles o resistentes a la muerte mediada por toxinas bacterianas o por infección. Por ejemplo los mutantes de *C. elegans* *daf-2* de larga vida son resistentes a los

patógenos bacterianos de mamíferos (59), y la cepa *sek-1* (*km4*) provoca una mayor sensibilidad a diversos patógenos (57). Una de las ventajas que tiene el modelo y sus cepas mutantes es que la infección se hace evidente debido a que estas cepas poseen proteínas las cuales están marcadas usualmente con GFP y tras el consumo bacteriano en

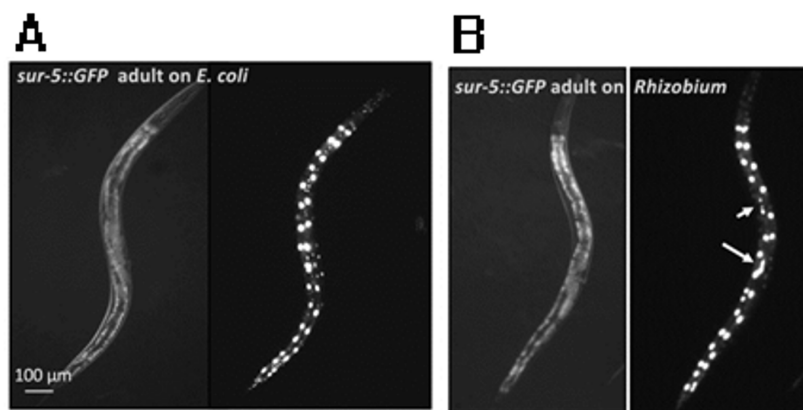


comparación con la cepa control de *E. coli* OP50 se puede observar fluorescencia ante aquellas bacterias que son perjudiciales para el nematodo.

Por ejemplo, Kniazeva M. y Ruvkun G. buscaron determinar si el desarrollo de los embriones de *C. elegans* adultos que tenía

marcada la proteína *sur-5* con GFP era normal o no al ser alimentado con *E. coli* OP50 y con *Rhizobium huautlense*, como resultado obtuvieron que los núcleos intestinales se encuentran anormalmente alargados y fragmentados tras el consumo de esta última bacteria, Figura 10. (60).

**Figura 10.** (A) imágenes fluorescentes de *C. elegans sur-5 GFP* adulto alimentado *E. coli* OP50 desde el momento de la eclosión. (B) imágenes fluorescentes de *C. elegans sur-5 GFP* adulto alimentado con *Rhizobium* desde el momento de la eclosión. Las flechas largas y cortas apuntan a núcleos intestinales anormalmente alargados y fragmentados.



**Fuente:** Tomado de: Kniazeva M. y Ruvkun G.(60).

Por otro lado, también se ha demostrado que como mecanismo de defensa *C. elegans* deja de alimentarse en respuesta a los tóxicos ambientales o agentes que causan daño de forma dependiente de la dosis y reanuda la alimentación cuando se elimina el “tóxico” o la sustancia que causa daño en su organismo (27). Lo anterior sugiere que tanto la naturaleza del patógeno como la ruta de infección contribuyen a la inducción de genes de defensa específicos en *C. elegans* así como también inducir un tratamiento puede contribuir al mejoramiento de los signos

presentados (61). Por esta razón, diversas investigaciones sugieren utilizar los medios Infusión Cerebro Corazón (BHI) o Luria Bertani (LB) para el cultivo de las bacterias que se van a exponer al nematodo, ya que se ha demostrado que otro tipo de medios de cultivo pueden aumentar la virulencia bacteriana y afectar notoriamente al nematodo (20, 39).

Es importante mencionar que existen algunos requisitos a tener en cuenta para la funcionalidad de *C. elegans* como modelo

huésped-patógeno, debido a que el nematodo solo tiene defensas inmunes innatas, las preguntas dirigidas a comprender el sistema inmunitario adquirido deberán abordarse en un modelo de vertebrado. *C. elegans* también carece de un tipo de célula fagocítica móvil, como el macrófago de mamífero o el hemocito de *Drosophila*. Además, no todos los genes de inmunidad innata de vertebrados tienen ortólogos en este modelo. Estas limitaciones subrayan la necesidad de una variedad de sistemas de modelos complementarios de huésped-patógeno para comprender a fondo la complejidad total de las interacciones virulencia-defensa, sin embargo es importante considerar que este modelo puede ser muy útil para realizar tamizajes en el estudio de sustancias candidatas a fármacos (42).

Finamente, otro de los factores importantes para seleccionar este nematodo como modelo eucariota es la capacidad que tiene de crio preservarse a largo plazo, lo que permite realizar variados estudios con diferentes cepas transgénicas o mutantes (12). Por otro lado, dado a los estudios realizados en el nematodo infectado con patógenos, con el fin de comprobar la función y efectividad de compuestos o estandarizar alternativas de tratamiento eficientes, este animal puede ser propuesto como modelo *In Vivo* de infecciones. Se podrían evaluar sustancias, extractos o péptidos antimicrobianos entre otros, pues en él se pueden aplicar infinidad de ensayos arrojando resultados de manera rápida y concluyente (40, 57). Además, es importante reconocer que durante muchos

años *C. elegans* se ha utilizado para comprender enfermedades como Alzheimer, Diabetes Mellitus entre otros y ha proporcionado numerosos avances en estas áreas del conocimiento (12).

## Conclusiones

Diversos son los estudios realizados hasta el momento enfatizados en demostrar que pese a que *C. elegans* se alimenta naturalmente de bacterias no todas pueden ser relativamente sanas o promover su ciclo de vida normal, de hecho a lo largo de este artículo se evidenció que el nematodo puede verse afectado al consumir ciertas bacterias en comparación a su alimento habitual en el laboratorio (la *E. coli* OP50), lo que indica que pese a la distancia evolutiva sigue existiendo una conexión entre una especie y otra, sobre todo en el caso de la sensibilidad a infecciones que atacan a diferentes mamíferos.

Además todo esto contribuye a la posibilidad de usar este nematodo como modelo *In vivo* de infecciones y no solamente con el fin de determinar aspectos netos de la inmunidad o las repercusiones que los microorganismos tienen en la vida del modelo, sino que es posible que a nivel de ciencia e investigación este pequeño invertebrado sea útil para descartar o no medicamentos en estudio en diferentes campos de investigación, sobre todo aquellos que involucran los sistemas que conforman a *C. elegans*.

Las infecciones son cada vez más persistentes y la necesidad de explorar nuevas sustancias para contrarrestarlos es evidente en la actualidad, a través de este modelo se puede contribuir sustancialmente para validar antibióticos candidatos de manera rápida y sencilla y al mismo tiempo evitar largas experimentaciones que en un final fracasan, porque comprometen la vida de otros modelos animales que tiene un periodo de vida más largo o que presenta restricciones éticas.

El semillero de Biotecnología y Genética UCMC de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca propone utilizar a este modelo como fase inicial de experimentación a nivel de antibióticos, usando las técnicas *In vitro* convencionales y comparándolas con la infección y la resolución de la misma dentro del nematodo tras la administración del fármaco en estudio, para posteriormente hacer estudios más especializados con otros animales solo si el medicamento no compromete la vida del nematodo. De hecho, actualmente este grupo tiene en curso una investigación que tiene como objetivo validar y estandarizar a *C. elegans* como modelo *In Vivo* de infección para el estudio de antimicrobianos.

## Referencias

1. Wiles S. All models are wrong, but some are useful: Averting the 'microbial apocalypse'. *Virulence*. 2015;6(8):730-2.
2. Meurens F, Summerfield A, Nauwynck H, Saif L, Gerdts V. The pig: a model for human infectious diseases. *Trends in microbiology*. 2012;20(1):50-7.
3. Duval RE, Grare M, Demore B. Fight Against Antimicrobial Resistance: We Always Need New Antibacterials but for Right Bacteria. *Molecules*. 2019;24(17).
4. Zhao M, Lepak AJ, Andes DR. Animal models in the pharmacokinetic/pharmacodynamic evaluation of antimicrobial agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2016;24(24):6390-400.
5. Tunkel AR, Scheld WM. Applications of therapy in animal models to bacterial infection in human disease. *Infectious disease clinics of North America*. 1989;3(3):441-59.
6. Baldelli I, Biolatti B, Santi P, Murialdo G, Bassi AM, Santori G, et al. Conscientious Objection to Animal Testing: A Preliminary Survey Among Italian Medical and Veterinary Students. *Alternatives to laboratory animals : ATLA*. 2019;47(1):30-8.
7. Kumar A, Baruah A, Tomioka M, Iino Y, Kalita MC, Khan M. *Caenorhabditis elegans*: a model to understand host-microbe interactions. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2020;77(7):1229-49.
8. Maupas E. Modes et formes de reproduction des nématodes 1900.
9. NCBI. Taxonomy browser *Caenorhabditis elegans* 2020 [updated 2020; cited 2020 11/06/2020]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&iid=6239&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s&log\\_op=lineage\\_toggle](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&iid=6239&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s&log_op=lineage_toggle).
10. Dougherty EC, V. N. A new species of the free-living nematode genus *Rhabditis* of interest in comparative physiology and genetics. *Journal of Parasitology*. 1949;35(11).
11. Riddle DL, Blumenthal T, Meyer BJ ea, editors. *C. Elegans II*. 2nd Edition. Nueva York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1997.
12. Ann K. Corsi, Bruce Wightman, Chalfie M. A Transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans* New York 2015 [cited 2020

- 11/06/2020]. Available from: [http://www.wormbook.org/chapters/www\\_celegansintro/celegansintro.html](http://www.wormbook.org/chapters/www_celegansintro/celegansintro.html).
13. Gonzalez-Moragas L, Roig A, Laromaine A. *C. elegans* as a tool for in vivo nanoparticle assessment. *Advances in colloid and interface science*. 2015;219:10-26.
  14. Wormatlas. 2020 [cited 2020 11/06/2020]. Available from: <https://www.wormatlas.org/>.
  15. Prevedel R, Yoon YG, Hoffmann M, Pak N, Wetstein G, Kato S, et al. Simultaneous whole-animal 3D imaging of neuronal activity using light-field microscopy. *Nature methods*. 2014;11(7):727-30.
  16. Schedl T, Kimble J. *fog-2*, a germ-line-specific sex determination gene required for hermaphrodite spermatogenesis in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*. 1988;119(1):43-61.
  17. LHernault SW, Arduengo PM. Mutation of a putative sperm membrane protein in *Caenorhabditis elegans* prevents sperm differentiation but not its associated meiotic divisions. *The Journal of cell biology*. 1992;119(1):55-68.
  18. Tan M-W, Rahme LG, Sternberg JA, Tompkins RG, Ausubel FM. *Pseudomonas aeruginosa* killing of *Caenorhabditis elegans* used to identify *P. aeruginosa* virulence factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999;96(5):2408-13.
  19. Couillault C, Ewbank JJ. Diverse bacteria are pathogens of *Caenorhabditis elegans*. *Infection and immunity*. 2002;70(8):4705-7.
  20. Mahajan-Miklos S, Tan MW, Rahme LG, Ausubel FM. Molecular mechanisms of bacterial virulence elucidated using a *Pseudomonas aeruginosa*-*Caenorhabditis elegans* pathogenesis model. *Cell*. 1999;96(1):47-56.
  21. Gallagher LA, Manoil C. *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 kills *Caenorhabditis elegans* by cyanide poisoning. *Journal of bacteriology*. 2001;183(21):6207-14.
  22. Darby C, Cosma CL, Thomas JH, Manoil C. Lethal paralysis of *Caenorhabditis elegans* by *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999;96(26):15202-7.
  23. Arnaud Labrousse, Sophie Chauvet, Carole Couillault, C. Léopold Kurz, Ewbank JJ. *Caenorhabditis elegans* es un huésped modelo para *Salmonella typhimurium*. *Current Biology*. 2000;10(23).
  24. Aballay A, Yorgey P, Ausubel FM. *Salmonella typhimurium* proliferates and establishes a persistent infection in the intestine of *Caenorhabditis elegans*. *Current biology : CB*. 2000;10(23):1539-42.
  25. Aballay A, Drenkard E, Hilbun LR, Ausubel FM. *Caenorhabditis elegans* innate immune response triggered by *Salmonella enterica* requires intact LPS and is mediated by a MAPK signaling pathway. *Current biology : CB*. 2003;13(1):47-52.
  26. Tenor JL, McCormick BA, Ausubel FM, Aballay A. *Caenorhabditis elegans*-based screen identifies *Salmonella* virulence factors required for conserved host-pathogen interactions. *Current biology : CB*. 2004;14(11):1018-24.
  27. O'Quinn AL, Wiegand EM, Jeddelloh JA. *Burkholderia pseudomallei* kills the nematode *Caenorhabditis elegans* using an endotoxin-mediated paralysis. *Cellular microbiology*. 2001;3(6):381-93.
  28. Gan YH, Chua KL, Chua HH, Liu B, Hii CS, Chong HL, et al. Characterization of *Burkholderia pseudomallei* infection and identification of novel virulence factors using a *Caenorhabditis elegans* host system. *Molecular microbiology*. 2002;44(5):1185-97.
  29. Garsin DA, Sifri CD, Mylonakis E, Qin X, Singh KV, Murray BE, et al. A simple model host for identifying Gram-positive virulence factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(19):10892-7.
  30. Jansen WT, Bolm M, Balling R, Chhatwal GS, Schnabel R. Hydrogen peroxide-mediated killing

- of *Caenorhabditis elegans* by *Streptococcus pyogenes*. *Infection and immunity*. 2002;70(9):5202-7.
31. Sifri CD, Begun J, Ausubel FM, Calderwood SB. *Caenorhabditis elegans* as a model host for *Staphylococcus aureus* pathogenesis. *Infection and immunity*. 2003;71(4):2208-17.
  32. Hodgkin J, Kuwabara PE, Corneliussen B. A novel bacterial pathogen, *Microbacterium nematophilum*, induces morphological change in the nematode *C. elegans*. *Current biology : CB*. 2000;10(24):1615-8.
  33. Park JO, El-Tarabily KA, Ghisalberty EL, Sivasi-thamparam K. Pathogenesis of *Streptovorticillium albireticuli* on *Caenorhabditis elegans* and its antagonism to soil-borne fungal pathogens. *Letters in applied microbiology*. 2002;35(5):361-5.
  34. Darby C, Hsu JW, Ghorri N, Falkow S. *Caenorhabditis elegans*: plague bacteria biofilm blocks food intake. *Nature*. 2002;417(6886):243-4.
  35. Joshua GWP, Karlyshev AV, Smith MP, Isherwood KE, Titball RW, Wren BW. A *Caenorhabditis elegans* model of *Yersinia* infection: biofilm formation on a biotic surface. *Microbiology*. 2003;149(11):3221-9.
  36. Mallo GV, Kurz CL, Couillault C, Pujol N, Granjeaud S, Kohara Y, et al. Inducible antibacterial defense system in *C. elegans*. *Current biology : CB*. 2002;12(14):1209-14.
  37. Hodgkin J, Partridge FA. *Caenorhabditis elegans* meets microsporidia: the nematode killers from Paris. *PLoS biology*. 2008;6(12):2634-7.
  38. Mylonakis E, Ausubel FM, Perfect JR, Heitman J, Calderwood SB. Killing of *Caenorhabditis elegans* by *Cryptococcus neoformans* as a model of yeast pathogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002;99(24):15675-80.
  39. Feistel DJ, Elmostafa R, Nguyen N, Penley M, Morran L, Hickman MA. A Novel Virulence Phenotype Rapidly Assesses *Candida* Fungal Pathogenesis in Healthy and Immunocompromised *Caenorhabditis elegans* Hosts. *mSphere*. 2019;4(2).
  40. Breger J, Fuchs BB, Aperis G, Moy TI, Ausubel FM, Mylonakis E. Antifungal chemical compounds identified using a *C. elegans* pathogenicity assay. *PLoS pathogens*. 2007;3(2):e18.
  41. Pukkila-Worley R, Peleg AY, Tampakakis E, Mylonakis E. *Candida albicans* hyphal formation and virulence assessed using a *Caenorhabditis elegans* infection model. *Eukaryotic cell*. 2009;8(11):1750-8.
  42. Alegado RA, Campbell MC, Chen WC, Slutz SS, Tan MW. Characterization of mediators of microbial virulence and innate immunity using the *Caenorhabditis elegans* host-pathogen model. *Cellular microbiology*. 2003;5(7):435-44.
  43. Ewbank JJ, Zugasti O. *C. elegans*: model host and tool for antimicrobial drug discovery. *Disease models & mechanisms*. 2011;4(3):300-4.
  44. Roeder T, Stanisak M, Gelhaus C, Bruchhaus I, Grotzinger J, Leippe M. Caenopores are antimicrobial peptides in the nematode *Caenorhabditis elegans* instrumental in nutrition and immunity. *Developmental and comparative immunology*. 2010;34(2):203-9.
  45. Kato Y, Aizawa T, Hoshino H, Kawano K, Nitta K, Zhang H. *abf-1* and *abf-2*, ASABF-type antimicrobial peptide genes in *Caenorhabditis elegans*. *The Biochemical journal*. 2002;361(Pt 2):221-30.
  46. Schulenburg H, Kurz CL, Ewbank JJ. Evolution of the innate immune system: the worm perspective. *Immunological reviews*. 2004;198:36-58.
  47. Nicholas HR, Hodgkin J. Responses to infection and possible recognition strategies in the innate immune system of *Caenorhabditis elegans*. *Molecular immunology*. 2004;41(5):479-93.
  48. Mary R, Brockett, Patrick S, Spica, Shinn-Thomas JH. *C. elegans* synchronization: Small- and large-scale protocols to isolate synchronized L1 larvae and beyond New York 2016 [updated 2016; cited 2020 11/06/2020]. Available from:

wormbook.org/2016/05/16/c-elegans-synchroni-  
zation-small-and-large-scale-protocols-to-isolate-synchronized-l1-larvae-and-beyond/.

49. Stiernagle T. Maintenance of *C. elegans* Minneapolis2006 [updated 2006; cited 2020 11/06/2020]. Available from: [http://www.wormbook.org/chapters/www\\_strainmaintain/strainmaintain.html](http://www.wormbook.org/chapters/www_strainmaintain/strainmaintain.html).
50. Park HH, Jung Y, Lee SV. Survival assays using *Caenorhabditis elegans*. *Molecules and cells*. 2017;40(2):90-9.
51. Sanchez-Blanco A, Kim SK. Variable pathogenicity determines individual lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS genetics*. 2011;7(4):e1002047.
52. Bustos AVG, Jimenez MG, Mora RMS. The *Annona muricata* leaf ethanol extract affects mobility and reproduction in mutant strain NB327 *Caenorhabditis elegans*. *Biochemistry and biophysics reports*. 2017;10:282-6.
53. Parada Ferro LK, Gualteros Bustos AV, Sánchez Mora RM. Caracterización fenotípica de la cepa N2 de *Caenorhabditis elegans* como un modelo en enfermedades neurodegenerativas. *NOVA*. 2017;15:69.
54. Sugawara T, Sakamoto K. Killed *Bifidobacterium longum* enhanced stress tolerance and prolonged life span of *Caenorhabditis elegans* via DAF-16. *British Journal of Nutrition*. 2018;120(8):872-80.
55. MacNeil LT, Watson E, Arda HE, Zhu LJ, Walhout AJ. Diet-induced developmental acceleration independent of TOR and insulin in *C. elegans*. *Cell*. 2013;153(1):240-52.
56. Sharika R, Subbaiah P, Balamurugan K. Studies on reproductive stress caused by candidate Gram positive and Gram negative bacteria using model organism, *Caenorhabditis elegans*. *Gene*. 2018;649:113-26.
57. Okoli I, Coleman JJ, Tampakakis E, An WF, Holson E, Wagner F, et al. Identification of antifungal compounds active against *Candida albicans* using an improved high-throughput *Caenorhabditis elegans* assay. *PloS one*. 2009;4(9):e7025.
58. Duncan D. Cameron, Jurriaan Ton, Alejandro Pérez de Luque. *Mycocrop United Kingdom*2013 [updated 2015; cited 2020 11/06/2020]. Available from: <https://mycocrop.wordpress.com/summary-results/>.
59. Garsin DA, Villanueva JM, Begun J, Kim DH, Sifri CD, Calderwood SB, et al. Long-lived *C. elegans* *daf-2* mutants are resistant to bacterial pathogens. *Science*. 2003;300(5627):1921.
60. Kniazeva M, Ruvkun G. *Rhizobium* induces DNA damage in *Caenorhabditis elegans* intestinal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2019;116(9):3784-92.
61. Jurado-Gamez H, Gúzman-Insuasty M. Determinación de la cinética, pruebas de crecimiento y efecto de inhibición in vitro de *Lactobacillus casei* en *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli*. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. 2015;62.

# Resistencia a la fractura de coronas dentales fabricadas análogamente vs tecnología cad-cam. Estudio *In vitro*

Fracture resistance of analogally made dental crowns vs cad-cam technology. *In vitro* study

Salvador Insignares Ordoñez<sup>1</sup>, Antonio Díaz Caballero<sup>2</sup>, Yureinys Beleño Quintero<sup>3</sup>, Salin Insignares Buelvas<sup>4</sup>

## Resumen

**Antecedentes.** La resistencia a la fractura de las coronas puede tener influencia en su ocurrencia, de acuerdo con el método de fabricación usado, ya sea análogamente o por medio de tecnología Cad-Cam. **Objetivo.** Comparar la resistencia a la fractura de las coronas individuales realizadas por dos métodos de fabricación, bajo diseño asistido por ordenador y fabricación computarizada (CAD-CAM) e inyectadas. **Método.** Estudio *in vitro*. Tamaño de la muestra 20 coronas en dos grupos: 10 coronas bajo tecnología CAD-CAM y 10 coronas inyectadas. Fueron sometidas a cargas compresivas en una máquina de ensayos universal, con una velocidad de 1mm/min y una carga de celda de 5kN hasta obtener la fractura máxima de estas. Los datos se analizaron estadísticamente utilizando las pruebas Shapiro Wilk, Mann Whitney  $p=0,05$ . **Resultados.** Las coronas fabricadas por Cad-Cam obtuvieron un mínimo de 602,5 Newton y un máximo de 1093 Newton, mientras que las coronas fabricadas análogamente obtuvieron un mínimo de 525,2 Newton y un máximo de 1773 Newton en el experimento con la máquina de ensayo universal para lograr su fractura. Se obtuvo una diferencia significativa en la prueba de resistencia a la fractura entre ambos métodos de fabricación ( $p < 0,001$ ). **Conclusión.** Las coronas de Disilicato de litio Prensadas obtuvieron una mayor resistencia a la fractura que las coronas fabricadas via CAD-CAM.

1. Odontólogo Universidad de Cartagena. Especialista en Rehabilitación oral Universidad CIEO. Docente Universidad de Cartagena.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6567-3511>  
Google académico: [https://scholar.google.es/citations?view\\_op=list\\_works&hl=es&user=DCM90ooAAAAJ](https://scholar.google.es/citations?view_op=list_works&hl=es&user=DCM90ooAAAAJ)

2. Odontólogo Universidad de Cartagena. Doctor en Ciencias Biomédicas Universidad de Cartagena. Especialista en Periodoncia Universidad Javeriana. Magister en Educación Universidad del Norte. Docente Universidad de Cartagena. Director Grupo GITOUIC.  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9693-2969>  
Google académico: <https://scholar.google.com/citations?user=TfBMjpEAAAAJ&hl=es>

3. Odontóloga Universidad de Cartagena.  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2862-4793>  
Google académico: <https://scholar.google.es/citations?user=rkvogGsAAAAJ&hl=es>

4. Odontólogo Universidad de Cartagena. Especialista en Rehabilitación sobre Implantes Universidad CIEO.  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8957-7831>  
Google académico: <https://scholar.google.es/citations?user=udxHSFEAAAAJ&hl=es>

Correo electrónico de correspondencia: [adiacz1@unicartagena.edu.co](mailto:adiacz1@unicartagena.edu.co)  
Sitio de realización del trabajo: Universidad de Cartagena.  
Declaración de conflictos de interés: ningún conflicto declarado.

**Palabras claves:** (decs bireme): coronas; resistencia flexional; odontología; prostodoncia; laboratorio.

## Abstract

**Background.** The fracture resistance of the crowns may have an influence on their appearance, according to the method of making them, either analogously or by means of Cad-Cam technology. **Objective.** To compare the resistance to the fracture of the individual crowns made by two manufacturing methods, under computer-aided design and computerized manufacturing (CAD-CAM) and injected. **Methods.** In vitro study. Sample size 20 crowns in two groups: 10 crowns using CAD-CAM technology and 10 crowns injected. Crowns were subjected to compressive loads in a universal testing machine, with a speed of 1mm / min and a cell load of 5kN until obtaining the maximum bill for these. Data were statistically analyzed using the Shapiro Wilk tests, Mann Whitney  $p = 0.05$ . **Results.** Crowns manufactured by Cad-Cam obtained a minimum of 602.5 Newton and a maximum of 1093 Newton, while the crowns manufactured analogously obtained a minimum of 525.2 Newton and a maximum of 1773 Newton in the experiment with the machine Universal test to achieve their fracture. A significant difference was obtained in the invoice resistance test between both manufacturing methods ( $p < 0.001$ ). **Conclusion.** Pressed Lithium Disilicate crowns obtained higher fracture resistance than crowns under design and manufacturing by computer (CAD-CAM).

**Keywords:** (mesh database): dental crown; flexural strength; dentistry; tooth preparation, prosthodontic; laboratories, dental.

## Introducción

Las coronas dentales se vienen utilizando desde mucho tiempo atrás en la historia de la odontología (1), para la confección de estas se utilizan diversos materiales incluyendo los cerámicos, los cuales pueden presentar diversos patrones de comportamiento a las fuerzas de masticación o incluso se puede observar diferentes rangos de resistencia a la fractura de esas coronas. De ahí la importancia de considerar la resistencia

de los materiales utilizados en la confección de una restauración (2). La resistencia es definida como la máxima tensión requerida para fracturar una estructura según la fuerza aplicada (3).

Las cerámicas de uso odontológico se clasifican en: feldespáticas, disilicato de litio, alúmina y zirconia, dependiendo de su composición química y dureza (4). El disilicato de litio posee diversos componentes que potencializan su resistencia, entre



estos resaltan; el feldespató, responsable de la translucidez, cuarzo que compone la fase cristalina, caolín que proporciona plasticidad (5). Dicha resistencia supera el valor límite de 100 MPa, establecido por Goujat et al (6), registrado entre 100-300 MPa y una resistencia a la flexión de 350 MPa, estos están considerados dentro de los niveles bajos, por ello su uso está indicado en coronas individuales (7).

Con respecto al diseño y fabricación de las coronas individuales se han venido desarrollando de manera análoga a lo largo de la historia; en la actualidad, con el advenimiento de los avances tecnológicos se han implementado equipos computarizados, estos prometen mayor confiabilidad y exactitud de las coronas, entre estos se tiene CAD-CAM definido como sistema tecnológico para el diseño y elaboración de restauraciones dentales por ordenador (8).

El sistema maquinado el IPS E.max CAD, utiliza Metasilicato de Litio fresado, el cual, ha registrado que mantiene una resistencia flexural de 234N (6), este se somete a tratamiento térmico llamado cristalización, generando la transformación de la microestructura para convertirse así en disilicato de Litio, material a utilizar en la presente investigación (9).

El objetivo de esta investigación fue establecer la resistencia a la fractura de las coronas de disilicato de Litio fabricadas por dos técnicas diferentes.

## Metodología

Estudio *In vitro* de tipo experimental.

**Selección de muestra:** se fabricaron un total de 20 coronas dentales, las cuales se dividieron en dos grupos según el método de fabricación implementado. Grupo A de 10 coronas inyectadas. Grupo B de 10 coronas bajo tecnología CAD-CAM.

**Preparación del muñón:** se implementó el uso de un primer molar permanente inferior previamente extraído, el cual fue tallado con las medidas establecidas para la adaptación de una corona totalmente cerámica: cara oclusal 2mm, caras libres y proximales de 1.5mm y zona cervical de 0.8mm, con una terminación en chaflán. Con esto se evita que el resultado final se viera afectado por algún punto de la metodología aplicada. con base a la información existente en varios estudios relacionados.

Se procedió a empotrar el molar tallado en un bloque de acrílico de 3cm x 3cm como base.

**Diseño y elaboración de las coronas:** se dividió en etapas.

*Primera etapa:* impresión digital del primer molar inferior previo al tallado, con un escáner óptico (Omnicam- Sirona-Besheim-Alemania) para obtener la anatomía ideal de las coronas individuales.

*Segunda etapa:* escaneo del muñón del primer molar inferior para el diseño de las coronas individuales.

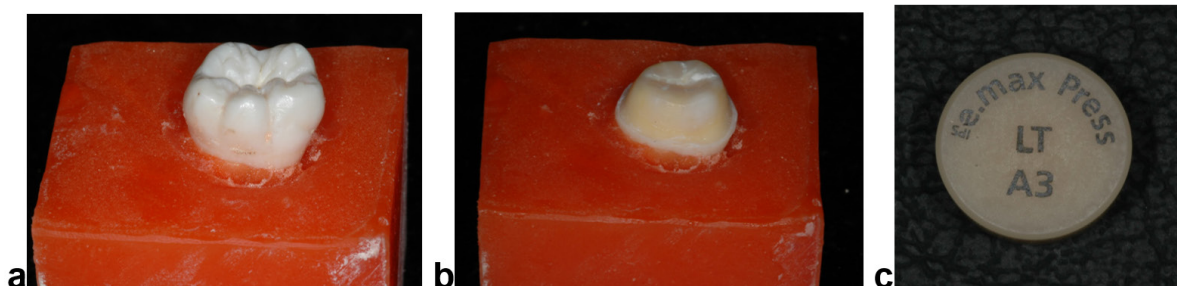
*Tercera etapa:* diseño de las 20 coronas estandarizadas con el software InLab (Sirona, Besheim, Alemania); una vez que el software superpuso la corona sobre el muñón, se verificó que toda la superficie de esta tuviera el grosor mínimo de 2mm, posterior a esto se ordenó el fresado de 20 coronas. El grupo A de 10 coronas E-max CAD LT (Ivoclar vivadent, Schaan, Liechtenstein), las cuales posteriormente pasaron a un proceso de cocción de cristalización junto al glaseado, este fue hecho con pasta IPS E-max CAD Crystall/Glaze(Ivoclar vivadent, Schaan, Liechtenstein) en el horno de inyección y cristalización EP 5000(Ivoclar vivadent). Las 10 coronas del grupo B fueron fresadas en Telio CAD PMMA(Sirona).

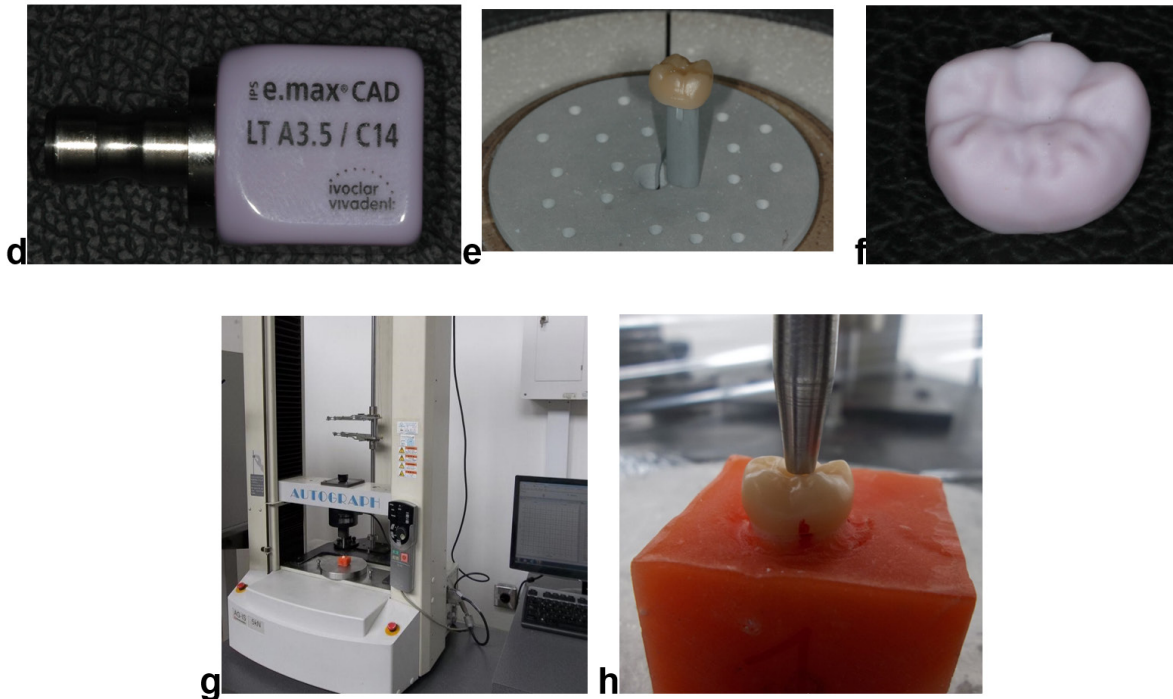
**Test de compresión:** las coronas y el análogo de pilar son llevadas al laboratorio de ensayos mecánicos de la Universidad Nacional

de Colombia. Las muestras se sometieron a una fuerza compresiva y progresiva para analizar el límite de fractura de estos elementos. Para la aplicación de esta fuerza se realizó en la máquina universal de ensayo marca Shimadzu®; utilizando una punta cilíndrica de extremo redondeado con un diámetro de 3mm, colocado en la fosa funcional a manera de trípode; con una velocidad de 1mm/min hasta conseguir la fractura completa de las coronas, colocando como límite de fuerza 5 KN, equivalente a 509 Kilogramos-fuerza o 0.005 megapascuales.

**Análisis y recolección de datos:** la recolección de datos se realizó mediante el software TRAPEZIUM X (Shimadzu), estos datos fueron organizados en dos tablas correspondientes a cada subgrupo en el programa Excel. Como pruebas estadísticas se aplicó Shapiro Wilk, para observar la característica de distribución de los datos, prueba no paramétrica Mann Whitney correspondiente a muestras independientes para comparar la resistencia compresiva entre ambos grupos.

**Figura 1.** Protocolo de preparación del muñón y coronas de disilicato de litio tanto Inyectadas y fresada. (a) Primer molar inferior para diseño de muñón. (b) Molar tallado, siguiendo todos los parámetros señalados en la metodología. (c) Pastilla de Emax Press LT A3. (d) bloque para fresado de Emax CAD LT A3.5. (e) Corona de Emax Press saliendo del horno EP5000 del proceso de Inyectado. (f) Corona de Metasilicato de litio saliendo de el proceso de fresado antes de pasar por el proceso de cristalización. (g-h) Muestra sometida a cargas compresivas en máquina de ensayos universal.





Fuente: Elaboración propia.

## Resultados

Se evaluó la resistencia a la fractura de 20 coronas dentales, utilizando disilicato de litio bajo dos métodos de fabricación; las muestras se dividieron en dos grupos de 10 coronas denominados con el nombre de: coronas CAD-CAM (grupo A) y coronas inyectadas (grupo B).

Posteriormente, se procedió a la carga de todas las muestras en la máquina de ensayo universal hasta lograr la fractura máxima para la evaluación de la resistencia de ambos grupos, la cual se midió en megapascals (MPa). Para la aplicación de la carga

compresiva se implementó una máquina de ensayos universal marca Shimadzu, con carga de celda de 5kN a una velocidad de 1mm/min hasta obtener la fractura de las coronas de la muestra; como resultado, el grupo de coronas diseñadas bajo el método análogo obtuvo una media de 1182 newton y en las coronas manejadas con tecnología CAD-CAM una media de 854.6 newton, determinando así, una diferencia significativa ( $P= 0,01$ ) entre ambos métodos; ambos grupos estuvieron por encima de los valores mínimos requeridos para un material restaurador en el sector posterior.

Se obtuvo que los valores de cada grupo seguían una distribución normal mediante el

test de Shapiro Wilk. El grupo de coronas fresadas arroja unos valores de comportamiento homogéneo y el grupo de coronas inyectadas arroja unos valores heterogéneos, lo que indica que el límite a fractura es mayor en el grupo de inyectadas, como se observa en las Tablas 1 y 2.

**Tabla 1.** Resultados de análisis descriptivo de coronas fresadas.

CORONAS CAD-CAM	
Media (x)	854,6
Mediana	854,8
Desviación estándar	141,1
Mínimo	602,5
Máximo	1093
percentil 25%	761,7
Percentil 75%	956,6
Std. error	44,63

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 2.** Resultados de análisis descriptivo de coronas inyectadas.

CORONAS INYECTADAS	
Media (x)	1182
Mediana	1200
Desviación estándar	358,9
Mínimo	525,2
Máximo	1773
percentil 25%	898
Percentil 75%	1408
Std. error	113,5

Fuente: Elaboración propia.

Se realizó un análisis de datos de manera comparativa con la prueba no paramétrica de Mann Whitney; los valores obtenidos se muestran en la tabla 3.

**Tabla 3.** Resultados de comparación de ambos grupos de coronas individuales.

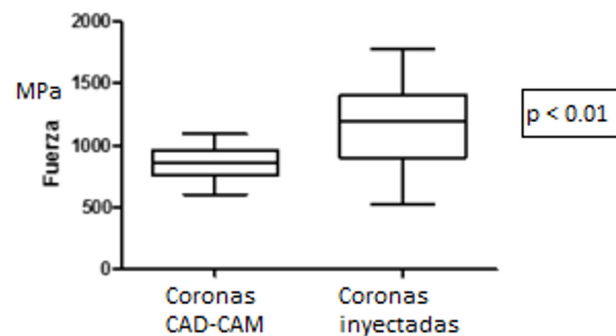
TABLA COMPARATIVA	CORONAS CAD-CAM	CORONAS INYECTADAS
MEDIA (X)	854,6	1182
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	141,1	358,9
VALOR DE P	0,01	

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a la resistencia a la fractura entre los dos materiales sometidos a la prueba se encontró diferencias estadísticamente significativas en las medianas entre los dos grupos; el grupo A correspondiente a coronas CAD-CAM y grupo B a coronas inyectadas con un valor de  $p < 0.01$ .

Las coronas que mostraron mayor resistencia a la fractura fueron las del grupo B (inyectadas) como muestra la figura 2.

**Figura 2.** Gráfico de cajas y bigotes con la comparación entre las fuerzas de resistencia a la fractura soportadas por los dos tipos de coronas.



Fuente: Elaboración propia.

## Discusión

El presente estudio comparó la resistencia a la fractura de coronas de disilicato de litio elaboradas bajo dos métodos de fabricación; el primer grupo de coronas se manejó de manera análoga, el segundo con diseño y fabricación por ordenador (CAD-CAM).

Martínez y cols (10), compararon la resistencia a la fractura de coronas de disilicato de litio fabricadas bajo tecnología CAD-CAM y de manera análoga, usó pilares personalizados para el sector anterior y coronas para un central superior, la resistencia del disilicato de Litio fue de  $558.5 \pm 35$  kg, la cual es superior a las fuerzas ejercidas en el sector anterior. Se tomó un primer molar inferior para ser utilizado como pilar para adaptar las coronas dispuestas como muestras, debido a que en la zona de primeros molares se registra la mayor carga a las fuerzas masticatorias.

Magne y Cheung en 2017 (11) mencionan que la fuerza máxima promedio de mordida voluntaria en la región de molares con coronas cerámicas es de 866 Kg, fuerza que equivale a 85N fuerza. Lo que muestra una semejanza con los resultados obtenidos en la presente investigación con las coronas fresadas, existe una comparación en los rangos de las fuerzas obtenidas.

Nishigawa y cols en el 2001 (12) determinaron que en procesos de bruxismo la fuerza máxima promedio nocturna es de 42,3N

equivalente a 438 kg fuerza y la fuerza máxima registrada fue de 81N equivalente a 794.34 kg, con una duración de 7 segundos. Esos datos muestran comparativamente que las coronas fabricadas en el presente estudio para testear la fuerza de resistencia a la fractura, en ambos estilos de confección, superan ampliamente las fuerzas que pueden detectarse durante el bruxismo. Eso tiene la implicación que pueden resistir más, pero a la vez pueden inducir eventualmente a mayores fuerzas de bruxismo. Tanto las inyectadas como las maquinadas superaron ese valor.

El estudio de Zahran, El-Mowafy, Tam, Watson, Finer en el 2008, utilizó un primer molar inferior en ivorina como muestra de preparación del tallado y tomando la impresión de donde se replicaron (13), conservando las dimensiones establecidas para el tallado de un molar. Este estudio a diferencia del actual donde se utilizó un molar natural previamente extraído, en el cual, se tomaron los escaneos que obtuvieron las diferentes coronas evaluadas, permitió la replicación o contrastación del método.

La preparación del molar de donde se obtuvieron las coronas se realizó de acuerdo con lo planteado por Yi-hong Liu et al en el año 2014 (14), donde se tuvo en cuenta la influencia de la altura del muñón y un ángulo de convergencia total de 6 grados, un chaflán profundo de 1,0 mm, altura de preparación de 5mm y reducción oclusal de 1,5-2,0 mm.

Martínez y cols (10) realizaron la comparación de coronas en distintos materiales cerámicos, dentro de este, el disilicato de litio fabricado manualmente y fabricadas con tecnología CAD-CAM; con diferencia significativa ( $P=0,05$ ) frente a la resistencia a la fractura. Lo anterior es similar a lo encontrado en el presente estudio.

Bacigalupe y Villablanca en el 2014 (15), muestran que al aplicar la fuerza compresiva sobre coronas cerámicas con propiedades similares a la implementada en la actual investigación y bajo fabricación con CAD-CAM se obtuvo una media de 1.579 newton, siendo su valor máximo de resistencia a los 1.713,0N y valor mínimo de 1.457,4N, arrojando diferencias con los resultados de esta investigación, en el cual, la media para coronas fresadas fue 854.6 newton, siendo su valor máximo de resistencia a los 1093N y valor mínimo de 602,5N; la no cementación de las coronas en el ensayo generó diferencia significativa con el estudio referenciado; “El uso del sistema Cad-Cam permitió determinar el grosor homogéneo del elemento cementante ( $40\mu$ ) y la línea de cementación ( $20\mu$ ) dimensiones mínimas para este objetivo que al entender actual aporta significativamente a la resistencia de las coronas utilizadas” (15).

Majed Al-Akhalia et al en el 2017 (16) demostraron que las coronas cerámicas monolíticas de Emax CAD superaron fuerzas compresivas mayores de 900 N, y además, refieren que se diferencia a las pruebas realizadas en el material con métodos biaxiales

flexurales en los cuales se dan resistencias mucho menores de 530N. Magne y Cheung (11) realizaron pruebas compresivas similares; probaron 10 coronas de Emax CAD, mostrando que el 100% de las coronas resisten a fuerzas menores a 800N, el 80% resistió a fuerzas de 1000N, el 50% a fuerzas de 1200N y el 30% a fuerzas de 1400N.

Los resultados del presente estudio muestran que la media en Newton en la resistencia compresiva de ambos tipos de coronas monolíticas de disilicato de Litio se encuentra por encima de 800 N, siendo el de las coronas inyectadas 1182 N y el de las coronas fresadas de 854.8 N. Varga et al en 2011 (17), registraron la media de fuerza oclusal ejercida de manera voluntaria en personas con oclusión normal es de  $777.7\pm 78$ N. Teniendo en cuenta esto una persona con una oclusión sana o patológica y completa no es capaz de fracturar una corona de Emax Press de forma voluntaria.

La aplicabilidad clínica de este estudio radica en conocer la resistencia de la fractura de las coronas totalmente cerámicas, que son confiables en relación con el manejo del material generando con una resistencia a fuerzas masticatorias superiores a las registradas. El uso de la tecnología CAD-CAM brinda un tiempo menor de diseño y fabricación de coronas y reduce también el margen de error que pueda presentarse durante el diseño. Sailer y cols en el 2017 (18), hacen referencia al tiempo de trabajo del laboratorio utilizando el sistema CAD-CAM.

Indican que es significativamente más corto que el convencional, también, exponen que la calidad de las coronas no difiere después de la fabricación bajo CAD-CAM y análogamente. Aunque no se evaluó el tiempo de fabricación en la presente investigación, si se obtienen unas coronas de alta calidad tanto de laboratorio como clínicas.

## Conclusiones

La resistencia compresiva de ambos métodos de fabricación superó los estándares establecidos en las fuerzas masticatorias, haciéndose aceptables para su uso. Las coronas de Disilicato de litio Prensadas obtuvieron una mayor resistencia a la fractura que las coronas fabricadas vía CAD-CAM.

### *Aportes de cada uno de los investigadores.*

*Salvador Insignares:* concepción de la idea de investigación. Seguimiento y mejoramiento de las técnicas de laboratorio. Correcciones de borradores. Aprobación de documento final.

*Salin Insignares:* trabajo de laboratorio. Escaneo de molar. Preparación de inyección y fresados. Preparación y correcciones de borradores. Aprobación de documento final.

*Yureinys Beleño:* trabajo de laboratorio. Escaneo de molar. Preparación de inyección y

fresados. Preparación y correcciones de borradores. Aprobación de documento final.

*Antonio Díaz Caballero:* seguimiento del proyecto. Ajustes metodológicos. Preparación y corrección de borradores. Aprobación de documento final.

## Referencias

1. Olley RC, Andiappan M, Frost PM. An up to 50-year follow-up of crown and veneer survival in a dental practice. *J Prosthet Dent* [Internet]. 2018 Jun [cited 2020 Jul 10];119(6):935–41. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022391317304328>
2. Rinke S. Clinical Evaluation of Chairside-Fabricated Partial Crowns Made of Zirconia Reinforced Lithium Silicate Ceramic - 2-Year-Results. *Eur J Prosthodont Restor Dent* [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2020 Jul 10];28(1):36–42. Available from: [http://doi.org/10.1922/EJPRD\\_2001Rinke07](http://doi.org/10.1922/EJPRD_2001Rinke07)
3. Turon-Vinas M, Anglada M. Strength and fracture toughness of zirconia dental ceramics. *Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater* [Internet]. 2018;34(3):365–75. Available from: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Strength+and+fracture+toughness+of+zirconia+dental+ceramics&filter=datesearch.y\\_1](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Strength+and+fracture+toughness+of+zirconia+dental+ceramics&filter=datesearch.y_1)
4. Zhang Y, Kelly JR. Dental Ceramics for Restoration and Metal Veneering. *Dent Clin North Am* [Internet]. 2017;61(4):797–819. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28886769/>
5. Elsaka SE, Elnaghy AM. Mechanical properties of zirconia reinforced lithium silicate glass-ceramic. *Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater* [Internet]. 2016;32(7):908–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27087687/>
6. Goujat A, Abouelleil H, Colon P, Jeannin C, Pradelle N, Seux D, et al. Mechanical properties and

- internal fit of 4 CAD-CAM block materials. *J Prosthet Dent* [Internet]. 2018 Mar;119(3):384–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28552287/>
7. Awada A, Nathanson D. Mechanical properties of resin-ceramic CAD/CAM restorative materials. *J Prosthet Dent* [Internet]. 2015 Oct;114(4):587–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27087687/>
  8. Furtado de Mendonca A, Shahmoradi M, Gouvêa CVD de, De Souza GM, Ellakwa A. Microstructural and Mechanical Characterization of CAD/CAM Materials for Monolithic Dental Restorations. *J Prosthodont Off J Am Coll Prosthodont* [Internet]. 2019 Feb;28(2):e587–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30121945/>
  9. Kang S-H, Chang J, Son H-H. Flexural strength and microstructure of two lithium disilicate glass ceramics for CAD/CAM restoration in the dental clinic. *Restor Dent Endod* [Internet]. 2013 Aug;38(3):134–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24010079/>
  10. Martínez-Rus F, Ferreira A, Özcan M, Bartolomé JF, Pradies G. Fracture resistance of crowns cemented on titanium and zirconia implant abutments: a comparison of monolithic versus manually veneered all-ceramic systems. *Int J Oral Maxillofac Implants* [Internet]. 2012 Dec;27(6):1448–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23189296/>
  11. Magne P, Cheung R. Numeric simulation of occlusal interferences in molars restored with ultrathin occlusal veneers. *J Prosthet Dent* [Internet]. 2017 Jan [cited 2020 Jul 12];117(1):132–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27511879/>
  12. Nishigawa K, Bando E, Nakano M. Quantitative study of bite force during sleep associated bruxism. *J Oral Rehabil* [Internet]. 2001 May [cited 2020 Jul 12];28(5):485–91. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2842.2001.00692.x>
  13. Zahran M, El-Mowafy O, Tam L, Watson PA, Finer Y. Fracture strength and fatigue resistance of all-ceramic molar crowns manufactured with CAD/CAM technology. *J Prosthodont Off J Am Coll Prosthodont* [Internet]. 2008 Jul;17(5):370–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18355164/>
  14. Liu Y, Wang Y, Zhang Q, Gao Y, Feng H. [Fracture reliability of zirconia all-ceramic crown according to zirconia coping design]. *Beijing Da Xue Xue Bao* [Internet]. 2014 Feb 18;46(1):71–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24535352/>
  15. Daniel Bacigalupe R, Ernesto Villablanca R. Uso de coronas sistema cad-cam en implantes osteointegrados. *Rev Médica Clínica Las Condes* [Internet]. 2014 Jan [cited 2020 Jul 12];25(1):158–65. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0716864014700227>
  16. Al-Akhali M, Chaar MS, Elsayed A, Samran A, Kern M. Fracture resistance of ceramic and polymer-based occlusal veneer restorations. *J Mech Behav Biomed Mater* [Internet]. 2017;74:245–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28633093/>
  17. Varga S, Spalj S, Lapter Varga M, Anic Milosevic S, Mestrovic S, Slaj M. Maximum voluntary molar bite force in subjects with normal occlusion. *Eur J Orthod* [Internet]. 2011 Aug;33(4):427–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21062965/>
  18. Sailer I, Benic GI, Fehmer V, Hämmerle CHF, Mühlemann S. Randomized controlled within-subject evaluation of digital and conventional workflows for the fabrication of lithium disilicate single crowns. Part II: CAD-CAM versus conventional laboratory procedures. *J Prosthet Dent* [Internet]. 2017 Jul;118(1):43–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28024819/>



# Relacion de la composición corporal y la velocidad de procesamiento cognitivo en estudiantes universitarios. Un estudio transversal

Relationship of body composition and speed of cognitive processing in college students. A cross-sectional study

Cristian Ermides Carrillo Ramírez<sup>1</sup>, Héctor Reynaldo TrianaReina<sup>2</sup>

## Resumen

**Introducción.** Existe una amplia discusión acerca del papel de la composición corporal en el desarrollo de funciones cognitivas como la velocidad de procesamiento (VPC), especialmente sobre la masa grasa. Además, pocos estudios -especialmente en Colombia- han explorado dicha relación en universitarios de diferentes áreas de conocimiento. **Objetivo.** Determinar la relación existente entre la velocidad de procesamiento cognitivo y la composición corporal, en estudiantes universitarios de Bogotá D.C., Colombia. **Materiales y métodos.** Estudio transversal de tipo descriptivo y correlacional en una muestra total de 122 estudiantes hombres aparentemente sanos (17 a 31 años) de diferentes áreas de conocimiento (72,1% de Cultura física y 27,9% de otras carreras), pertenecientes a universidades privadas del Distrito Capital. Se midieron parámetros antropométricos (talla, peso, circunferencia de cintura (CC)), variables de composición corporal (báscula de bioimpedancia); la VPC se evaluó mediante la Prueba de Adición en Serie Audible Estimulada (PASAT (60)-3”). El análisis estadístico se realizó empleando el software IBM SPSS V. 25 para el cálculo de los resultados. **Resultados.** Con una media de 20,9 (3,4) años, se identificó un Índice de Masa Corporal (IMC) de 40,5% en sobrepeso y 4,1% en obesidad. El PASAT (60)-3”) se relacionó de manera positiva con el IMC, porcentaje de grasa (%GC) y CC, negativamente con el porcentaje de masa muscular (%MM) en el grupo de otras carreras. Sin embargo, la VPC disminuida tenían mayor %GC, CC y %MM menor, en comparación con quienes tenían una VPC dentro de lo esperado ( $p = < 0,05$ ). **Conclusión.** La masa grasa parece tener influencia sobre la velocidad de procesamiento cognitivo, no obstante, dicha relación

1. Cultura Física, Deporte y Recreación, semillero del grupo de investigación GICAEDS, Universidad Santo Tomás de Aquino. Bogotá, Colombia.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2773-6360>

2. Cultura Física, Deporte y Recreación. GICAEDS de la Universidad Santo Tomás de Aquino, Bogotá, Colombia.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6334-7082>

no sigue un patrón claramente definido, parece comportarse de manera curva en donde valores extremos podrían afectar negativamente dicha función cognitiva. Aparentemente una composición corporal más saludable puede ser beneficiosa para la velocidad de procesamiento en universitarios.

**Palabras claves:** universidades, adulto joven, composición corporal, cognición, atención, sobrepeso.

### **Abstract**

**Introduction.** There is a wide discussion about the role of body composition in the development of cognitive functions such as processing speed, especially on fat mass. Furthermore, few studies that are being developed in Colombia, South America, have explored this relationship in college students from different areas of knowledge. **Objective.** To determine the relationship between cognitive processing speed (CPS) and body composition in college students from Bogotá D.C., Colombia. **Material and methods.** Cross-sectional descriptive and correlational study in a total sample of 122 apparently healthy male students (17 to 31 years old) from different areas of knowledge (72.1% from Physical Culture and 27.9% from other careers), belonging to private universities of the Capital District. Anthropometric parameters (height, weight, waist circumference (WC)), body composition variables (bioimpedance scale) were measured; CPS was assessed using the Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT (60) -3"). Statistical analysis was performed using the IBM SPSS V. 25 software to calculate the results. **Results.** With a mean of 20.9 (3.4) years, a Body Mass Index (BMI) of 40.5% was identified in overweight and 4.1% in obesity. PASAT (60) -3" was positively related to BMI, body fat percentage (% BF) and WC, negatively to muscle mass percentage (% MM) in the group of other races. However, the decreased CPS had a higher% CG, CC and% MM lower, compared to those who had a CPS within the expected ( $p = <0.05$ ). **Conclusion.** Fat mass seems to influence the cognitive processing speed; however, this relationship does not follow a clearly defined pattern, it seems to behave in a curved way where extreme values could negatively affect said cognitive function. Apparently, healthier body composition can be beneficial for processing speed in college students.

**Keywords:** universities, young adult, body composition, cognition, attention, overweight.

## Introducción

Actualmente la obesidad es considerada una epidemia que afecta aproximadamente a la mitad de la población mundial, 1900 millones (39%) de adultos con sobrepeso y a 650 millones (13%) con obesidad según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2016). En América Latina y Colombia la situación es similar (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) (Encuesta Nacional de la Situación Nutricional (ENSIN) 2015). Esto es un grave problema de salud pública dado que la obesidad es considerada un importante factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y metabólicas, las cuales son las de mayor carga de morbilidad en el mundo (Serrano, Castillo y Pajita, 2017). No obstante, también se ha reportado mayor prevalencia de disfunción y deterioro cognitivo, en especial cuando la masa muscular está disminuida. (Asaduroglu *et al.*). Es decir, que es capaz de alterar el conjunto de procesos mediante los cuales las personas adquieren, almacenan, recuperan y usan el conocimiento, tales como la atención, percepción, memoria, resolución de problemas, toma de decisiones y pensamiento en general (Rivas, 2008). Uno de los procesos más relevantes es la velocidad de procesamiento cognitivo (VPC), la cual puede ser entendida como una medida de la fluidez para la decodificación y el reconocimiento de información (Puertas, 2015), debido a que comprende el tiempo en el que una

persona ejecuta una tarea cognitiva simple y relativamente automatizada (Formoso, Jacobovich, Injoque-Ricle y Barreyro, 2018). La ralentización de dicha habilidad cognitiva puede afectar otros procesos cognitivos como lo son la memoria de trabajo, la memoria a largo plazo y la adquisición de nueva información (Lubrini, 2013). La evaluación de la VPC puede ser llevada a cabo por medio de la prueba neuropsicológica de Adición Serial Auditiva Pautada (PASAT, por sus siglas en inglés Paced Auditory Serial Addition Test) la cual ha sido utilizada generalmente como una prueba sensible para el diagnóstico clínico de la esclerosis múltiple, sin embargo, también ha sido tenida en cuenta para obtener una medida de atención mantenida, atención dividida (número de cosas que se pueden manejar a la par), inhibición de respuesta y memoria de trabajo en población joven aparentemente sana (Lopera, Lubert, Londoño y Martínez, 2019).

La obesidad se ha relacionado con deterioro cognitivo en adultos mayores (Martínez Secada, 2018) y en estudiantes universitarios (Alcaraz, Ramírez, Palafox y Reyes, 2015), disminución en la memoria, funciones ejecutivas y velocidad de procesamiento (Decckers, Van Boxtel, Verhey & Köhler, 2017). Además, patologías asociadas al exceso de peso corporal se relacionan con alteraciones sobre la cognición, por ejemplo, la hipertensión se ha asociado con disminución de la atención, reducción en la flexibilidad mental y alteración en la memoria y las habilidades de razonamiento abstracto. (Rivas

y Gaviria, 2000; De León, Milian, Camacho, Arevalo y Escarpin, 2009; Núñez et al., 2014; Pedraza, 2016). La diabetes produce daño a las células del cerebro, modificando la estructura y función cerebral y ocasionando deterioro de las funciones cognitivas (Zenteno-López et al., 2016), sin embargo, también hay evidencia que relaciona un mayor índice de masa corporal y masa grasa con un mejor desempeño cognitivo principalmente en adultos mayores (Tikhonoff, 2015; (Noh et al., 2017); Skinner, Abel, McCoy y Wilkins, 2017).

Debido a este panorama controversial, donde pueden influir múltiples factores como la edad, el nivel socioeconómico, el grado de escolaridad, los ingresos, entre otros, se hace necesario el estudio de la influencia de la composición corporal sobre funciones cognitivas como la VPC, además, en Colombia la mayoría de evidencia actual está centrada en adultos mayores y en poblaciones patológicas, descuidando un poco quizás a la población sana. Por ello, el objetivo de este estudio es determinar la posible relación entre la velocidad de procesamiento cognitivo con la composición corporal en una muestra de jóvenes universitarios de diferentes áreas del conocimiento de Bogotá, Colombia.

### ***Materiales y métodos***

Se realizó un estudio descriptivo y correlacional de corte transversal, en una muestra no probabilística de tipo intencional compuesta por 122 estudiantes (hombres) uni-

versitarios de 17 a 31 años, pertenecientes a tres instituciones privadas de la ciudad de Bogotá, en las cuales el 72,1% (n=88) pertenecían a la carrera de Cultura Física o afines y el 27,9% (n=34) a otras carreras, entre las que se encontraban algunas ingenierías, ciencias humanas, sociales y de salud. Para el estudio, todos los participantes se encontraban aparentemente saludables, se excluyeron aquellos individuos que refirieron en la encuesta de antecedentes personales o consulta médica en los últimos tres meses: cirugía o trauma mayor reciente, enfermedades endocrinas (diabetes mellitus, hipo e hipertiroidismo); enfermedades autoinmunes (lupus, psoriasis, enfermedades del colágeno); cáncer de cualquier etiología y alteraciones respiratorias o cardíacas significativas (ICC, EPOC, neumonías, asma y bronquitis), también fueron excluidos aquellos que hubieran consultado por un trastorno físico o mental en los últimos tres meses. Para esta investigación se tuvieron en cuenta los lineamientos vigentes para el estudio en seres humanos de la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia y los principios bioéticos en la Declaración de Helsinki, según los cuales esta investigación es considerada de riesgo mínimo (artículo 11). Todos los participantes cumplieron con el requisito de consentimiento informado, los datos recopilados fueron manejada cumpliendo los criterios de confidencialidad y privacidad.

## ***Variables antropométricas y de composición corporal***

Posterior a la realización del cuestionario de salud e información general, se solicitó a los participantes utilizar una pantaloneta (pantalón corto deportivo) y una camiseta para las mediciones, así mismo se dio instrucciones para que estuviesen descalzos y se retiraran cualquier joya u objeto metálico para la medición del peso corporal (kg) (Ramírez-Vélez, 2017), el cual se realizó mediante una balanza de piso de bioimpedancia (Marca TANITA® modelo BC-420MA®, Tokio, Japón) con un rango de 0 – 270 kg y una precisión de 0,1 kg, con la cual se obtuvo el porcentaje de grasa corporal (%GC), el peso (kg) de la masa grasa (MG), la masa magra o masa libre de grasa (MLG) y la masa muscular (MM), los valores obtenidos se interpretaron a partir de los rangos referentes de la báscula (Gallagher et al., 2000), el porcentaje de la masa muscular (%MM) fue calculado a partir de los valores obtenidos. La talla (cm) se registró en estiramiento con un tallímetro portátil marca SECA 213® (Hamburgo, Alemania), rango 0 - 220 cm de 1 mm de precisión. El índice de masa corporal (IMC) se calculó a partir de la fórmula  $IMC = \text{masa corporal (kg)} / \text{altura (m}^2\text{)}$ , para evaluar el estado del índice de masa corporal, se tuvieron en cuenta los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (WHO, 2000). La circunferencia de cintura (CC) (cm) se midió a nivel de la región más estrecha entre la última costilla, y el borde anterosuperior de la cresta ilíaca, en el caso en que no

era visible, la región más estrecha se registró en la mitad de estos dos puntos anatómicos, utilizando una cinta métrica metálica (Lufkin, W606PM®, Parsippany, NJ, EE. UU.) (ISFTAO, 2006). El proceso de evaluación fue llevado a cabo por personal capacitado.

## ***Velocidad de procesamiento cognitivo (VPC)***

La evaluación fue realizada a partir de la prueba neuropsicológica PASAT (por sus siglas en inglés), esta prueba fue creada por Gronwall (1977) y es considerada una medida válida y confiable de atención mantenida, atención dividida, inhibición de respuesta y velocidad de procesamiento, estandarizada para universitarios colombianos (Lopera, Lubert, Londoño y Martínez, 2019). Consiste en una serie de operaciones mediante una grabación de audio en las cuales se solicita al evaluado la suma continua de pares de números aleatorios que van del 1 al 9, se suman consecutivamente dichos pares, de tal manera, que cada número se agregue al inmediatamente anterior, es decir, si el estímulo 1, esta seguido por el número 9, la persona evaluada debe responder 10, si el siguiente estímulo es 4, la persona debería responder 13 (9+4). El total de la prueba consiste en el número de puntajes correctos entre 0 y 60 dígitos, que difieren entre sí en la duración del intervalo (2 y 3 segundos), para el estudio se utilizó la versión de 3 segundos (3”) y se identificó con la denominación PASAT (60)-3” en relación con el total de respuestas correctas

logradas (Strauss et al., 2006). Los participantes fueron citados de manera individual para realizar la prueba cognitiva en un salón completamente solo y con el menor ruido posible, la prueba fue aplicada por personal de psicología previamente capacitado.

### **Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se utilizó el programa Statistical Package for Social Science® software, versión 25 (SPSS; Chicago, IL, USA), la prueba de Levene fue utilizada para comprobar la homogeneidad de las varianzas de las variables empleadas. Un valor  $p < 0,05$  fue considerado como significativo. Se realizó una descripción de las variables cuantitativas (media, desviación estándar (DE)) y frecuencias relativas para las variables cualitativas. La prueba de correlación de Pearson ( $r$ ) fue utilizada para conocer la relación entre la velocidad de procesamiento cognitivo (VPC) y la composición corporal, además para conocer la diferencia entre las variables de composición corporal en los grupos que tenían un desempeño disminuido y esperado con respecto a la VPC. La prueba  $t$  student y chi-cuadrado de Pearson ( $X^2$ ) fue utilizada para determinar la diferencia de medias y proporciones, respectivamente.

### **Resultados**

Se evaluaron 122 hombres universitarios con una edad media de 20,9 (3,4), de acuer-

do con el índice de masa corporal (IMC) la mayoría se encontraba en normopeso (54,5%), sin embargo, se identificó un porcentaje considerable en exceso de peso (40,5% en sobrepeso y 4,1% en obesidad). Así mismo se encontró que el %GC para el grupo de “otras carreras” se encontraba elevado de acuerdo con la referencia (20,0-24,9%), en este mismo grupo se identificó un valor de circunferencia de cintura por encima del punto de corte ( $>90$  cm) (IDF, 2006). En cuanto al porcentaje de masa muscular (%MM), los estudiantes de Cultura física presentaron valores por encima del rango (33,3-39,3%), los demás se observaron en una condición de “normalidad”. En cuanto a la VPC, se utilizó como valor de referencia el punto de corte 25,2 (disminuido  $< 25,2$  = esperado) el cual fue identificado como “esperado” en la media del total de los individuos, un estudio realizado por Ozakbas, S. et al. (2016) en población sana de similares características y edad a la población estudio, encontró valores similares en relación con el nivel académico (media 44,3 (6,8)). Tabla1.

**Tabla 1.** Características de las variables antropométricas y VPC de los estudiantes universitarios.

Variable	Todos (n=122)	Cultura Física (n=88)	Otras carreras (n=34)	Valor p
Edad (años)	20,9 (3,4)	19,9 (2,7)	23,6 (3,6)	<0,002*
Talla (cm)	170,3 (7,3)	169,6 (8,0)	172,2 (4,6)	<0,007*
Peso (kg)	71,1 (12,3)	66,2 (9,8)	83,8 (8,2)	0,144
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24,4 (3,3)	22,9 (2,5)	28,1 (2,1)	0,078
GC (%)	18,9 (7,6)	15,6 (5,7)	27,3 (4,7)	0,205
MG (kg)	14,0 (7,4)	10,5 (4,3)	23,1 (5,7)	<0,000*
MLG (kg)	57,1 (7,5)	55,7 (8,1)	60,6 (3,7)	<0,000*
MM (kg)	46,3 (12,2)	52,7 (8,4)	31,1 (2,1)	<0,000*
MM (%)	66,7 (20,2)	79,17 (7,24)	37,30 (2,45)	<0,000*
CC (cm)	81,5 (10,3)	76,7 (6,3)	93,8 (8,2)	0,216
PASAT- total correctas (60)-3"	43,5 (9,5)	43,8 (9,8)	42,9 (8,7)	0,231

**Nota:** las variables continuas son reportadas en media (DE) y las categóricas como n (%). IMC: Índice de Masa Corporal. GC: Grasa Corporal. MG: Masa Grasa. MLG: Masa Libre de Grasa. MM: Masa Muscular. CC: Circunferencia de Cintura.  
\*Diferencias significativas entre grupos p<0,05 (prueba t).

**Fuente:** Elaboración propia.

Se observó además (Tabla 2.), que la mayoría de la población (84,4%) se encuentra dentro de lo esperado, sin embargo, cuando se analizó la VPC de acuerdo con la carrera estudiada se encontró que los de Cultura

Física tenían un mayor porcentaje de estudiantes dentro de lo esperado en comparación con los de otras carreras (94,3% vs 58,8%;  $X^2 = 23,499$ ;  $p = <0,001$ ).

**Tabla 2.** Distribución de la población según VPC - PASAT (60)- 3".

Categoría	Todos (n = 122)	Cultura Física (n=88)	Otras carreras (n=34)	X <sup>2</sup>	Valor p
Disminuido<25,2	19 (15,6)	5 (5,7)	14 (41,2)	23,499	<0,001
Esperado>=25,2	103 (84,4)	83 (94,3)	20 (58,8)		

**Nota:** valores expresados en n (%). Chi-cuadrado de Pearson (X<sup>2</sup>), \*valor significativo de p<0,001

**Fuente:** Elaboración propia.

### VPC y composición corporal

No se encontraron correlaciones significativas entre las respuestas correctas del PASAT (60)-3" con ninguna de las variables de

composición corporal cuando se analizó el grupo en general. No obstante, cuando se analizó el grupo en función de la carrera, el PASAT (60)-3" se correlacionó con la edad en el grupo de Cultura Física ( $r=0,255$ ;

$p=0,017$ ), y se correlacionó de manera directamente proporcional con el IMC ( $r=0,356$ ;  $p=0,039$ ), el %GC ( $r=0,430$ ;  $p=0,011$ ), la CC ( $r=0,342$ ;  $p=0,048$ ) e in-

versamente proporcional con el %MM ( $r=-0,379$ ;  $p=0,03$ ) en el grupo de otras carreras. Tabla 3.

**Tabla 3.** Correlación entre la VPC y la composición corporal, según la población.

Carrera PASAT (60)-3"	Edad (años)	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	GC (%)	MM (kg)	MM (%)	CC (cm)
Cultura física	0,255*	0,040	0,018	0,060	0,039	0,066
Otras carreras	-0,156	0,356*	0,430*	-0,063	-0,379*	0,342*
Todos	0,090	0,048	0,047	0,027	0,089	0,066

**Nota:** IMC: Índice de Masa Corporal. GC: Grasa Corporal. MG: Masa Grasa. MLG: Masa Libre de Grasa. MM: Masa Muscular. CC: Circunferencia de Cintura. Correlación de Pearson (r). \*Valor significativo para  $p<0,05$

**Fuente:** Elaboración propia.

De forma un poco contradictoria, se encontró que aquellos con una VPC disminuida ( $<25,2$ ) tenían una mayor edad (t student=3,126;  $P=0,005$ ), un mayor %GC (t student=2,262;  $p=0,025$ ), una mayor CC (t student=2,173;  $p=0,032$ ) y un %

MM menor (t student= -5,373;  $p<0,001$ ) en comparación con quienes tenían una VPC dentro de lo esperado, con respecto al IMC no se encontraron diferencias (t student=1,907;  $p=0,059$ ). Tabla 4.

**Tabla 4.** Características evaluadas según VPC.

Variable	Disminuido $<25,2$	Esperado $\geq 25,2$	t student	Valor p
Edad (años)	23,5 (4,0)	20,4 (3,1)	3,13	0,005**
Peso (kg)	75,5 (11,3)	70,3 (12,3)	1,71	0,089
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25,7 (3,2)	24,1 (3,3)	1,91	0,059
MG (kg)	17,5 (6,9)	13,3 (7,3)	2,28	0,025*
GC (%)	22,4 (6,7)	18,2 (7,6)	2,26	0,025*
MLG (kg)	58,1 (6,5)	56,9 (7,7)	0,63	0,532
MM (kg)	33,6 (7,2)	48,6 (11,5)	-7,09	$<0,001$ **
MM (%)	45,09 (15,0)	70,6 (18,5)	-5,37	$<0,001$ **
CC (cm)	86,2 (11,4)	80,6 (9,9)	2,17	0,032*
PASAT (60)-3"	31,4 (7,6)	45,7 (8,0)	-7,46	$<0,001$ **

**Nota:** valores reportados en media (DE). IMC: Índice de Masa Corporal. GC: Grasa Corporal. MG: Masa Grasa. MLG: Masa Libre de Grasa. MM: Masa Muscular. CC: Circunferencia de Cintura. Diferencias significativas entre grupos \* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$  (prueba t).

**Fuente:** Elaboración propia.



## Discusión

Los resultados de la presente investigación muestran un mayor porcentaje de masa muscular y menor grasa corporal en la población de la carrera de Cultura física con respecto a los estudiantes de otras carreras, lo cual puede influir en que el último grupo tenga un mayor porcentaje de personas con una VPC disminuida (<25,2). Además, los resultados obtenidos por los estudiantes de Cultura física en VPC son superiores a los reportados en universitarios de medicina de Brasil (Brooks *et al.*, 2011) y de ciencias sociales, humanas e ingenierías de Colombia (Lopera, Lubert, Londoño y Martínez, 2019) (33,6 y 35,4 vs 43,8 respectivamente).

Las relaciones halladas en este estudio son un poco contradictorias entre sí, en un primer momento al analizar el grupo de manera general no se encuentra ninguna relación entre la composición corporal y la VPC, sin embargo, cuando se analizaron los grupos por separado en otras carreras, se observan relaciones directamente proporcionales entre la VPC y el IMC ( $r=0,356$ ;  $p=0,039$ ), %GC ( $r=0,430$ ;  $p=0,011$ ), la CC ( $r=0,342$ ;  $p=0,048$ ) e inversamente proporcional con el %MM ( $r=-0,379$ ;  $p=0,03$ ). Esto concuerda con lo reportado en algunos estudios sobre la relación entre las funciones cognitivas como la memoria, atención, fluidez verbal, recuerdo tardío y razonamiento abstracto con el IMC, la masa grasa y la masa libre de grasa (Noh

*et al.*, 2017); Wirth, Smoliner, Sieber y Volker, 2011; Atkinson *et al.* 2007; Wirth, Bauer y Sieber, 2007; Tikhonoff, 2015) Aunque este último también reportaba que valores elevados en el índice cintura talla eran un determinante negativo de atención y funciones ejecutivas evaluadas con el MMSE (Mini-Mental Examen del estado) y la prueba de dibujo de reloj CLOX en mujeres.

No obstante, también se ha señalado que en seres humanos la obesidad produce cambios en las vías de señalización neurohormonales hipotalámicas. Por ejemplo, en el hipocampo del paciente obeso suelen aparecer cambios metabólicos que provocan el deterioro de éste, junto a alteraciones en el aprendizaje y una pérdida de la memoria, lo cual puede conllevar a amnesias y otras formas de deterioro cognitivo (Rothman y Mattson, 2009). Además, la mayoría de estos estudios se centraban en población geriátrica, razón por la cual la pérdida de peso y un IMC menor se asociaba con deterioro cognitivo podría explicarse a partir de la disminución de la masa muscular característica del envejecimiento y de trastornos como el síndrome de la fragilidad.

Para el estudio, los valores más elevados de masa muscular encontrados en el grupo de rendimiento esperado en comparación del disminuido ( $t$  student = -5,373;  $p < 0,001$ ), corroboran la importancia de la masa muscular en funciones como la VPC incluso en población joven donde no es muy habitual

la sarcopenia. En esta misma población estudios han reportado una menor cognición en quienes tenían un IMC elevado (Alcazar et al., 2015) o una menor condición física (Cid, Rojas, Godoy, Bahamondes y Vélez, 2019). Esta última, también se ha relacionado positivamente con la función cognitiva del adulto mayor, en capacidades como la velocidad de la marcha, el soporte de silla, el equilibrio permanente. (Rosano et al., 2004) y la capacidad aeróbica (Wang et al., 2015).

Una mejor condición física podría relacionarse con un mayor rendimiento cognitivo a través de la mejora de procesos fisiológicos como un aumento del flujo sanguíneo, un aumento de la vascularización, mejor aprovechamiento de glucosa a nivel cerebral, sinaptogénesis, mayor cantidad de neurotransmisores y neurogénesis, procesos que están regulados por diferentes sustancias como lo son el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-I), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), la testosterona y la insulina (Cotman & Berchtold, 2002; Uribe, Guzman, Marambio y Harrington, 2013). Además, el ejercicio físico tanto de resistencia como combinado en adultos con sobrepeso y obesidad a corto plazo ha demostrado producir mejoras sobre neurotróficos como el BDNF y el NT-3 (Domínguez et al., 2018) (Goldfield et al., 2018) y sobre funciones ejecutivas como la capacidad de atención y la inhibición cognitiva (Quintero et al., 2018).

Con respecto a las asociaciones encontradas en esta investigación, así como en las anteriores, no son tan fuertes, esto probablemente se deba a la complejidad que implica la cognición, pues esta se trata de procesos por los cuales las personas adquieren, almacenan, recuperan y usan el conocimiento e implican a su vez una serie de capacidades como la atención, percepción, memoria, resolución de problemas, toma de decisiones y pensamiento en general (Rivas, 2008). Los cuales dependen de múltiples factores y estímulos como los encontrados por (Orrell et al., 2014) quienes afirman que factores como la diabetes mellitus, hiperinsulinemia, sobrepeso u obesidad, síndrome metabólico, nivel educativo, actividad física, estimulación cognitiva, estado civil y calidad de la dieta podrían estar relacionados con el declive cognitivo antes de los 65 años.

Respecto a la contradicción de la evidencia científica actual, se puede observar que indicadores como el IMC y la masa grasa en términos de salud se comportan de manera curva, e ir a cualquiera de los dos extremos (malnutrición o sobre nutrición) acarrea problemas en la salud. Además, de que muchos de estos estudios no reportaron los resultados de la masa muscular, la cual en nuestro estudio parece ser más determinante con respecto a la VPC. Lo cual sugiere que programas de entrenamiento de fuerza muscular en universitarios podría ser beneficioso para el desarrollo de funciones cognitivas, la prevención de deterioro cognitivo y la mejora del rendimien-

to cognitivo, además, de que constituye un factor protector frente a indicadores de riesgo cardiovascular (Zea, León, Botero, Afanador & Pinzón, 2014).

Dentro de las limitaciones del estudio, se destaca que, al ser un diseño transversal, impide hacer inferencias causales entre la composición corporal y la función cognitiva. Por otro parte, debido al tamaño relativamente pequeño de la muestra y a las características particulares de esta, los resultados pueden no representar bien a la población general de jóvenes universitarios, la cual en la actualidad suele caracterizarse por presentar diferentes factores de riesgo cardiovascular de manera temprana, también se sugiere estudiar el comportamiento de estas variables en población femenina.

## Conclusión

Mayores valores de masa muscular y menores de grasa corporal se asociaron con un mejor rendimiento cognitivo en funciones como la velocidad de procesamiento, la atención y el control inhibitorio en jóvenes universitarios aparentemente saludables, el mecanismo fisiológico subyacente no está claramente definido. En futuras investigaciones se recomienda ampliar el tamaño de la muestra, incluir a la población femenina al igual que población universitaria de diferentes áreas y con un perfil cardio metabólico menos saludable, al igual que probar con diseños experimentales que permitan dilu-

cidar la interacción entre la masa muscular y las funciones cognitivas mediadas por el sistema nervioso central.

---

## Agradecimientos

Los autores agradecen a los estudiantes del Semillero de Investigación en Actividad Física para la Salud (SIAFS) del Grupo de Investigación en Ciencias Aplicadas al Ejercicio físico, el Deporte y la Salud (GICAEDS) del programa de Cultura Física, Deporte y Recreación de la Universidad Santo Tomas (Bogotá), por su colaboración y participación en la recolección de información, así mismo a, Viviana Rincón-Quintero por su aporte logístico, a Leticia Catalina Beltrán-Requeneth y Kely Johana Bonilla-Vargas por el manejo y orientación de las pruebas neuropsicológicas.

## Referencias

1. Alcaraz-Ortíz, M. R., Ramírez-Flores, D., Palafox-López, G. I., & Reyes-Hernández, J. U. (2015). El déficit cognitivo relacionado con el índice de masa corporal elevado. *Vertientes. Revista Especializada en Ciencias de la Salud*, 18(1). Recuperado de: <https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wp-content/Portal2015/publicaciones/revistas/vertientes/Volumen18/5Deficit-jul23.pdf>
2. Asaduroglu, A. V., Tablada, M., Bai, J. C., Carrillo, M., Canale, M., & Gallerano, R. (2015). Perfil corporal y función física y cognitiva según edad en mujeres mayores ambulatorias de la ciudad de Córdoba. *Revista de la facultad de Ciencias Médicas*,

- 72(2). -Recuperado de: [http://revista.webs.fcm.unc.edu.ar/files/2015/07/art.orig\\_.2.pdf](http://revista.webs.fcm.unc.edu.ar/files/2015/07/art.orig_.2.pdf)
3. Atkinson, H. H., Rosano, C., Simonsick, E. M., Williamson, J. D., Davis, C., Ambrosius, W. T., ... Kritchevsky, S. B. (2007). Cognitive Function, Gait Speed Decline, and Comorbidities: The Health, Aging and Body Composition Study. *The Journals of Gerontology: Series A*, 62(8), 844–850. doi:10.1093/gerona/62.8.844
  4. Becerra, C., Reigal, R., Hernández, A. y Tamayo, I. (2013). Relaciones de la condición física y la composición corporal con la autopercepción de salud. *Revista internacional de ciencias del deporte*, 34 (9). 305- 318.
  5. Brooks, J. B. B., Giraud, V. O., Saleh, Y. J., Rodrigues, S. J., Daia, L. A., & Fragoso, Y. D. (2011). Paced auditory serial addition test (PASAT): a very difficult test even for individuals with high intellectual capability. *Archivos de neuro-psiquiatria*, 69(3), 482-484.
  6. Cotman, C. & Berchtold, N. (2002). Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neuroscience*, 25, 295-301
  7. De León-Arcila, R., Milián-Suazo, F., Camacho-Calderón, N., Arévalo-Cedano, R. E., & Escartín-Chávez, M. (2009). Factores de riesgo para deterioro cognitivo y funcional en el adulto mayor. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 47(3), 277-284.
  8. Deckers, K., Van Boxtel, M., Verhey, F. & Köhler, S. (2017). Obesity and cognitive decline in adults: effect of methodological choices and confounding by age in a longitudinal study. *Journal of Nutrition Health and Aging*, 21(5), 546-553.
  9. Domínguez-Sánchez, M. A., Bustos-Cruz, R. H., Velasco-Orjuela, G. P., Quintero, A. P., Tordecilla-Sanders, A., Correa-Bautista, J. E., ... Ramírez-Vélez, R. (2018). Acute Effects of High Intensity, Resistance, or Combined Protocol on the Increase of Level of Neurotrophic Factors in Physically Inactive Overweight Adults: The BrainFit Study. *Frontiers in physiology*, 9, 741. doi:10.3389/fphys.2018.00741
  10. Formoso, J., Jacobovich, S., Injoque-Ricle, I., & Barreyro, J. P. (2018). Resolution of arithmetic problems, processing speed and working memory in children. *Trends in Psychology*, 26(3), 1249-1266.
  11. Gallagher, D., Heymsfield, S. B., Heo, M., Jebb, S. A., Murgatroyd, P. R., & Sakamoto, Y. (2000). Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(3), 694–701. <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.3.694>
  12. Goldfield, G. S., Kenny, G. P., Prud'homme, D., Holcik, M., Alberga, A. S., Fahnestock, M., ... & Tremblay, M. S. (2018). Effects of aerobic training, resistance training, or both on brain-derived neurotrophic factor in adolescents with obesity: the HEARTY randomized controlled trial. *Physiology & behavior*, 191, 138-145.
  13. Gronwall, D. M. A. (1977). Paced Auditory Serial-Addition Task: A Measure of Recovery from Concussion. *Perceptual and Motor Skills*, 44(2), 367–373. doi:10.2466/pms.1977.44.2.367
  14. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (2015). Encuesta Nacional de Situación Nutricional - ENSIN 2015. <https://www.icbf.gov.co/bienestar/nutricion/encuesta-nacional-situacion-nutricional>
  15. International diabetes federation. The IDF consensus worldwide definition of the Metabolic Syndrome. Bruselas, 2006.
  16. ISFTAO, K. (2006). Normas Internacionales para la Valoración Antropométrica. República de Sudáfrica: International Society for the Advancement of Kinanthropometry (ISAK).
  17. Lopera, I. C. P., Lubert, C. D., Londoño, D. M. M., & Martínez, D. L. (2019). Estandarización de pruebas neuropsicológicas para la evaluación de la atención en estudiantes universitarios (standardi-

- zation of a protocol of neuropsychological tests for the assessment of attention in college students). *CES Psicología*, 12(1), 17-31.
18. Lubrini, G. (2013). Velocidad de procesamiento de la información en esclerosis múltiple (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
  19. Malo-Serrano, Miguel, Castillo M, Nancy, & Pajita D, Daniel. (2017). La obesidad en el mundo. *Anales de la Facultad de Medicina*, 78(2), 173-178. Recuperado de: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832017000200011](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832017000200011)
  20. Martínez Secada, C. E. (2018). Deterioro cognitivo asociado a sobrepeso y obesidad en pacientes geriátricos hospitalizados del Hospital Regional Honorio Delgado Espinoza. Recuperado de: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/5640>
  21. Naranjo, I. C., & Moreno, J. M. R. (2008). Hipertensión arterial y función cognitiva. *Medicina clínica*, 130(14), 542-552. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002577530871501X>
  22. Noh, H., Oh, S., Song, H. J., Lee, E. Y., Jeong, J., Ryu, O., Hong, K., & Kim, D. (2017). Relationships between cognitive function and body composition among community-dwelling older adults: a cross-sectional study. *BMC Geriatrics*, 17(1), 259. <https://doi.org/10.1186/s12877-017-0651-9>
  23. Núñez, A. M., Sobrero, M., Guzmán, L., Rico, V. E., Díaz Kuaik, I., Novarese, M., & Koskimies, J. (2014). Hipertensión: perfil psicológico y detección de deterioro cognitivo con Rorschach y mini batería de eficiencia cognitiva. *Anuario de investigaciones*, 21(1), 277-284. Recuperado de: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-16862014000100029](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-16862014000100029)
  24. Orrell, M., Aguirre, E., Spector, A., Hoare, Z., Woods, R. T., Streater, A., Donovan, H., Hoe, J., Knapp, M., Whitaker, C., & Russell, I. (2014). Maintenance cognitive stimulation therapy for dementia: single-blind, multicentre, pragmatic randomised controlled trial. *British Journal of Psychiatry*, 204(6), 454-461. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.113.137414>
  25. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2016). Panorama de la Seguridad Alimentaria y Nutricional en América Latina y el Caribe. Recuperado de: [https://www.paho.org/col/index.php?option=com\\_content&view=article&id=2686:sobrepe-so-afecta-a-casi-la-mitad-de-la-poblacion-de-todos-los-paises-de-america-latina-y-el-caribe-salvo-por-haiti&Itemid=562](https://www.paho.org/col/index.php?option=com_content&view=article&id=2686:sobrepe-so-afecta-a-casi-la-mitad-de-la-poblacion-de-todos-los-paises-de-america-latina-y-el-caribe-salvo-por-haiti&Itemid=562)
  26. Organización Mundial de la Salud (OMS), Nota descriptiva N°311 junio de 2016. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
  27. Ozakbas, S., Cinar, B. P., Gurkan, M. A., Ozturk, O., Oz, D., & Kursun, B. B. (2016). Paced auditory serial addition test: National normative data. *Clinical neurology and neurosurgery*, 140, 97-99.
  28. Pedraza, O. L., Perilla, H. J., Cruz, A., Botero, J. A., Montalvo, M. C., Salazar, A. M., ... & Plata, S. J. (2016). Deterioro cognitivo y factores de riesgo cardiovascular y metabólico en una muestra de adultos de Bogotá. *Acta Neurológica Colombiana*, 32(2), 91-99. Recuperado de: [https://www.researchgate.net/publication/312241531\\_Deterioro\\_cognitivo\\_y\\_factores\\_de\\_riesgo\\_cardiovascular\\_y\\_metabolico\\_en\\_una\\_muestra\\_de\\_adultos\\_de\\_Bogota](https://www.researchgate.net/publication/312241531_Deterioro_cognitivo_y_factores_de_riesgo_cardiovascular_y_metabolico_en_una_muestra_de_adultos_de_Bogota)
  29. Puertas, S. (2015). Diferencias en la velocidad de procesamiento, en niños con dislexia vs. controles, medidas con potenciales evocados de larga latencia (P300). Doctorado. Universidad Nacional de Colombia.
  30. Quintero, A. P., Bonilla-Vargas, K. J., Correa-Bautista, J. E., Domínguez-Sánchez, M. A., Triana-Reina, H. R., Velasco-Orjuela, G. P., ... & Ramírez-Vélez, R. (2018). Acute effect of three different exercise training modalities on executive function in overweight inactive men: A secondary

analysis of the BrainFit study. *Physiology & behavior*, 197, 22-28.

31. Ramírez-Vélez, R., Correa-Bautista, J. E., Sanders-Tordecilla, A., Ojeda-Pardo, M. L., Cobo-Mejía, E. A., Castellanos-Vega, R., ... González-Ruíz, K. (2017). Percentage of Body Fat and Fat Mass Index as a Screening Tool for Metabolic Syndrome Prediction in Colombian University Students. *Nutrients*, 9(9), 1009. doi:10.3390/nu9091009
32. Rivas Navarro, M. (2008). Procesos cognitivos y aprendizaje significativo. Comunidad de Madrid. Consejería de Educación. Viceconsejería de Organización Educativa.
33. Rivas, Juan Carlos, & Gaviria, Moisés. (2000). Hipertensión Arterial Y Déficit Cognitivo. *Revista Colombiana de Psiquiatría*, 29(2), 105-117. Recuperado de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-74502000000200003&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74502000000200003&lng=en&tlng=es).
34. Rosano, C., Simonsick, E. M., Harris, T. B., Kritchevsky, S. B., Brach, J., Visser, M., ... Newman, A. B. (2004). Association between Physical and Cognitive Function in Healthy Elderly: The Health, Aging and Body Composition Study. *Neuroepidemiology*, 24(1-2), 8-14. doi:10.1159/000081043
35. Rothman, S. M., & Mattson, M. P. (2009). Adverse Stress, Hippocampal Networks, and Alzheimer's Disease. *NeuroMolecular Medicine*, 12(1), 56-70. doi:10.1007/s12017-009-8107-9
36. Sillero, M. (2005). Medidas Antropométricas. Facultad deficiencias de la actividad física y del deporte (INEF)-Tema, 2, 38-39.
37. Skinner, J., Abel, W., McCoy, K. & Wilkins, C. (2017). Exploring the «Obesity Paradox» as a correlate of cognitive and physical function in communitydwelling black and white older adults. *Ethnicity & Disease*, 27(4), 387-394.
38. Strauss, E., Sherman, E. M. S., & Spreen, O. (2006). A compendium of neuropsychological tests: Administration, norms, and commentary, 3rd ed. Oxford University Press.
39. Tikhonoff, V., Casiglia, E., Guidotti, F., Giordano, N., Martini, B., Mazza, A., Palatini, P. (2015). Body fat and the cognitive pattern: A population-based study. *Obesity*, 23(7), 1502-1510. doi:10.1002/oby.21114
40. Uribe, D. R., Guzmán, C. S., Marambio, M. M., & Harrington, M. V. (2013). Ejercicio físico y su influencia en los procesos cognitivos. *Revista Motricidad y Persona*, (13), 69-74.
41. Wang, C., Liang, W., Tseng, P., Muggleton, N., Juan, C. & Tsai, C. (2015). The relationship between aerobic fitness and neural oscillations during visuospatial attention in young adults. *Experimental Brain Research*, 233(4), 1069- 1078
42. Wirth, R., Bauer, J. M., & Sieber, C. C. (2007). Cognitive function, body weight and body composition in geriatric patients. *Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie*, 40(1), 13-20.
43. Wirth, R., Smoliner, C., Sieber, C. C., & Volkert, D. (2011). Cognitive function is associated with body composition and nutritional risk cognitive function is associated with body composition and nutritional risk of geriatric patients. *The journal of nutrition, health & aging*, 15(8), 706-710.
44. World Health Organization. (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic (No. 894). World Health Organization.
45. Zea, R., León A., Botero R., Afanador, C., & Pinzón, B. (2014). Factores de riesgo cardiovascular y su relación con la composición corporal en estudiantes universitarios. *Revista de Salud Pública*, 16, 505-515.
46. Zenteno-López, M. A., Pérez-Martínez, G. P., Báez-Hernández, F. J., & García-Madrid, G. (2016). Función cognitiva en el adulto mayor con y sin diabetes tipo 2. *Revista Científica De La Sociedad Española De Enfermería Neurológica*, 44, 3-8. <https://doi.org/10.1016/j.sedene.2016.05.002>

# Análisis de las temáticas y enfoques de los artículos publicados en la Revista NOVA en el periodo comprendido entre 2014 y 2019

Analysis of the topics and approaches of the articles published in the Scientific Publication NOVA in the period between 2014 and 2019

Olga Lucía Ostos Ortiz<sup>1</sup>, Oscar Yecid Aparicio Gómez<sup>2</sup>, Johana Lizeth Gonzales Devia<sup>3</sup>, Sonia Marcela Rosas Arango<sup>4</sup>

## Resumen

**Objetivo.** Identificar los enfoques y temáticas publicadas en la Revista Nova en los últimos 5 años y realizar una descripción narrativa de los mismos. **Metodología.** Revisión documental y análisis de las contribuciones teóricas y empíricas producidas durante el periodo comprendido entre 2014 y 2019 de publicación de la Revista NOVA. **Resultados.** Se identificaron dos enfoques: área médica y ciencias biológicas y seis temáticas relevantes: 1. Enfermedades infecciosas y resistencia bacteriana, 2. Enfermedades raras y neurodegenerativas, 3. Enfermedades tropicales, 4. Enfermedades metabólicas y diagnóstico prenatal, 5. Enfermedades cardiovasculares y hematológicas, 6. Biotecnología y calidad del agua. **Conclusiones.** La Revista NOVA ha realizado importantes contribuciones a la divulgación científica desde las áreas de la salud y biológicas, particularmente en seis temáticas de relevancia para el país y el mundo.

**Palabras claves:** enfermedades infecciosas, resistencia bacteriana, enfermedades raras, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades tropicales, enfermedades metabólicas, diagnóstico prenatal, enfermedades cardiovasculares, enfermedades hematológicas.

---

1. Dirección de Investigación, Universidad Santo Tomás.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6477-9872>.

2. Doctor en Filosofía (2006) y Doctor en Educación (2015) por la Universidad de Barcelona. Profesor y Editor.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3535-6288>

3. Docente Dirección de Investigación, Universidad Santo Tomás.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4162-6678>

4. Docente Dirección de Investigación, Universidad Santo Tomás.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9847-5447>

Correo electrónico de correspondencia: [oscar.yecid@gmail.com](mailto:oscar.yecid@gmail.com)

## Abstract

**Objective.** Identify the approaches and topics published in Nova in the last 5 years and make a narrative description of them. **Methodology.** Documentary review and analysis of the theoretical and empirical contributions produced during the period of the last 5 years of publication of the NOVA. **Results.** Two approaches were identified: medical and biological sciences area and six relevant topics: 1. Infectious diseases and bacterial resistance, 2. Rare and neurodegenerative diseases, 3. Tropical diseases, 4. Metabolic diseases and prenatal diagnosis, 5. Cardiovascular and hematological diseases, 6. Biotechnology and water quality. **Conclusions.** NOVA Scientific Publication has made important contributions to scientific dissemination from the health and biological areas, particularly on six topics of relevance to the country and the world.

**Keywords:** infectious diseases, bacterial resistance, rare diseases, neurodegenerative diseases, tropical diseases, metabolic diseases, prenatal diagnosis, cardiovascular diseases, hematological diseases.

---

## Introducción

La Revista Nova Publicación científica ha sido editada desde el año 2001 de manera ininterrumpida, y actualmente es coeditada por la Universidad Nacional Abierta y a Distancia-UNAD- y la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca -Unicolmayor- en Colombia.

La Revista NOVA ISSN 17942470 ha publicado más de 400 artículos en ciencias biomédicas en diferentes temáticas y ha sido indexada en importantes bases bibliográficas en el ámbito mundial.

En el presente artículo se presenta la revisión de los artículos publicados en el periodo comprendido entre 2014 y 2019 con

el propósito de identificar los enfoques, temáticas, y analizar el alcance, visibilidad e impacto de la publicación.

Se revisaron los artículos publicados en este periodo, se establecieron los enfoques y temáticas más relevantes abordadas. En cada sección, se presenta una introducción para contextualizar al lector y se realiza una descripción narrativa de cada temática. Los resultados obtenidos constituyen insumos importantes que permitirán revisar la política, con el objetivo de trazar lineamientos editoriales más pertinentes y coherentes con la dinámica misma de la publicación, mejorando la calidad científica, editorial y los niveles de visibilidad e impacto.



## Metodología

### Revisión de la literatura: procedimiento

En esta sección se describe, paso a paso, el procedimiento que se llevó a cabo para identificar los estudios claves que dan línea a la contribución científica de esta investigación. Aquí se describe entonces el procedimiento de revisión de la literatura para identificar dichos estudios, la manera como fueron seleccionados, los resultados alcanzados en la revisión, la forma como se revisó el contenido de los artículos y la revisión narrativa que se deriva de este proceso.

Específicamente, la revisión sistemática de la literatura se llevó a analizando la totalidad de artículos en la Revista NOVA. Se debe destacar que esta revisión se centró en contribuciones teóricas y empíricas producidas durante el periodo comprendida en los últimos 5 años. La elección de este periodo se fundamenta en que la revisión de este tiempo permite revisar el enfoque,

alcances, visibilidad e impacto de la Revista con el objetivo de trazar lineamientos editoriales más pertinentes y coherentes con la dinámica misma de la publicación.

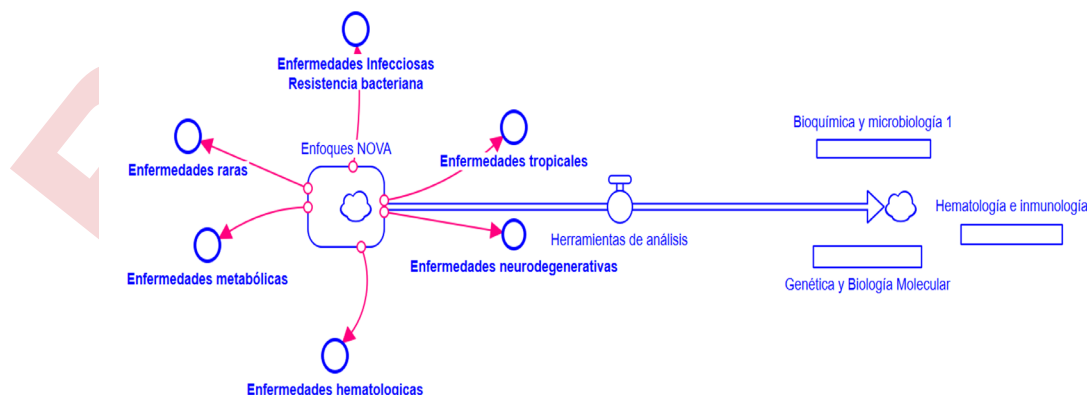
## Resultados

Se identificaron 5 grandes temáticas en el enfoque de ciencias médicas en los que se ha especializado la Revista NOVA en los últimos 5 años:

1. Enfermedades infecciosas y resistencia bacteriana
2. Enfermedades raras y neurodegenerativas
3. Enfermedades tropicales
4. Enfermedades metabólicas y diagnóstico prenatal
5. Enfermedades cardiovasculares y hematológicas

En la figura 1 se presentan los enfoques identificados y las herramientas de análisis más utilizadas, Figura 1.

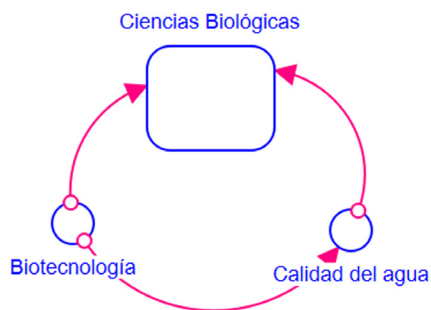
**Figura 1.** Esquema de enfoques temáticos en ciencias médicas y herramientas de análisis de los artículos publicados en la Revista NOVA en los últimos 5 años.



Fuente: Elaboración propia.

Por otra parte, en el área de ciencias biológicas NOVA se ha enfocado en la temática de biotecnología y calidad del agua.

**Figura 2.** Esquema de enfoques temáticos en el área biológica de los artículos publicados en la Revista NOVA en los últimos 5 años.



Fuente: Elaboración propia.

Temáticas identificadas del área médica; a continuación se describen cada uno de los enfoques 5 identificados, iniciando con una introducción al tema que busca contextualizar al lector y posteriormente se presenta una descripción narrativa de los hallazgos más importantes que en dicho contexto se han publicado en la Revista Nova.

### **Tema 1. Enfermedades Infecciosas y Resistencia bacteriana**

Los antibióticos han salvado millones de vidas, y además han supuesto una revolución en la medicina. Sin embargo, una amenaza creciente deteriora la eficacia de estos fármacos: la resistencia bacteriana a los antibióticos, que se define como la capacidad de una bacteria para sobrevivir en concen-

traciones de antibiótico que inhiben o matan a otras de la misma especie(1).

En 2008 se reportó la enzima NDM-1 que genera resistencia a carbapenémicos. Así mismo, se han identificado diversos mecanismos de resistencia, principalmente a betalactámicos y aminoglucósidos. Cuando se presenta la enzima, la posibilidad que existan genes asociados para la producción de resistencias es alta, generando así que se presenten mecanismos que evitan la acción del antibiótico haciendo difícil implementar un tratamiento efectivo (1)

Así mismo, durante los últimos años se ha visto un gran avance en la microbiología. Sin embargo, una de las grandes limitaciones a las que se venían enfrentando los microbiólogos era no poder acceder a la totalidad de los microorganismos que habitan el planeta, gracias al desarrollo de diferentes disciplinas como la metagenómica se ha logrado tener el acceso a estos microorganismos (2).

La importancia de la metagenómica en la resistencia microbiana radica en que, actualmente, solo el 1% de los microorganismos que habitan el suelo pueden ser estudiados por técnicas convencionales de microbiología, quedando alrededor del 99% de estos sin estudiar. Al mitigar este gran inconveniente, la metagenómica permite el estudio de la microbiota del suelo en su totalidad generando nuevo conocimiento e información relevante en diferentes campos científicos(2).

Mediante la metagenómica funcional se ha podido determinar que el suelo puede ser un posible reservorio de determinantes de resistencia microbiana, debido a que la microbiota que allí habita contiene en su material genético genes de resistencia a antibióticos que confieren resistencia a un amplio espectro de antibióticos utilizados en terapia humana de forma indiscriminada y además tienen todos los mecanismos de resistencia conocidos, algunos de estos genes son generados por presión selectiva ante diferentes agentes presentes en su medio y otros son genes constitutivos que cumplen con funciones significativas en su hábitat. El gran impacto que tienen estos hallazgos está dado en que pueden representar un posible riesgo en salud pública si se adquieren por los patógenos humanos(1, 2).

Por otra parte, los factores de adhesión son determinantes de virulencia que se expresan en microorganismos que tienen la capacidad de formar biopelículas, contribuyendo a la gravedad de infecciones intrahospitalarias. Dentro de estos componentes de la superficie microbiana que reconocen moléculas de adhesión de matriz conocidas como MSCRAMMs, se incluyen el factor de unión a fibronectina A y B, (FnBA y B) factor de aglutinación A y B (ClfA y B) y factor de unión a fibrinógeno (Fib), que se han descrito en *Staphylococcus aureus* y reaccionan con proteínas de la matriz extracelular humana (3).

Pinilla y col, estudiaron la presencia de los factores de adhesión relacionados con la

formación de biopelícula en *Staphylococcus*, para lo cual caracterizaron fenotípica y genotípicamente 30 aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, provenientes de pacientes inmunocomprometidos en tres instituciones hospitalarias de Bogotá. La producción de biopelícula se determinó mediante rojo congo y cristal violeta y mediante PCR convencional y múltiple se amplificaron los genes FnBA y B, ClfA y B y Fib, así como los genes del operón ica ADBC(3).

En dicho estudio todos los aislamientos clínicos fueron positivos genotípica y fenotípicamente para la producción de biopelícula, encontrándose la presencia del operón completo en el 88.9%, los factores ClfA y ClfB en un 70%; Fib en un 60%, FnBB en un 23% y FnBA en el 17%. En este estudio se evidenció la presencia de estos factores de virulencia en *S. epidermidis*, los cuales hasta el momento se han reportado únicamente en *S. aureus*. Este hallazgo es importante ya que se sugiere la relación con transferencia horizontal de genes entre estas especies, siendo el *S. epidermidis* un importante reservorio genético, y un importante patobionte causal de infecciones nosocomiales, asociado con dispositivos médicos(3). Así mismo, se han informado importantes aplicaciones de la metabolómica en resistencia bacteriana y en el estudio de la exposición a plaguicidas(4).

Por otra parte, técnicas de biología molecular como PCR múltiple en tiempo real y RT-PCR cobran importancia en el análisis

de genes relacionados con resistencia bacteriana y son utilizados cada vez más para el diagnóstico de virus respiratorios, mostrando ser métodos superiores en comparación a métodos tradicionales, como cultivo y detección de antígenos(5).

En dicho contexto, la búsqueda de terapias alternativas es fundamental para mitigar dichos efectos. Con dicho propósito se identificaron las plantas con valor de uso medicinal usadas en la comunidad de San Basilio de Palenque entre el 2009 y el 2014. Se registró el uso medicinal de 135 plantas, de las cuales se identificaron 57 especies y 124 géneros pertenecientes a 58 familias botánicas. Lo anterior permitió establecer la relación entre la historia social de usos medicinales que vincula a África y América, así como una clasificación por temperaturas (frío-caliente) que enlazan directamente el ciclo de vida de la planta, el territorio y el cuerpo humano. Los resultados indican una relación ser humano-territorio-uso medicinal, lo que determina la posología del tratamiento y el ciclo vital de la planta(6).

### *Chlamydia trachomatis*

La Revista NOVA ha publicado interesantes artículos en *Chlamydia trachomatis* (CT), una de las causas más frecuentes de infecciones de transmisión sexual (ITS) y morbilidad reproductiva en el mundo, Incluye tanto países desarrollados como en vía de desarrollo, con un reporte alrededor de 92 millones de casos anuales(7).

CT es una bacteria intracelular obligada cuyo inicio de la infección es asintomático, causa infección crónica, puede generar infección persistente y complicaciones como cáncer de ovario. Las infecciones por CT son asintomáticas en el 70% de las mujeres y el 40% de los hombres, lo que dificulta el diagnóstico en las fases tempranas de la infección y el tratamiento oportuno, lo que conlleva a un aumento en los contagios en la población(7).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el tratamiento para CT incluye la utilización de antibióticos tipo tetraciclinas, macrólidos y fluoroquinolonas. Sin embargo, a pesar de su alta tasa de eficacia, cada vez son más recurrentes las infecciones. Reportes recientes han demostrado resistencia por parte de los cuerpos elementales y se ha podido determinar que los antibióticos disminuyen la población de lactobacillus vaginales beneficiosos, causando mayores complicaciones en los pacientes. Basados en estos hallazgos, las investigaciones actuales se han centrado en terapias alternativas que reduzcan la actividad antichlamydia y que sean de libre acceso, generando el menor daño posible en los pacientes(8, 9).

CT genera la expresión de proteínas tipo HSP, una de estas proteínas es la HSP60 Clamidal (cHSP60) posee una homología del 50% con respecto a la proteína HSP60 humana, la asociación entre la respuesta inmune a cHSP60 y secuelas de la infección por CT generadas por la inflamación

crónica, conduce al desarrollo de cáncer de ovario, patología que según la OMS es uno de los cánceres ginecológicos más letales y ocupa el quinto lugar en muertes por cáncer entre las mujeres(10).

De esta forma, la presencia de la cHSP60 ocasiona una respuesta de anticuerpos prolongada como una fuente de estimulación antigénica e inflamación crónica, ocasionando reactividad cruzada que se asocia al desarrollo de cáncer de ovario(10)

En dicho contexto, los cultivos celulares se han convertido en herramientas esenciales para la investigación básica. La línea celular HEP-2 (*Human Epidermoid Cancer Cells*) es utilizada en estudios de infección con diferentes bacterias, entre ellas *Chlamydia trachomatis* (CT), con el fin de determinar los mecanismos por los cuales este patógeno sobrevive en la célula huésped. También se emplea para observar la acción de péptidos antimicrobianos y de extractos para combatir la infección causada por dicha bacteria (11).

Jutinico y colaboradores realizaron curvas de crecimiento en la línea celular HEP-2 con medios DMEM-F12 y MEM. Estandarizaron la coloración con Giemsa y calcularon el doblaje poblacional con diferentes inóculos para evaluar el desarrollo de la línea celular en cultivo y seleccionaron las condiciones óptimas para realizar futuros ensayos de infección con parásitos intracelulares, en particular con CT serovar L2(12).

*Chlamydia trachomatis* es capaz de inhibir la apoptosis de la célula huésped durante su ciclo de desarrollo, obteniendo un refugio seguro para su supervivencia. Frente a estímulos como la infección de la célula por un patógeno, la familia de proteínas Bcl-2 regula la apoptosis por medio de la liberación del Citocromo C de la mitocondria para desencadenar la muerte celular programada (MCP). CT utiliza diversos mecanismos de regulación antiapoptótica para sobrevivir dentro de la célula huésped; dentro de ellos se observa la secreción de proteínas tales como CPAF y CADD, la escisión de la proteína Bid, el secuestro de Bad y en general el bloqueo de proteínas pertenecientes a la familia Bcl-2 con dominio BH3, que afectan directamente la vía mitocondrial ocasionando la persistencia, desarrollo y replicación de CT en la célula huésped(13).

Por otra parte, se evaluó la presencia de IgG contra CT en mujeres entre 18 a 30 años con diagnóstico de artritis de la ciudad de Bogotá D.C. Los resultados obtenidos hacen necesario evaluar el comportamiento de las pacientes del grupo control con resultados positivos de IgG contra CT que permitirían observar una posible aparición de síntomas relacionados con artritis(14).

Rodríguez y colaboradores optimizaron una técnica PCR que permitió evaluar la presencia de CT en hisopados anorrectales provenientes de hombres. En Colombia se notifican anualmente más de 70.000 casos nuevos de infecciones de transmisión sexual (ITS), de los cuales se estima que aproxi-

madamente el 9.3% corresponde a uretritis entre las que se encuentran las causadas por CT se procesaron 27 muestras correspondientes a HSH (hombres que tienen sexo con hombres) voluntarios pertenecientes al Grupo de Apoyo y Estudio de la Diversidad Sexual (GAEDS) de una Universidad en Colombia, en este estudio se identificaron 5 muestras positivas para CT en hombres sintomáticos y asintomáticos relacionados con el riesgo de adquirir infección por sus prácticas sexuales(15).

Otra de las infecciones zoonóticas de interés identificada dentro del enfoque de enfermedades infecciosas es la leptospirosis, una de las zoonosis más comunes que constituye un problema de salud pública, aunque se desconoce la prevalencia real de esta enfermedad. La infección es comúnmente transmitida a humanos cuando el agua que ha sido contaminada por orina animal se pone en contacto directo con lesiones en la piel, ojos o por las mucosas. En zonas no tropicales, los casos de leptospirosis son estacionales, donde la mayoría ocurren entre agosto y septiembre o entre febrero y marzo(16).

En Colombia, se determinó la seroprevalencia de *Leptospira spp* en estudiantes de medicina veterinaria y zootecnia en Tunja, Colombia. La seroprevalencia de *Leptospira* fue 25,5%. la edad promedio de los estudiantes fue 26,2 años. La prevalencia fue mayor en hombres que en mujeres sin diferencia estadística. De acuerdo con los resultados se pudo observar que la Leptospirosis

es una enfermedad de gran importancia y de elevada seropositividad en el departamento de Boyacá, principalmente en la población que se encuentra constantemente en riesgo ocupacional al trabajar con animales(16).

## **Tema 2. Enfermedades raras y neurodegenerativas**

Las enfermedades raras son enfermedades con una alta tasa de mortalidad pero de baja prevalencia. Por lo general, comportan una evolución crónica muy severa, con múltiples deficiencias motoras, sensoriales y cognitivas y por lo tanto suelen presentar un alto nivel de complejidad clínica que dificultan su diagnóstico y reconocimiento.

Para abordar las enfermedades raras es preciso un planteamiento interdisciplinar, con esfuerzos especiales que se dirijan a la reducción de la morbilidad, evitar la mortalidad prematura, disminuir el grado de discapacidad y mejorar la calidad de vida así como el potencial socioeconómico de las personas afectada.

La Revista Nova presenta interesantes hallazgos; describe el caso de un paciente masculino de siete meses de edad, evaluado por cardiología a los quince días de vida por antecedente de muerte súbita cardíaca de hermana a los cuatro meses, no se sospechó nada pese a consanguinidad de padres y diagnóstico temprano del paciente de cardiomiopatía. Evoluciona con un

cuadro clínico de infecciones respiratorias a repetición desde los 3 meses (bronquiolitis recurrente), falla de medro y cuadro de neumonía reciente y fallece a los ocho días de la consulta con la genetista. Se enfocó al paciente con un posible diagnóstico de Enfermedad de Pompe solicitándose enzima lisosomal alfa-glucosidasa (GAA) en muestra de gota de sangre seca y reporte final de la secuenciación genética(17).

Por otra parte, el envejecimiento de la población mundial es un proceso sin precedentes en la historia de la humanidad y una fuente de complejidad para la provisión de asistencia sanitaria y social desde la perspectiva de salud pública.

El aumento de la longevidad y la supervivencia ha provocado un incremento de la prevalencia de enfermedades crónicas y una compresión de la morbilidad en edades avanzadas. La demencia es un síndrome clínico frecuente a partir de los 65 años, que se caracteriza por un deterioro persistente de las funciones mentales superiores que provoca una alteración de la capacidad del individuo para llevar a cabo las actividades de la vida diaria en personas que no padecen alteraciones del nivel de conciencia(18).

En 2015 había alrededor de 47 millones de personas con demencia en el mundo y, de acuerdo con las proyecciones de población, si la prevalencia de demencia actual se mantiene constante, en el año 2050 habrá alrededor de 130 millones de personas.

El coste económico que representa la demencia para la sociedad es muy elevado; según una estimación de Alzheimer's Disease International, en 2010 el coste global de la enfermedad ascendía a 604.000 millones de dólares, y en 2015, a 818.000 millones, lo que representa un incremento en cinco años del 35%(18).

Aunque la demencia es una entidad sindrómica, existen distintos subtipos de demencia que difieren en su etiología, forma de presentación, curso clínico y trastornos asociados. La enfermedad de Alzheimer (EA), la demencia vascular y las formas mixtas de EA con componente de afectación cerebrovascular representan los subtipos más frecuentes. Otras formas de demencias neurodegenerativas, causadas por lesiones cerebrales o consumo de tóxicos entre otras, son mucho menos frecuentes(18).

La enfermedad de Alzheimer/AD es un trastorno neurodegenerativo progresivo que afecta la memoria y todas las funciones cognitivas con una edad de inicio tardío o precoz, y se presenta con una muy baja frecuencia por causa genética por alteración en el gen de la PPA, PS1 O PS2. El elemento etiológico mayor conocido es genético, con múltiples factores de susceptibilidad en interacción con factores medioambientales. Las guías de diagnóstico para la AD incluyen evaluaciones psicológicas, psiquiátricas y neurológicas con función cerebral, y no incluyen estudios de la función visual como parte del protocolo diagnóstico, siendo fuerte la evidencia de cambios oculares en

retina y en algunas funciones visuales que aparecen aun sin el deterioro cognitivo característico de esta enfermedad.

La AD presenta un proceso neurodegenerativo con deterioro cognitivo, que se presenta en todas las regiones de la corteza cerebral, iniciándose en corteza del hipocampo y amígdala cerebral desde donde progresa a la circunvolución para-hipocampal, lóbulos temporales y frontales.

Varios estudios han demostrado que la AD presenta alteraciones en memoria, lenguaje, orientación visoespacial, acompañada por cambios estructurales en cerebro y en la retina al reducir el espesor de las células ganglionares, de las capas de fibras nerviosas y al contener cuerpos de inclusión con proteína beta amiloide (A $\beta$ ) y demuestran además que el diagnóstico de alteraciones funcionales por la acumulación de A $\beta$  es un marcador precoz de la AD(19).

Se han utilizado modelos biológicos para estudio de enfermedades neurodegenerativas utilizando *C. elegans*, El nematodo *C. elegans* se estableció desde 1960, gracias al biólogo sudafricano Sydney Brenner, como un organismo modelo en investigación. Sus cualidades biológicas permiten mejorar la visión y comprensión de patologías en los seres humanos y otros seres pluricelulares; además, sus fenotipos claros y observables lo convierten en un organismo adecuado para el estudio básico de enfermedades neurodegenerativas, inmunológicas y procesos cancerígenos(20).

### Tema 3. Enfermedades tropicales

Las enfermedades tropicales son aquellas que ocurren únicamente, o principalmente, en los trópicos. En la práctica, la expresión se refiere a las enfermedades infecciosas que predominan en climas calientes y húmedos, como el paludismo, la leishmaniasis, la esquistosomiasis, la oncocercosis, la filariasis linfática, la enfermedad de Chagas, la tripanosomiasis africana y el dengue.

La malaria continúa siendo una de las enfermedades que causa mayor morbimortalidad a nivel mundial. Por esta razón es importante desarrollar herramientas diagnósticas eficaces que se implementen como estrategias para el control de la enfermedad.

En Colombia se han realizado importantes estudios con el fin de estandarizar las condiciones del inmunoensayo enzimático (ELISA), para la detección de IgG específica contra *Plasmodium falciparum* en sueros de pacientes diagnosticados por gota gruesa con malaria no complicada, empleando como antígeno un extracto proteico obtenido a partir de cultivo de *P. falciparum* o un péptido sintético derivado de la proteína de superficie de merozoito GLURP (del inglés: glutamate rich protein)(21, 22).

La técnica estandarizada con el péptido sintético permitió observar diferencia significativa en el reconocimiento de sueros de pacientes, controles positivos y negativos por los antígenos (extracto de proteínas y péptidos sintéticos) (22).



Así mismo, para el fortalecimiento de la calidad del diagnóstico de malaria en Colombia, se desarrollaron los Programas de Evaluación del Desempeño (PED) en los que participan laboratorios privados y públicos del país. Al respecto, se evidenció que la participación en el PED se incrementó de 15% en 2015 a 51% en 2016, así como el total de láminas enviadas que en su mayoría cumplían con los criterios establecidos por el Laboratorio Nacional de referencia (LNR). En el estudio se evidencia que es necesario promover una mayor participación de los LSP en los PED de malaria, y aumentar la participación de los laboratorios privados. Otra de las estrategias que se ha venido utilizando con importantes resultados para diagnóstico de malaria, es la técnica de amplificación isotérmica mediada por loop (LAMP) (22).

Por otra parte, la enfermedad de Chagas es una enfermedad inflamatoria e infecciosa causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, que se encuentra en las heces de los insectos triatomíneos (Reduviidae). La enfermedad de Chagas es frecuente en América del Sur, América Central y México. La enfermedad de Chagas puede infectar a cualquier persona. Si no se trata, puede causar problemas cardíacos y digestivos graves(23).

En Colombia, se determinó la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en población general procedente de tres departamentos de la Amazonía colombiana: Vaupés, Amazonas y Guaviare, al analizar variables de riesgo para la enfermedad se encontró una seroprevalencia

general de 0,99%, 2,07% para el departamento del Guaviare, 0,79% para el departamento de Vaupés y 0,09% para el departamento de Amazonas. Estos resultados permitieron establecer una línea de base epidemiológica que contribuirá a las estrategias de control de la enfermedad en esta zona (23).

Otros temas relevantes de estudio publicado en la Revista NOVA, lo constituyen las miasis, la fiebre del chikungunya y la enfermedad por el virus del zika, que se describen a continuación:

Las miasis son infestaciones parasitarias en humanos y animales causadas por estadios larvarios de moscas; son de distribución mundial y son una enfermedad frecuente en nuestro medio. En la literatura solo existen algunos casos reportados; por lo cual, su verdadera incidencia es difícil de establecer debido al sub-registro y ausencia de tipificación de larvas(24).

En Colombia, se identificó, clasificó y caracterizó morfológicamente las larvas causantes de miasis como base para futuras aplicaciones e intervenciones en salud pública. Las especies encontradas son asociadas a diferentes tipos de miasis humana y animal, entre ellas; *Dermatobia hominis*, *Dermatobia cyaniventris*, *Oestrus ovis*, *Cochliomyia hominivorax* y *Lucilia sp.* Las formas más comunes de este parasitismo son cavitarias y forunculares; causadas por *Dermatobia hominis* y *Cochliomyia hominivorax*, sin embargo, éstas no son de reporte obligatorio ante los servicios médicos humanos(24).

Por lo tanto, es indispensable la información y capacitación de profesionales de la salud para la correcta conservación, identificación y reporte de las larvas extirpadas en pacientes con miasis, hasta el punto de ser considerada una práctica de rutina en el diagnóstico clínico(24).

La fiebre chikungunya (CHIK) es una enfermedad vírica transmitida por la picadura de mosquitos hembra infectados, *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, por un virus ARN del género alfavirus, familia Togaviridae.

En Colombia se identificaron los primeros casos autóctonos confirmados por el laboratorio de arbovirus del Instituto Nacional de Salud en Septiembre de 2014 (semana epidemiológica 37), mediante pruebas de RT-PCR en pacientes provenientes del corregimiento de San Joaquín del municipio de Mahates en el departamento de Bolívar, investigación epidemiológica de campo conjunta entre del Instituto Nacional de Salud y la secretaria de Salud Departamental que permitió la confirmación de casos desde Junio de 2014 en muestras negativas para análisis de sarampión, rubeola, en pacientes procedentes del Valle del Cauca(25).

De la misma forma, en Ocaña, Colombia, se evaluó el cumplimiento de los criterios diagnósticos y notificación de Chikungunya, determinando la calidad del diagnóstico, el cual en Ocaña es deficiente, en términos del cumplimiento de los marcadores de la calidad del proceso de diagnóstico y notificación (25).

La enfermedad por el virus de Zika es causada por un virus transmitido principalmente por mosquitos del género *Aedes*, que pican durante el día. Los síntomas, generalmente leves y de 2 a 7 días de duración, consisten en fiebre, erupciones cutáneas, conjuntivitis, dolores musculares y articulares, malestar y cefaleas. La mayoría de las personas infectadas son asintomáticas(26).

La infección el virus de Zika durante el embarazo puede causar microcefalia y otras malformaciones congénitas, que constituyen el síndrome congénito por el virus de Zika. La infección también se asocia a otras complicaciones del embarazo, como el parto prematuro y el aborto espontáneo. La infección se asocia en niños y adultos a un aumento del riesgo de complicaciones neurológicas, como el síndrome de Guillain-Barré, la neuropatía y la mielitis. La RT-PCR es la técnica más utilizada para el diagnóstico de la infección por el virus Zika al ser la más estandarizada y presentar una alta sensibilidad y especificidad, sin embargo se sigue trabajando sobre otras técnicas que garanticen la detección oportuna del virus, usando diferentes genes como el gen E, NS5, NS1, NS2B NS3, NS4B y CPREM principalmente en suero y orina (26).

#### **Tema 4. Enfermedades metabólicas y Diagnóstico Prenatal**

El diagnóstico prenatal es el conjunto de pruebas diagnósticas que se llevan a cabo durante el embarazo para intentar identi-

ficar la presencia de posibles defectos congénitos en el feto o bien factores de riesgo maternos que pueden requerir controles estrictos a lo largo de la gestación.

Por otra parte, Los trastornos metabólicos hereditarios hacen referencia a distintos tipos de trastornos médicos que se producen por anomalías genéticas (que, por lo general, se heredan de ambos padres) y que interfieren con el metabolismo del cuerpo. Estos trastornos también se conocen como errores innatos del metabolismo.

Cuando los procesos químicos no funcionan de forma adecuada a causa de una deficiencia hormonal o de enzimas, ocurre un trastorno metabólico. Los trastornos metabólicos hereditarios se clasifican en distintas categorías, según la sustancia específica y teniendo en cuenta si se acumula en cantidades perjudiciales (ya que no se puede descomponer), si es muy baja o si está ausente.

Existen cientos de trastornos metabólicos hereditarios que se producen por distintas anomalías genéticas. Estos son algunos ejemplos: hipercolesterolemia familiar, enfermedad de Gaucher, síndrome de Hunter, enfermedad de Krabbe, enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, leucodistrofia metacromática, encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica, episodios similares al accidente cerebrovascular (melas, Niemann-pick, fenilcetonuria (pku), porfiria, enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Wilson).

Algunos trastornos metabólicos se pueden diagnosticar a través de análisis de detección de rutina que se hace al momento del nacimiento. Otros solamente se identifican cuando el niño o el adulto presentan los síntomas del trastorno.

El tratamiento de un trastorno metabólico hereditario depende de su tipo y gravedad. Dado que existen muchos tipos de trastornos metabólicos hereditarios, las recomendaciones de tratamiento varían de forma considerable, desde restricciones en la dieta hasta trasplantes de hígado.

Bermúdez y colaboradores, proponen una estrategia para la vigilancia por laboratorio de las enfermedades metabólicas, crónicas no transmisibles (ECNT), realizando un estudio analítico, retrospectivo, con resultados de tamiz metabólico en 5241 recién nacidos, en los años 2014 y 2015, mediante Espectrometría de masas en Tándem, en un sistema TQD-Waters, kit Neobase™ para determinación de moléculas pequeñas en sangre, concluyendo, que es posible utilizar los datos de laboratorio para monitorear la variación de un analito, con el fin de aplicarlo para la vigilancia en salud pública de las ECNT(27).

Así mismo, en el Instituto de Medicina Fetal y Genética Humana de São Paulo se ofrece diagnóstico prenatal a las gestantes que tienen un riesgo aumentado para anomalías cromosómicas, diferentes técnicas, entre ellas, la Biopsia de Vellosidad Corial Transabdominal (BVCTA) y la Amniocen-

tesis Precoz (AP). El objetivo del estudio publicado en la Revista NOVA fue realizar una comparación de la frecuencia de pérdidas fetales y anomalías congénitas presentadas en cada uno de los procedimientos, ambos realizados por los mismos operadores, en la misma edad gestacional (12-14 6/7 semanas) y bajo un abordaje transabdominal. Fueron analizadas retrospectivamente 432 AP y 418 BVCTA, concluyendo que no se encontraron diferencias significativas entre los dos procedimientos al comparar las frecuencias de pérdidas en cada semana de gestación. Sin embargo, sangrado y pérdida de líquido amniótico fueron más frecuentes en AP que en la BVCTA, la incidencia de prematuridad y bajo peso al nacimiento no difirió significativamente entre los dos procedimientos (28)

Por otra parte, la mayor frecuencia de problemas respiratorios registrada en AP no fue significativa en comparación con BVCTA. No se observó diferencia significativa en la incidencia de anomalías músculo-esqueléticas. Concluyendo que la amniocentesis después de catorce semanas presenta un bajo riesgo de pérdida fetal o anomalías congénitas. La BVCTA, debe ser realizada alrededor de la semana doce de gestación(28).

### **Tema 5. Enfermedades cardiovasculares y hematológicas**

Las enfermedades cardiovasculares son un conjunto de trastornos del corazón y de los vasos sanguíneos. Se clasifican en: hipertension

arterial (presión alta), cardiopatía coronaria (infarto de miocardio), enfermedad cerebrovascular (apoplejía), enfermedad vascular periférica, insuficiencia cardíaca, cardiopatía reumática, cardiopatía congénita, miocardiopatías.

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de defunción en todo el mundo. Cada año mueren más personas por alguna de estas enfermedades que por cualquier otra causa. Se calcula que en 2012 murieron 17,5 millones de personas por enfermedades cardiovasculares, lo cual representa el 30% de las defunciones registradas en el mundo. De esas defunciones, aproximadamente 7,4 millones se debieron a cardiopatías coronarias, y 6,7 millones a accidentes cerebrovasculares(29).

Las enfermedades cardiovasculares afectan en mucha mayor medida a los países de ingresos bajos y medios: más del 80% de las defunciones por esta causa se producen en esos países y afectan casi por igual a hombres y mujeres. Se espera que en el 2030, casi 23,6 millones de personas morirán por alguna enfermedad cardiovascular, principalmente por cardiopatías y accidentes cerebrovasculares. Se prevé que estas enfermedades sigan siendo la principal causa de muerte(29).

Almonacid y colaboradores, identificaron factores de riesgo cardiovascular en estudiantes de tres universidades en Bogotá, con edades comprendidas entre los 16 a 29 años, a quienes se les realizaron exámenes

clínicos y paraclínicos y se les aplicó una encuesta de factores de riesgo. En total se estudiaron 747 estudiantes, encontrando que la prevalencia más alta de factores de riesgo estuvo dada por el consumo de alcohol (96.1%), que mostró además relación con el aumento de tensión arterial, el sedentarismo se asoció con el aumento de la tensión arterial sistólica. De igual manera se encontró asociación entre la presencia de hipertrigliceridemia y el incremento en los niveles de glucosa. Los resultados de este estudio indican que los estudiantes universitarios en Bogotá, tienen como factores de riesgo preponderantes de enfermedad cardiovascular el consumo de alcohol, el tabaquismo y el sedentarismo(30).

Así mismo, González y colaboradores evaluaron los niveles de homocisteína total (tHcy) y su asociación con otros factores de riesgo cardiovascular (FRCV) en 50 niños de 6 a 12 años de educación básica primaria, seleccionados mediante muestreo no probabilístico por conveniencia. Se cuantificaron niveles de tHcy, lípidos y glucosa, se midió presión arterial y se tomaron medidas antropométricas. Los estilos de vida se determinaron con formatos validados y se estableció el punto de corte para diagnosticar hiperhomocisteinemia (HHcy) en la población. En este estudio se encontró que las niñas presentaron concentraciones mayores de triglicéridos y c-VLDL que los niños. Del grupo con HHcy el 20% estaba en sobrepeso, 40% presentaba hipertensión, 20% expresó c-HDL disminuido, 62% tenía un consumo bajo de carne y 80% alta ingesta

de hamburguesas, papas fritas y refrescos. Se concluyó que aunque la HHcy no estuvo asociada con otros FRCV, es necesario implementar programas que permitan modificar estilos de vida inadecuados(31).

Bohorquez y colaboradores, determinaron la presencia de anemias ferropénicas asociadas a hemoglobinopatías en afrodescendientes adultos colombianos. La población, presentó anemia en la población femenina 28.6% y la masculina en el 16.0%. Se observó que el 9.7% de la población en estudio, presenta hemoglobina y ferritina baja, relacionado con anemia por deficiencia de hierro y el 13.6 % presenta una deficiencia subclínica de hierro al presentar deficiencia de hierro sin anemia. Con respecto a los resultados de electroforesis de hemoglobina, el 13.6% se evidenció con hemoglobina A2 aumentada, con posible asociación a talasemias o hemoglobinopatía C, el 0.98% con hemoglobina S, el 0.98% con rasgo de hemoglobina S y el 84.5% con hemoglobina A. El 0.97% de la población presenta ferritina baja con hemoglobina A2 aumentada, mostrando deficiencia de hierro asociada con posible hemoglobina C o talasemia y el 0.97% de la población estudiada presentó ferritina baja con hemoglobina S. Otro hallazgo importante fué la presencia de valores bajos de ferritina en el 17.8 % de las mujeres y el 4.95% en hombres (32).

Así mismo, Castillo y colaboradores determinaron la presencia del síndrome anémico en comunidades indígenas muiscas, en hombres y mujeres entre 18 y 50 años,

identificando niveles de ferritina bajos en un 35.7% en mujeres y 40% en hombres, lo que sugiere deficiencia de hierro. El 4.2% de las mujeres y el 10% de los hombres presentan anemia. Adicionalmente se identificó la presencia de deficiencia subclínica de hierro en un 34.3% en mujeres y el 30% en hombres, con una alta probabilidad de desarrollar anemia ferropénica si no se realiza el tratamiento adecuado(33, 34).

Rodríguez y colaboradores desarrollaron una nueva metodología para caracterizar la estructura del eritrocito normal mediante el espacio ocupado por el anillo del eritrocito normal caracterizado con el método de *Box Counting*. Se determinó que los espacios ocupados por la región del disco con la rejilla  $K_p$  variaron entre 47 y 56, la región del centro del eritrocito, varió entre 9 y 14. La dimensión fractal de estas dos regiones varió entre 0,941 y 1,115 para el disco, entre 0,652 y 1,222 para el centro. El estudio permitió concluir que la estructura del eritrocito normal puede ser caracterizada mediante el espacio ocupado por cada una de las regiones del eritrocito a partir de la geometría fractal(34).

Por otra parte, Silva y colaboradores identificaron las variables de conducta de enfermedad en una muestra de pacientes colombianos con Hemofilia A. Se evaluaron 27 sujetos con diagnóstico de Hemofilia A con un rango de edad entre 19 y 55 años. En conclusión se hallaron asociaciones significativas entre el dolor crónico y las variables relacionadas a inestabilidad emocional, así

como correlaciones positivas con resultados de investigaciones previas sobre la caracterización de la población con hemofilia(35, 36).

Finalmente, en el análisis realizado se identificó como temática relacionada con las ciencias biológicas de interés para la Revista Nova: Biotecnología y calidad del agua, los hallazgos publicados mas importantes se presentan a continuación:

### **Tema 6. Biotecnología y calidad del agua**

La biorremediación se define como el empleo de organismos vivos para eliminar o neutralizar contaminantes del suelo o del agua. En los procesos de biorremediación generalmente se emplean mezclas de microorganismos, aunque algunos se basan en la introducción de cepas definidas de bacterias y hongos(37).

Bedoya y col, evaluaron la capacidad biorremediadora de algunas especies de hongos filamentosos en suelos contaminados con petróleo crudo. Aislaron 138 cepas a partir de 90 cultivos primarios en muestras de suelos obtenidas en los municipios colombianos de Yondó (Antioquia), Acacías (Meta) y Tumaco (Nariño), identificaron las especies por medio de claves taxonómicas y la amplificación por PCR de la región ITS ubicándose en siete géneros de hongos filamentosos. Del total de las especies se escogieron tres para el experimento que

fueron: *Neosartorya* sp. Cepa A/N-1, *Aspergillus* sp. Cepa Y/As-3 y *Rhizomucor* sp. Cepa 1A/R-1; se realizó la micorremediación con la técnica de *Landfarming* modificado al diseñarse un microcosmos con 50g de suelo contaminado con petróleo crudo °API de 21.6 a concentraciones de 20.000 ppm y 30.000ppm para cada una de las especies en un inóculo de 300 conidios/ml en agua destilada, ajustado en cámara de Neubauer y las tres especies en consorcio en suelo contaminado con petróleo crudo °API de 21.6 a concentraciones de 40.000ppm, 60.000ppm, 80.000ppm y 100.000ppm con un inóculo de 300 conidios/ml. Se valoró el proceso por espectrofotometría. Además, se establecieron las enzimas empleadas en la micorremediación y la citotoxicidad de las cepas empleadas(37).

Como resultados, la micorremediación realizada por las especies individuales fue en promedio entre 2 y 6 días y cuando se aplicaron las tres especies en consorcio se realizó en un promedio entre 6 y 10 días, la enzima empleada fue peroxidasa y la citotoxicidad fue negativa(38).

Así mismo, Boada y col evaluaron la potencial actividad degradadora de la cepa comercial *Pleurotus ostreatus* sobre petróleo crudo como única fuente de carbono, obteniendo un máximo de biomasa 45mg para 0,5% de 39mg para 1%. Esto sugiere que el hongo sufre una adaptación fisiológica para utilizar el petróleo crudo para su crecimiento(39).

Castañeda y col, evaluaron la actividad celulolítica y quitinolítica de los hongos aislados de rizósfera de papa con posibilidades de ser usados para el control biológico de *R. solani*. Determinando que todas las cepas presentaron antagonismo in vitro. El *Bacillus subtilis* fue la especie que demostró mayor capacidad antagónica (79,73%PICR) y las características más destacadas de esta cepa fueron su velocidad de crecimiento (1).

Por otra parte, se identificó y evaluó la capacidad antimicrobiana de los metabolitos aislados a partir del proceso de fermentación en una cepa de *Mucor circinelloides*. Los resultados arrojados por la técnica de gases acoplado a masas CG-EM confirman la importancia de *Mucor circinelloides* en la producción de ácidos grasos insaturados. A partir del micelio se obtuvo un esteroles, compuesto M.cB3. La fracción CHCl<sub>3</sub> en biomasa mostró actividad inhibitoria para los microorganismos Gram positivos(40).

Así mismo, Corrales y col, realizaron una revisión sobre las características de las fitasas y nitrogenasas de *Bacillus* spp. y sus opciones de uso como alternativa biofertilizante, dentro de los principales hallazgos se destacan: el género *Bacillus* es secretor de proteínas y metabolitos eficientes para el control de plagas y enfermedades, promueve el crecimiento vegetal a través de la solubilización de fósforo y la producción de reguladores de crecimiento como el ácido indol acético; así mismo participa en la fijación de nitrógeno cuando hace parte de

consorcios microbianos. Como biofertilizante es una opción amigable para el suelo y el ambiente que da respuesta a la necesidad de implementar la agricultura sostenible(41).

Gonzales y colaboradores, presentan una revisión de las tecnologías desarrolladas a nivel mundial enfocadas al ahorro del agua en el cultivo de arroz en condiciones aeróbicas y anaeróbicas. Esta investigación es importante debido a que el uso eficiente del agua determina el futuro del cultivo de arroz en Colombia frente a los tratados de libre comercio, ya que es un factor que condiciona el área sembrada, el rendimiento de la cosecha y los costos de producción, además de su sostenibilidad en el tiempo. En el artículo, se destacan para Colombia aspectos importantes para la construcción de la agenda de investigación y la apropiación social de las tecnologías alternativas con miras a la optimización del recurso hídrico en el cultivo de arroz; se recomienda priorizar el arroz aeróbico y la medición efectiva del consumo de agua, indispensable para controlar su uso, planear, dirigir y entender cómo estas tecnologías alternativas conducen a la recuperación de la inversión de los agricultores y a la rentabilidad del cultivo(42).

Por otra parte, Niño y col, analizan la astaxantina de origen natural como uno de los pigmentos carotenoides con importantes aplicaciones en la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética, debido a sus grandes propiedades dentro de las que se

destaca su gran poder antioxidante, efecto preventivo del cáncer, potenciador de la respuesta inmune, inhibidor de los radicales libres entre muchas otras. *Haematococcus pluvialis* es una microalga verde de agua dulce y es una de las fuentes naturales con mayor producción de astaxantina ya que es capaz de acumular hasta un 3% de astaxantina en peso seco. Los autores determinan el medio de cultivo y las condiciones óptimas para el crecimiento y la producción de astaxantina a partir de *Haematococcus pluvialis* (43).

Ordoñez y colaboradores analizan el uso de la coloración Tinta China como alternativa para visualizar cambios a nivel de matriz y pared celular, en células vivas adheridas en cultivo, antes y después de la exposición a una sustancia toxica. Los investigadores encuentran que la tinta china es útil en la visualización nítida de las células CTMO y de los efectos producidos por el glicoalcaloide  $\alpha$ -solanina en células adheridas en cultivo. Es un método sencillo que aporta al entendimiento del efecto que diversas sustancias producen en las CTMO en cultivo(44).

Rodríguez y colaboradores evalúan la actividad antimicrobiana de los extractos de las plantas *Bauhinia sp.*, *Sambucus nigra*, *Eichhornia crassipes* y *Taraxacum officinale* frente a patógenos de importancia clínica. Los microorganismos utilizados fueron *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* con presencia de KPC, *Pro-*



*videncia rettgeri* con presencia de ESBLs, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*  $\beta$ -lisina y *Candida albicans*, concluyendo que los extractos vegetales son una alternativa de tratamiento para infecciones nosocomiales(9).

Así mismo, Botello y colaboradores evalúan la capacidad de inmovilización microbiana de algunos polímeros sintéticos, y establecen su desempeño durante la partida y operación de un reactor biológico híbrido (RBH), aplicado al tratamiento de aguas residuales domésticas. Se encontró que los polímeros que presentaron mayor capacidad de inmovilización fueron: BD ( $2,2 \times 10^7$  UFCg-1) y EPU ( $4,6 \times 10^7$  UFCg-1). El RBH, sometido a una carga orgánica volumétrica de 2,7 Kg DQO m-3d-1, presentó estabilidad operativa en todos los tratamientos evaluados, alcanzando una remoción de materia orgánica de 78% y 94%, al emplear BD y EPU como soportes de inmovilización, respectivamente(45).

Campuzano y col, analizan la presencia de bacterias formadoras de biopelículas en las mangueras de la jeringa triple y de la pieza de mano que distribuyen el agua a las unidades dentales, encontrando que el 84% de muestras eran positivas para cocos Gram positivos, mientras que el 8% de las muestras presentaban aislamientos de bacilos Gram negativos: *E coli* y *P aeruginosa*. La flora Gram positiva estuvo representada por *Staphylococcus hominis* y *Staphylococcus epidermidis* (46)

Por otra parte, se determinó la calidad microbiológica del agua usada en las unidades odontológicas de una clínica universitaria en Bogotá, mediante los indicadores microbiológicos coliformes totales, *Escherichia coli*, *Enterococcus* y *Pseudomonas*. Se determinó que el agua no cumple con la Resolución 2115 de 2007 que reglamenta las normas del agua apta para consumo humano. Se aislaron bacterias importantes como *Shigella* sp. (microorganismo productor de la disentería e indicador de contaminación fecal), *Klebsiella* y *Pseudomonas*. Se sugiere implementar medidas correctivas y/o preventivas para minimizar la contaminación y mejorar la calidad del agua usada en estas unidades odontológicas(46).

De la misma forma, Estupiñán y colaboradores analizan la calidad del agua de piscinas públicas de Bogotá mediante el recuento de *Pseudomonas* sp. y *Aeromonas* sp., encontrando que el 100% de las piscinas analizadas presentan recuentos de *Pseudomonas* sp. por encima de lo contemplado en la Resolución 1618 de 2010 (Colombia) y el 63% de las piscinas presentaron recuentos de *Aeromonas* sp(47).

Corrales y col. Identifican microorganismos fitopatógenos presentes en las aguas utilizadas para riego en la cuenca media del río Bogotá. El agua de riego analizada contenía bacterias como: *E.coli*, *P. vulgaris*, *A. urinae*, *E. cloacae*, *B.cereus*, *S. marcescens*, *B. brevis*, y en cuanto a los hongos se encontraron: *Aspergillus fumigatus*, *Asper-*

*gillus flavus.*, *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.*, *Penicillium sp.* y *Fusarium sp.* La presencia de estos potenciales fitopatógenos en el agua indican un alto riesgo de contaminación y dispersión de éstos en los cultivos(48).

Fajardo y colaboradores, determinaron la calidad microbiológica y fisicoquímica del agua de un barrio marginal de Bogotá. Se evidenció que la calidad de agua que consumen los habitantes del barrio cumple con todos los parámetros de potabilidad exigidos el Ministerio de Salud y Protección Social, de Ambiente y Desarrollo Territorial en la Resolución 2115 de 2007(49).

Roa y colaboradores evalúan la actividad antibacteriana y antioxidante de las partes aéreas de *Baccharis revoluta*. A los extractos de hojas, tallos y flores de diferente polaridad se les determinó la actividad antibacteriana frente a los microorganismos *Staphylococcus aureus* Gram (+), *Klebsiella pneumoniae* Gram (-) y *Escherichia coli* Gram (-), utilizando el método de difusión en gel por perforación en placa y se le evaluó la actividad antioxidante por el método DPPH. Las pruebas de eficacia antimicrobiana exhibieron inhibición significativa de los extractos. Además, se determinó la concentración crítica, que representa una medida de la susceptibilidad del microorganismo, y los extractos presentaron mayor actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* que a *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Los extractos etanólicos presentaron una actividad antioxidante representativa, con una IC50 y actividad antioxidante re-

lativa de 7,2% y 43.64%, para el extracto etanólico de hojas, 6,95% y 45.57% para el extracto etanólico de tallos y 7,1% y 44.16 % para el extracto etanólico de flores, lo que nos determina una gran potencialidad de estos extractos etanólicos(50).

## Referencias

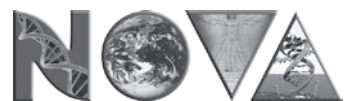
1. Castañeda J, Gómez K, Corrales L, Cortés S. Perfil de resistencia a antibióticos en bacterias que presentan la enzima NDM-1 y sus mecanismos asociados: una revisión sistemática. *Nova*. 2016;14(25):95-111.
2. Ospino Bejarano K, Castilla Pérez M, Sánchez-Mora R. Resistencia microbiana desde una perspectiva metagenómica. *Nova*. 2018;16(29):91-100.
3. Pinilla GG, Bautista A, Cruz C, Chavarro B, Navarrete J, Muñoz L, et al. Determinación de factores de adhesión asociados a la formación de biopelícula en aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. *nova*. 2017;15(27):67-75.
4. Zuluaga M, Robledo S, Zuluaga GAO, Yathe L, Gonzalez D, Taborda G. Metabolómica y Pesticidas: Revisión sistemática de literatura usando teoría de grafos para el análisis de referencias. *Nova*. 2016;14(25):121-38.
5. Vargas H, Díaz Á, Celis Y, Díaz L, Gómez S, Sánchez J, et al. In-house standardization and validation of a multiplex RT-PCR assay for the detection of 13 respiratory viruses. *Nova*. 2016;14(26):9-15.
6. Arias RFQ. Medicina tradicional en la comunidad de San Basilio de Palenque. *Nova*. 2016;14(25):67-93.
7. Ostos O. SR. *Chlamydia trachomatis*: avances y perspectivas. *NOVA*. 2003;1(1):81-93.
8. Gutiérrez D, Sánchez, R. . Tratamientos alternativos de medicina tradicional para *Chlamydia tra-*

- chomatis, agente causal de una infección asintomática. NOVA. 2018;16(30):65-74.
9. Rodríguez C, Zarate, A., Sánchez, L. . Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. . NOVA. 2017;15(27):119-29.
  10. Jutinico A, González, J. Sánchez, R. . Asociación de HSP60 de *Chlamydia trachomatis* y desarrollo de cáncer de ovario. NOVA. NOVA. 2017;15(28):57-68.
  11. Shubach AJ, Garzón JM, Chacón JM, Gómez M, Mora RS. Cultivo de la línea celular HEp-2: doblaje poblacional y coloración con Giemsa Perspectivas para el estudio de la infección con *Chlamydia trachomatis*. Nova. 2013;11(20):23-33.
  12. Jutinico A, Malagón, E., Sánchez, R.. Cultivo de la línea celular HEp-2: doblaje poblacional y coloración con Giemsa Perspectivas para el estudio de la infección con *Chlamydia trachomatis*. NOVA. 2013;11(20):23-33.
  13. Jutinico Shubach AP, Mantilla Galindo A, Sánchez Mora RM. Regulation of the bcl-2 to family in cells infected with *Chlamydia Trachomatis*. Nova. 2015;13(24):83-92.
  14. Mantilla A, Martínez, J., Ramírez, M., Olave, L., Jutinico, A., Gómez, M., Sánchez, R. . . Determinación de IgG contra *Chlamydia trachomatis* en mujeres con artritis de la Ciudad de Bogotá D.C. Un estudio piloto. NOVA. 2016;14(26):27-34.
  15. Rojas FAR, Ordoñez PSB, Mora RMS. Detección de *Chlamydia trachomatis* en hombres que tienen sexo con hombres en Bogotá: un estudio piloto. Nova. 2016;14(26):17-27.
  16. Carrero SHS, HerediaMontoya DP, Bolaños YM, Medellín MOP. Seroprevalencia de infección por *Leptospira* y factores de riesgo en estudiantes de una universidad de Colombia. Nova. 2017;15(27):131-8.
  17. Arias S, Gómez M, Fernández I, Celis LG. Enfermedad de Pompe: reporte de caso. Nova. 2016;14(25):113-20.
  18. Garzón P SJ, Camacho M M, Tapiero L JA, Reina KD. Características cognitivas y oculares en enfermedad de Alzheimer. Nova. 2018;16(29):101-14.
  19. Garzón S, Camacho, M., Tapiero, J., Reina, K. . Características cognitivas y oculares en enfermedad de Alzheimer. Nova. 2018;16(29).
  20. Laura Katerine P-F, Gualteros-Bustos AV, Sánchez-Mora RM. Caracterización fenotípica de la cepa N2 de *Caenorhabditis elegans* como un modelo en enfermedades neurodegenerativas. Nova. 2017;15(28):69-78.
  21. Cortés LJC, Díaz RAC. Análisis de los programas de evaluación del desempeño de malaria de los laboratorios de salud pública y privados de Colombia 2015-2016. Nova. 2018;16(30):21-9.
  22. Meza LCP, Ayala SMB. Inespecificidad persistente en amplificación isotérmica mediada por loop para diagnóstico de malaria. Nova. 2016;14(26):29-33.
  23. Flórez C, Guasmayan L, Cortés L, Caicedo A, Beltrán M, Muñoz L. Enfermedad de Chagas y su seroprevalencia en tres departamentos de la Amazonia colombiana. Nova. 2016;14(26):35-43.
  24. Díaz RP, Arteta LCV. Identificación de larvas productoras de miasis obtenidas del cepario de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca con importancia en salud pública. NOVA. 2017;15(28):79-91.
  25. Márquez M, Escalante, L. . Evaluación del diagnóstico y notificación de Chikungunya en Ocaña, Colombia. NOVA. 2016;14(26):45-51.
  26. Pereira JG, L., Zea-Castrillón, S., Jaramillo, P., Bedoya, A. Descripción de pruebas moleculares en el diagnóstico del virus Zika en el periodo 2008-. NOVA. 2018;16(30):81-93.
  27. Bermúdez AJ, Robayo DB. Vigilancia por laboratorio de las enfermedades crónicas: una estrategia para las enfermedades metabólicas. Nova. 2016;14(26):83-91.
  28. Bernal LM, Bernal MC, Gollop T. Amniocentesis precoz y biopsia de vellosidad corial. Pérdidas feta-

- les y anomalías congénitas en un grupo de gestantes brasileñas. *Nova*. 2018;16(29):51-61.
29. Almonacid Urrego CC, Camarillo Romero MdS, Gil Murcia Z, Medina Medina CY, Rebellón Marulanda JV, Mendieta Zerón H. Evaluación de factores de riesgo asociados a enfermedad cardiovascular en jóvenes universitarios de la Localidad Santafé en Bogotá, Colombia. *Nova*. 2016;14(25):9-17.
  30. Almonacid C, Camarillo, M., Gil, Z., Medina, C., Rebellón, J., Mendieta, H. . Evaluación de factores de riesgo asociados a enfermedad cardiovascular en jóvenes universitarios de la Localidad Santafé en Bogotá, Colombia. *NOVA*. 2016;14(26):35-45.
  31. González J, Monroy, P., Almonacid, C. . Homocisteína y otros factores de riesgo cardiovascular en niños de educación básica primaria del Colegio Distrital Manuel Elkin Patarroyo, Bogotá, D.C.– Colombia. Estudio piloto. . *NOVA*. 2017;15(27):103-17.
  32. Castillo Bohórquez M, Mora Bautista AI, Oliveros Rozo AL. Anemias ferropénicas asociadas a hemoglobinopatías en comunidades afrodescendientes en Colombia. *Nova*. 2018;16(29):33-8.
  33. Castillo Bohórquez M, Mora Bautista AI, Oliveros Rozo AL. Anemias ferropénicas y subclínicas en indígenas muiscas de Bosa y Suba de Bogotá. *Nova*. 2016;14(26):79-84.
  34. Rodríguez J, Escobar, S., Abder, L., Del Río, J., Quintero, L., Ocampo, D. . Nueva metodología geométrica para evaluar la morfología del eritrocito normal. *NOVA*. 2017;15(27):37-43.
  35. Fernández CSS, Rodríguez AFU. Comparación de la conducta de enfermedad en pacientes colombianos con hemofilia A, en una muestra con dolor crónico y sin dolor crónico. *Nova*. 2016;14(26):63-75.
  36. Silva C, Uribe, A. . Comparación de la conducta de enfermedad en pacientes colombianos con hemofilia A, en una muestra con dolor crónico y sin dolor crónico. *NOVA*. 2016;14(26):63-75.
  37. Bedoya C, Estupiñán, L. Evaluación in vitro de la capacidad biorremediadora de hongos filamentosos sobre petróleo crudo. *NOVA*. 2018;16(30):37-58.
  38. Ciro CCB, Estupiñán LH. Evaluación in vitro de la capacidad biorremediadora de hongos filamentosos sobre petróleo crudo. *Nova*. 2018;16(30):37-58.
  39. Boada L. S, J., Wen, Y. . Indagación exploratoria in vitro de la capacidad degradadora de la cepa comercial *Pleurotus ostreatus* sobre dos concentraciones de petróleo crudo. *NOVA*. 2018;16(30):31-5.
  40. Chaparro Pedraza AP, Campuzano F SE. Aislamiento, identificación y evaluación de la actividad antimicrobiana de metabolitos producidos por *Mucor circinelloides* (Cepa Nativa SPG 321). *Nova*. 2018;16(29):63-70.
  41. Ramírez LCC, Lozano LC, Méndez MAG, Rojas SJR, Torres JNR. *Bacillus* spp: una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. *Nova*. 2017;15(27):45-65.
  42. González M, Alonso AM. Tecnologías para ahorrar agua en el cultivo de arroz. *Nova*. 2016;14(26):111-26.
  43. Niño C, Rodríguez, F., Díaz, L., Lancheros, A. . Evaluación de las condiciones de crecimiento celular para la producción de astaxantina a partir de la microalga *Haematococcus pluvialis*. *NOVA*. 2017;15(28):19-31.
  44. Ordóñez Vásquez A, Jaramillo Gómez L, Ibata M, Suárez-Obando F. Técnica de Tinta China en células adherentes en cultivo. *Nova*. 2016;14(25):9-17.
  45. Botello Suárez WA, Ortiz Varón JC, Peña Perea SA. Inmovilización microbiana en polímeros sintéticos para el tratamiento de aguas residuales. *Nova*. 2016;14(26):95-102.
  46. Campuzano S, Jiménez L, Hernández DM. La formación de biopelículas y la calidad del agua en la consulta odontológica. *Nova*. 2018;16(29):39-49.
  47. Estupiñán-Torres S, Ávila, S., López, Y., Martínez, S., Miranda, Y., Ortegón, A. . Aislamiento e identificación de *Pseudomonas* sp. y *Aeromonas* sp. en

- aguas de piscinas públicas de Bogotá – Colombia. . NOVA. 2017;15(27):25-9.
48. Corrales L, Sánchez, L., Quimbayo, M. Microorganismos potencialmente fitopatógenos en aguas de riego proveniente de la cuenca media del río Bogotá. . NOVA. 2018;16(29):71-89.
49. Zapata ÁF, Acuña SG, Muñoz-Silva V, Jiménez VO, Montaña VAM. Calidad del agua y características habitacionales de un barrio en Bogotá. Nova. 2017;15(27):31-6.
50. Torres SME, de Navia SLA. Calidad físico-química y microbiológica del agua del municipio de Bojacá, Cundinamarca. Nova. 2010;8(14).

PRELIMINAR



**NOVA** Publicación Científica  
en Ciencias Biomédicas

## Políticas del editorial

### *Enfoque y alcance.*

NOVA es una publicación científica de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca (Colombia), cuyo fin primordial consiste en la difusión de trabajos originales que contribuyen a ampliar los conocimientos en las ciencias biomédicas. Todo material propuesto para publicación en NOVA es revisado por el Comité Editorial y enviado para evaluación externa a dos evaluadores o pares científicos. El editor informa a los autores sobre la recepción de los trabajos, sobre los comentarios de los evaluadores y sobre la decisión final que se tome para su publicación. La revista NOVA se reserva el derecho de aceptar o rechazar los artículos y podrá hacer sugerencias o cambios que tiendan a mejorar su presentación.

Los originales de los artículos permanecerán en los archivos de la revista hasta por un año. El autor principal recibirá, libre de costo, 3 ejemplares de la revista.

NOVA – Publicación Científica en Ciencias Biomédicas está Indexada en: Índice Latinoamericano – LILACS, de la Plataforma BIREME; Índice Mexicano de Revistas Biomédicas Latinoamericanas -IMBIOMED; Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal – REDALYC; Base de Datos de Revistas Accesibles en Formato Electrónico -FARO de la Universidad y EBSCO Information Services.

### *Proceso de revisión por pares.*

El proceso de evaluación de un manuscrito consta de una preselección y revisión general por el comité editorial seguida de una evaluación doble ciega solicitada a pares especialistas en la materia. Una vez realizada la evaluación por parte del par académico, los autores recibirán el concepto de Aprobado, Aprobado con modificaciones menores, Aprobado con modificaciones mayores ó No aprobado. En aquellos casos en que el manuscrito sea aprobado con modificaciones el autor recibirá también las sugerencias y comentarios realizados por los evaluadores. Los autores contarán máximo con un mes de plazo a partir de la entrega de las evaluaciones, para hacer los ajustes del caso y enviar la versión corregida del manuscrito de nuevo al editor de la revista, acompañada de una carta explicativa

detallada de los ajustes incorporados. El comité editorial verificará la incorporación de los cambios al manuscrito y si lo considera pertinente la enviará de nuevo al par evaluador para su concepto. La decisión final sobre la publicación del manuscrito estará sujeta a la conformidad del par académico y del comité editorial con respecto a la inclusión de las modificaciones solicitadas al autor. En caso de ser aceptado el manuscrito para publicación los autores deberán firmar una declaración de originalidad y una autorización de los derechos de publicación y reproducción del mismo y de la inclusión en bases de datos, páginas web, o páginas electrónicas, nacionales o internacionales.

### *Frecuencia de publicación.*

La Revista NOVA es publicada dos veces al año a partir del 2005.

### *Política de acceso abierto.*

Esta revista proporciona un acceso abierto a su contenido, basado en el principio de que ofrecer al público un acceso libre a las investigaciones ayuda a un mayor intercambio global del conocimiento.

### *Directrices para autores/as*

La revista NOVA, que es una publicación de acceso abierto sin ningún tipo de costo para someter y visualizar artículos, publicará las siguientes categorías de trabajos:

**Artículo original:** es un trabajo inédito derivado de una investigación biomédica que aporta información nueva sobre aspectos específicos y contribuye de manera relevante al conocimiento científico. La estructura generalmente utilizada contiene cuatro apartes importantes: introducción, metodología, resultados y discusión.

**Artículo de revisión:** Estudio y análisis crítico de la literatura reciente y pertinente a un tópico especial más los puntos de vista del autor al tema (de modo impersonal). Consiste en un «estado del arte» del tema propuesto, e incluye dos categorías de manuscritos:

- A. solicitado directamente por el Comité Editorial a personas expertas en el tema,
- B. ofrecido por profesionales interesados en un tópico particular, caso en el cual deben observar las siguientes recomendaciones:



- i) Enviar carta de solicitud en la que se indique por qué el tema escogido es pertinente para los lectores de Nova;
- ii) Proporcionar una breve descripción de los apartes que serían cubiertos, así como algunas referencias claves; además, indicar su probable extensión y el número aproximado de ilustraciones;
- iii) Si la revisión se acepta para enviarla a evaluación, debe incluir, preferiblemente, un resumen con énfasis en el significado de los hallazgos recientes, una corta introducción al tema, señalando hitos pasados y desarrollos presentes, así como otros encabezamientos en el texto, con el objeto de hacer más provechosa su lectura. El desarrollo del tema queda a discreción del autor pero se aconseja que incluya tablas y figuras que hagan ágil el texto y ofrezcan una comprensión más rápida de su contenido.

**Guía académica:** es un trabajo enmarcado dentro de los procesos de investigación formativa, proyección social y/o procesos pedagógicos de interés para la comunidad universitaria desarrollados en las instituciones de educación superior, sobre un tema específico, con la participación de docentes y estudiantes.

**Comunicación breve:** es el informe de resultados parciales o finales de una investigación cuya divulgación rápida es de importancia. Nota: es un trabajo de 1.000 palabras máximo, con un número de figuras y tablas no mayor de 2 y cuyo resumen no debe pasar de 100 palabras. Los métodos, resultados y discusión se presentan agrupados en una única sección.

**Nota técnica:** es un escrito breve, en el que se describe en detalle una técnica de laboratorio novedosa o modificaciones realizadas a una técnica ya establecida, enfatizando las ventajas que tiene el procedimiento o la innovación desarrollados.

**Ensayo:** es un escrito breve, filosófico, literario o científico, que presenta la opinión sustentada del autor sobre un tema específico.

**Cartas al editor:** los lectores solicitan aclaraciones o presentan comentarios sobre cualquier material publicado en la revista. Así como posiciones críticas analíticas o interpretativas sobre los documentos publicados en la revista, que a juicio del Comité editorial constituyen un aporte importante a la discusión del tema por parte de la comunidad científica de referencia.

**Comentarios bibliográficos:** son escritos breves, críticos, sobre libros de biomedicina.

## *Preparación del manuscrito*

Cíñase a las indicaciones publicadas por el International Committee of Medical Journal Editors, uniform requirements for Manuscripts submitted to biomedical journals. *J pharmacol pharmacother.* 2010; 1(1): 42-58 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3142758/>)

La versión en castellano se puede consultar en la revista *Acta Médica Colombiana* (*Acta Med Colomb* 1997; 22:199-211) o en <http://www.actamedica.es/>. Cada una de las secciones del manuscrito debe aparecer en una nueva página en el siguiente orden: portadilla, resumen, texto, agradecimientos, referencias, cuadros, pies de figuras y tablas.

***Portadilla:*** además del título del trabajo y del título corto para los encabezamientos de las páginas, debe contener los nombres completos de los autores, su afiliación institucional y el nombre de la institución en donde se llevó a cabo el trabajo. También se debe anotar el nombre del autor responsable de la correspondencia con su dirección completa, número telefónico, fax y dirección electrónica.

***Resúmenes y palabras clave:*** el trabajo debe tener resumen en español y en inglés, cada uno de 250 palabras como máximo. Evite el uso de referencias en los resúmenes. Para la sección de las 6 palabras claves en español, consulte los descriptores de Ciencias de la Salud (DeCS) del Índice de Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud (LILACS) en la última versión publicada en disco compacto o en <http://decs.bvs.br/>; para la sección de las 6 palabras clave en inglés, consulte los Medical Subject Headings (MeSH) del Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>).

***Texto:*** todo el documento, incluso la página del título, los resúmenes, las referencias, los cuadros y los pies de figuras, debe estar escrito a doble espacio, por un solo lado de la hoja, sin dejar espacios extras entre párrafo y párrafo; deje un solo espacio después del punto seguido o aparte. Use la fuente Arial de tamaño 12 puntos y no justifique el texto. Use letra bastardilla o itálica para los términos científicos; por favor, no los subraye. Formato electrónico: envíe medio electrónico del documento en procesador de palabra MS Word, para PC. Incluya las gráficas en formato TIFF o JPG a 300 DPI como mínimo. La fuente preferida para las gráficas es Arial Narrow. Si sus archivos provienen de un computador Apple – Macintosh, conviértalos a plataforma PC. Incluya una lista de los archivos enviados y el programa en que fueron desarrollados.

Los artículos originales deben contener 7 partes básicas, así:

1. *Título (en español e inglés). El título en mayúsculas, preciso y sin abreviaturas. Los nombres científicos en latín y en bastardilla. Apellidos y nombres del o de los autores, institución, dirección postal completa, número de fax y correo electrónico del autor responsable para la correspondencia y fecha de envío.*
2. *Resumen (español e inglés). De no más de 250 palabras en español e inglés, debe enunciar las propuestas de la investigación, los procedimientos básicos, los resultados principales y las conclusiones. Se requiere suministrar entre 6 y 10 palabras claves.*
3. *Introducción. Distribuir el contenido según la conveniencia del tema, con subtítulos o apartes.*
4. *Materiales y métodos.*
5. *Resultados.*
6. *Discusión.*
7. *Referencias.*

#### ***Agradecimientos:***

Dirigidos a personas con aportes que no justifican acreditación como autor, por ayuda técnica recibida, por tipo de apoyo material y financiero.

#### ***Referencias:***

- Asígnele un número a cada referencia citada, en orden ascendente, incluyendo las del texto, los cuadros y las figuras. Anote los números de las referencias entre paréntesis y no como índice ni subíndice.
- Cuando hay más de una cita, éstas deben separarse mediante comas, pero si fueran correlativas, se menciona la primera y la última separadas por un guión.
- Cuando en el texto se menciona un autor, el número de la referencia se pone tras el nombre del autor. Si se tratase de un trabajo realizado por más de dos autores, se cita el primero de ellos seguido de la abreviatura “et al” y su número de referencia.

#### **1. Artículo estándar.**

Autor/es\*. Título del artículo. Abreviatura\*\* internacional de la revista. año; (volumen número): página inicial-final del artículo.

Kolovou G, Daskalova D, Mikhailidis DP. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Angiology*. 2003;54(2): 59-71.

\* Si los autores fueran más de seis, se mencionan los seis primeros seguidos de la abreviatura et al.

\*\* Las abreviaturas internacionales pueden consultarse en “Journals Database” de PubMed. Las españolas en el Catálogo C17 (<http://www.c17.net/>) ó bien en el DREV (<http://bvsalud.isciii.es/php/index.php>) de la BVS del Instituto de Salud Carlos III y en la base de datos de Revistas de Biomedicina del IHCD de Valencia. ([https://bddoc.csic.es:8180/inicioBuscarSimple.html?estado\\_formulario=show&bd=IME&tabla=revi](https://bddoc.csic.es:8180/inicioBuscarSimple.html?estado_formulario=show&bd=IME&tabla=revi)).

### **1.1 Incorporación opcional de número de identificación único de bases de datos en la referencia:**

La mayoría de bases de datos o documentos electrónicos incorpora un número de identificación unívoco en cada referencia (PubMed: PMID; Cochrane Library:CD; DOI), que pueden incorporarse a la referencia bibliográfica para su perfecta identificación.

López-Palop R, Moreu J, Fernández-Vázquez F, Hernández Antolín R; Working Group on Cardiac Catheterization and Interventional Cardiology of the Spanish Society of Cardiology. Registro Español de Hemodinámica y Cardiología Intervencionista. XIII. Informe Oficial de la Sección de Hemodinámica y Cardiología Intervencionista de la Sociedad Española de Cardiología (1990-2003). *Rev Esp Cardiol.* 2004; 57(11): 1076-89. Citado en PubMed PMID 15544757.

The Cochrane Database of Systematic Reviews 1998, Issue 3 [base de datos en Internet]. Oxford: Update Software Ltd; 1998- [consultado 28 de diciembre de 2005]. Wilt T, Mac Donald R, Ishani A, Rutks I, Stark G. Cernilton for benign prostatic hyperplasia. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD001042.pub2/abstract> ó <http://www.update-software.com/clibplus/clibplus.asp>. Citado en Cochrane Library CD001042.

### **1.2 Organización o equipo como autor**

Grupo de Trabajo de la SEPAR. Normativa sobre el manejo de la hepmitosis amenazante. *Arch Bronconeumol* 1997; 33: 31-40.

## **2. Libros**

Autor/es. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año.

Jiménez L, Montero FJ. Compendio de Medicina de Urgencias: guía terapéutica. 2ª ed. Madrid: Elsevier; 2005.

*Nota: La primera edición no es necesario consignarla. La edición siempre se escribe en números arábigos y abreviatura: 2ª ed. Si la obra estuviera compuesta por más de un volumen, citarlo a continuación del título del libro.*

### **2.1 Organización como autor**

Comunidad de Madrid. Plan de Salud Mental de la Comunidad de Madrid 2003-2008. Madrid: Comunidad de Madrid, Consejería de Sanidad; 2002.

### **2.2 Capítulo de libro**

Autor/es del capítulo. Título del capítulo. En\*: Director/Coordinador/Editor del libro. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año. página inicial-final del capítulo.

Mehta SJ. Dolor abdominal. En: Friedman HH, editor. Manual de Diagnóstico Médico. 5ª ed. Barcelona: Masson; 2004. p.183-90.

### **3. Comunicación presentada a un congreso**

Autor/es de la ponencia. Título de ponencia. En: Título oficial del Congreso. Lugar de Publicación: Editorial; año. página inicial-final de la comunicación/ponencia.

Castro A, Escudero J. El Área del Corazón del Complejo Hospitalario “Juan Canalejo”. En: Libro de Ponencias: V Jornadas de Gestión y Evaluación de Costes Sanitarios. Bilbao; Ministerio de Sanidad y Consumo, Gobierno Vasco; 2000.p. 12-22.

*Nota: Esta misma estructura se aplica a Jornadas, Simposios, Reuniones Científicas etc.*

### **4. Informe científico o técnico**

Autor/es. Título del informe. Lugar de publicación: Organismos/Agencia editora; año. Número o serie identificativa del informe.

Organización Mundial de la Salud. Factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares: nuevas esferas de investigación. Informe de un Grupo Científico de la OMS. Ginebra: OMS; 1994. Serie de Informes Técnicos: 841.

## 5. Tesis Doctoral

Autor. Título de la tesis [tesis doctoral]\*. Lugar de publicación: Editorial; año.

Muñiz J. Estudio transversal de los factores de riesgo cardiovascular en población infantil del medio rural gallego [tesis doctoral]. Santiago: Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico, Universidad de Santiago; 1996.

## 6. Patente

Joshi R, Strebel HP, inventores; Fumapharm AG, titular. Utilización de derivados de ácido fumárico en la medicina de trasplante. Patente Europea. ES 2195609T3. BOPI 1-12-2003.

## 7. Artículo de revista en Internet

Autor/es del artículo. Título del artículo. Nombre de la revista [revista en Internet]\* año [fecha de consulta]\*\*; volumen (número): [Extensión/páginas\*\*\*]. Dirección electrónica.

Francés I, Barandiarán M, Marcellán T, Moreno L. Estimulación psicocognoscitiva en las demencias. An Sist Sanit Navar [revista en Internet]\* 2003 septiembre-diciembre. [acceso 19 de octubre de 2005]; 26(3). Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272003000500007&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000500007&lng=en&nrm=iso&tlng=en).

\* Puede sustituirse por: [Revista on-line], [Internet], [Revista en línea]

\*\* [acceso....], [consultado...], [citado...]

\*\*\* Si constasen.

## 8. Base de datos en Internet

Institución/Autor. Título [base de datos en Internet]. Lugar de publicación: Editor; Fecha de creación, [fecha de actualización; fecha de consulta]. Dirección electrónica.

PubMed [base de datos en Internet]. Bethesda: National Library of Medicine; 1966- [fecha de acceso 19 de diciembre de 2005]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/>

**Cuadros y figuras:** elabore los cuadros usando la utilidad de tablas del procesador de palabras y no por columnas y tabulados en el texto mismo del manuscrito; envíe los nombres de los archivos. Para las figuras en blanco y negro, envíe el original y dos copias de la ilustración

correspondiente acompañadas de su versión en medio magnético en formato tiff o jpg. a 300dpi. como mínimo de resolución y en un tamaño media carta. Gráficas desarrolladas en Exell, favor remitir el archivo original. Si son fotografías en blanco y negro, debe enviar tres copias de excelente calidad junto con la versión en medio magnético, en formato tiff o jpg a 300dpi como mínimo de resolución; si son transparencias, envíe la diapositiva original y no una copia, junto con dos impresiones en papel (fotocopia o escáner, adjuntando copia en medio magnético, formato tiff a 300dpi como mínimo de resolución) de la misma imagen para el envío a los evaluadores del manuscrito. En las preparaciones de microscopio, mencione la coloración y el aumento según el objetivo utilizado.

### *Lista preliminar para la preparación de envíos.*

Como parte del proceso de envíos, los autores/as están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Se devolverán a los autores/as aquellos envíos que no cumplan estas directrices.

1. El envío no ha sido publicado previamente ni se ha sometido a consideración por ninguna otra revista (o se ha proporcionado una explicación al respecto en los Comentarios al editor/a).
2. El archivo de envío está en formato OpenOffice, Microsoft Word, RTF o WordPerfect.
3. Siempre que sea posible, se proporcionan direcciones URL para las referencias.
4. El texto tiene un interlineado sencillo, un tamaño fuente de 12 puntos, se utiliza cursiva en lugar de subrayado (excepto en las direcciones URL), y todas las ilustraciones, figuras y tablas se encuentran colocadas en los lugares del texto apropiados, en vez de al final.
5. El texto reúne las condiciones estilísticas y bibliográficas incluidas en Pautas para el autor/a, en Acerca de la revista.
6. En el caso de enviar el texto a la sección de evaluación por pares, se siguen las instrucciones incluidas en Asegurar una evaluación anónima.

### *Aviso de derechos de autor.*

NOVA por <http://www.unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova> se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional.

Así mismo, los autores mantienen sus derechos de propiedad intelectual sobre los artículos.

*Declaración de privacidad.*

Los nombres y las direcciones de correo electrónico introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines establecidos en ella y no se proporcionarán a terceros o para su uso con otros fines.