



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

**Capacidad antibacteriana de *Oedogonium capillare*, *Citrus limon* y
Mangifera indica como control de infecciones bacterianas en
*Carassius auratus***

Tesis

(Idónea Comunicación de Resultados)

que para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Agropecuarias

Presenta

Roxana López Simeon

DIRECTORA: Dra. María del Pilar Negrete Redondo
ASESORA: M. en C. María Guadalupe Figueroa Torres
ASESOR: M. en C. Jorge Manuel Romero Jarero

Enero 2006

RESUMEN

En la primera fase del presente estudio se comprobó, *in vitro*, la capacidad de los extractos que se obtuvieron a partir del alga verde dulceacuícola *Oedogonium capillare*, el limón *Citrus limon* y el mango *Mangifera indica*, para inhibir el crecimiento de 23 diferentes especies de bacterias, tanto patógenas de humanos como de importancia ictiopatógena, pertenecientes a las familias: *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Aeromonadaceae* y *Vibrionaceae*. Las diferentes cepas bacterianas silvestres se aislaron a partir de peces *Carassius auratus*, cultivados en granjas acuícolas del estado de Morelos, México. Posterior a su purificación se identificaron utilizando la técnica del API-20E y API-20NE. Las algas se recolectaron de los estanques para su cultivo en el Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Xochimilco; el limón y el mango se compraron en un mercado de la Ciudad de México. Una vez secos y homogeneizados los organismos, se obtuvieron los respectivos extractos por medio de extracciones hexánicas, alcohólicas o hidrolíticas. Para determinar la sensibilidad antibiótica de las bacterias a la actividad de los extractos se instrumentó el sistema estandarizado de pruebas de difusión de discos. Se comparó la actividad antibacteriana de los antibióticos comerciales de mayor uso en la acuicultura: kanamicina, cloranfenicol y tetraciclina con respecto a los extractos de origen natural. Se efectuó la técnica de lisis alcalina para la extracción de plásmidos resistentes a antibióticos para determinar su presencia en todas las cepas bacterianas. Se realizaron replicas de todo el experimento usando cepas de la American Type Culture Collection (ATCC). Se comparó el comportamiento antibacteriano de los extractos vegetales con cada uno de los antibióticos comerciales por medio de la medición de los diámetros de los halos de inhibición. Se aplicó la correlación de Pearson obteniendo altos coeficientes de correlación entre la forma de actuar del extracto hexánico del alga y los antibióticos empleados en este estudio. La actividad antibacteriana de *O. capillare*, está más relacionada con la actividad de la kanamicina que con la actividad de los otros dos antibióticos. Se obtuvieron bajos coeficientes de correlación entre la actividad antibacteriana de los restantes extractos y los antibióticos comerciales. En todas las cepas de colección se registró mayor actividad antibacteriana de los extractos, el promedio de los diámetros de los halos de inhibición de las especies de las cuatro familias bacterianas de este grupo fue mayor que los del grupo silvestre, posiblemente debido a la presencia de plásmidos-R en este último grupo. Para efectuar las pruebas *in vivo* correspondientes a la segunda fase del experimento y comprobar la capacidad antibacteriana del extracto *O. capillare*, se instrumentó el uso de ésta en diferentes etapas: en la primera se comprobó la actividad del extracto hexánico de *O. capillare* a partir de la administración del tratamiento a través de tres vías, alimento, intramuscular y baños, después de haberse inoculado experimentalmente a los peces con 1 mL de 10^4 ufc/mL de la bacteria *V. fluvialis* por cada 100 g de pez. El uso del extracto por estas vías no fue efectivo. Con base en los resultados anteriores se diseñó una segunda fase en la cual los diferentes tratamientos se administraron antes y después de provocar experimentalmente la infección. Se registró que los peces tratados con el alga

seca adicionada al alimento antes y después de ser infectados superaron la infección en un 80% registrando diferencias significativas con el testigo. Así mismo los peces tratados con el extracto alcohólico de *O. capillare* registraron sobrevivencia mayor al 80% obteniendo diferencias significativas con el testigo y el extracto hexánico vía intramuscular y alimento, lo que nos indica que estos dos tratamientos fueron los que mostraron mayor efectividad en contra de *V. fluvialis*.

ABSTRACT

In the first stage of the present study it was proved, *in vitro*, the ability of extracts obtained from the: fresh water green alga *Oedogonium capillare*, lemon *Citrus limon* and mango *Mangifera indica*, order to inhibit the growth of 23 different bacteria species, either pathogenic for humans as of ichthyopathogenic importance, belonging to the families Pseudomonadaceae, Enterobacteriaceae, Aeromonadaceae and Vibrionaceae. The different wild bacteria strains were isolated from *Carassius auratus* fish, cultivated in aquaculture farms in the state of Morelos, Mexico. After their purification they were identified by API-20E and API-20NE technique. The algae were recollected from the ponds for their culture at Center of Biologic and Aquaculture Researchs of Xochimilco, lemon and mango were bought in a Mexico City's market. Once the organisms were dried and homogenized, the respective extracts were obtained by means of hexanic, alcoholic or hydrolytic extractions. In order to determine the antibiotic sensitivity of bacterias toward the extracts' activity the standardized system of diffusion disc tests was used. The antibacterial activity of commercial antibiotics of greater use in aquaculture was compared: kanamycin, chloramphenicol and tetracycline in relation to the natural origin extracts. The alkaline lysis technique was performed for the extraction of resistant plasmids to antibiotics, in order to determine their presence in all bacteria strains. Replicas of all the experiment were done using strains from American Type Culture Collection (ATCC). The behavior of the three extracts as antibacterial was compared with each of the commercial antibiotics by means of a Pearson correlation analysis. High coefficients of correlation were obtained between the performance of hexanic extract of the alga and the antibiotics used in this study. The antibacterial activity of *O. capillare* is more related with the activity of kanamycin than with the activity of the other two antibiotics. Low coefficients of correlation were obtained between the antibacterial activity of the remaining extracts and commercial antibiotics. In collection strains greater antibacterial activity of extracts were registered, the average diameter of inhibition halo of the four bacteria families in this group was greater than the wild group, possibly due to presence of plasmids-R in this last group. To carry out the test *in vivo* corresponding to second stage of the experiment and verify antibacterial capacity of the *O. capillare* extract, the use of this was instrumented in different stages: in the first one, activity of the hexanic extract of *O. capillare* was proved from the administration of the treatment through the three pathways: feed, intramuscular and baths after the fish had been experimentally inoculated with 1 mL of 10^4 ufc/mL of the *V. fluvialis* bacteria for every 100 gr of fish. The use of the extract by this pathways was not effective. Based on the obtained results a second

stage was designed in which the different treatments were administered before and after experimentally provoking the infection. It was registered that fish treated with the dry alga added to feed before and after being infected overcame the infection in 80% registering significant differences with the control group. Thereafter, the fish treated with alcoholic extract of *O. capillare* registered a major survival of 80% obtaining significant differences with the control group and the hexanic extract intramuscularly and orally, what indicates that these two treatments showed greatest efficiency against *V. fluvialis*.