

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ACCION ANTIMICROBIANA DE ALGUNAS ESPECIES

DE ESPONJAS MARINAS

VIRGINIA ORDAZ MORENO

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS TESIS 1978
ABQ M. G. 349 *BVA* 313
FECHA _____
PROC. _____
• _____



PRESIDENTE:

Prof. Ignacio Diez de Urdanivia.

V O C A L :

Prof. Oscar Amor Doderó.

Jurado asignado
originalmente
según el tema

SECRETARIO:

Profa. Elda Peniche Quintana.

1er. SUPLENTE:

Profa. Lilia Vierna García.

2o. SUPLENTE:

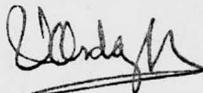
Profa. Ana María Méndez Chávez.

Sitio donde se desarrolló el tema:

Centro de Ciencias del Mar y Limnología

Sustentante:

Virginia Ordaz Moreno



Asesor del Tema:

Profa. Elda Peniche Quintana



Con todo mi amor a:

Mis padres Emilia y Guillermo.

Mis hermanos Guadalupe, Benjamín, Carmen, Rosa María,

Lina, Guillermo, Raúl, Leonor y Laura.

Mi abuelita Carmen Mora Moreno.

Mis primos Eduardo, Emilio y Carlos.

Con gratitud a mis profesores:

Dr. Gerardo Green Macías.

Q.F.B. Elda Peniche Quintana.

Q.F.B. Emma Galindo Hernández.

Con cariño a:

Srita. Gloria Maurice Lira.

M. en C. Sergio Arturo Cortés Guzmán.

M. en C. Francisco Flores Verdugo.

M. en C. Fernando González Farías.

Con mi eterna amistad a:

Sr. Manuel Sánchez García.

Sr. Ricardo Bernal de la Sancha.

Sr. Juan Fernández Marines.

Sr. Roberto Guerrero Hernández.

Sr. Adrián Aguilar Rivera.

Sr. Roberto Vázquez Ayala.

Sr. Juan Manuel Rivera Hernández.

Sr. Roberto Soto Correa.

Sr. Víctor Ortega Velázquez.

A todo el personal del taller de Ediciones e Impresos del Consejo Nacional de Recursos en atención a la Juventud.

Agradezco de una manera muy especial al Dr. Jorge Olarte Alvarez, Jefe del Laboratorio de Bacteriología Intestinal del Hospital Infantil de México, y a todas las personas que trabajan en dicho laboratorio, su inapreciable ayuda.

humanidad es una preocupación,
de la cual, nosotros estamos libres...



CONTENIDO

I.	Introducción	9
II.	Generalidades de los organismos empleados	10
	A. Phylum Porifera	10
	B. Microorganismos de prueba	19
III.	Antecedentes	22
IV.	Material y Métodos	28
	A. Esponjas	28
	B. Términos técnicos	28
	C. Reactivos	29
	D. Microorganismos de prueba	29
	E. Preparación de los extractos crudos y de los discos prueba	31
	F. Pruebas de actividad antimicrobiana in vitro	32
V.	Resultados	33
VI.	Discusión	65
VII.	Conclusiones	71
VIII.	Literatura citada	73

RESUMEN

Se colectaron esponjas de tres áreas de las costas mexi-
canas: Veracruz, Ver., Zihuatanejo, Gro. y Puerto Morelos,
Quintana Roo, y se obtuvieron extractos crudos de distinta
polaridad. Con los extractos obtenidos se hicieron pruebas
in vitro sobre el desarrollo de los siguientes microorganismos: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella typhi, Shigella flexnerii y Streptococcus ~~A~~ hemolyticus,
mantenidos en condiciones óptimas de crecimiento. Str. β hemolítico

La inhibición del crecimiento producida por el extracto
crudo de la esponja se midió en milímetros de diámetro, uti-
lizando como controles sensidiscos de los diferentes anti-
bióticos comerciales y discos de papel filtro estériles.

Se observó que además de las propiedades antimicrobia-
nas, algunas esponjas presentaron acción hemolítica sobre
glóbulos rojos de carnero contenidos en agar en forma de
sangre desfibrinada.

La hemólisis se midió en milímetros de diámetro.

Se compararon las diferentes propiedades que tienen las
esponjas estudiadas.

I. INTRODUCCION

La constante aparición de cepas resistentes a los antibióticos comerciales comunes, constituye una gran preocupación en el tratamiento de las infecciones por microorganismos.

La resistencia que presenta un microorganismo frente a un agente antimicrobiano específico, está relacionado con la frecuencia con que éste es administrado. Esto ha hecho cada vez más urgente la necesidad de encontrar nuevas sustancias útiles en la terapéutica antimicrobiana, ya sean compuestos orgánicos, semisintéticos o sintéticos. Así la búsqueda de agentes antimicrobianos ha partido de diversas fuentes, principalmente naturales para obtenerlos como tales o bien como precursores de ellos.

El medio marino se presenta ahora como una fuate natural en potencia, no sólo de sustancias con actividad antibiótica, sino de otros agentes con diversas acciones farmacológicas. La diversidad de especies que presenta y su ecología, hacen de él un nuevo recurso en la antibióticoterapia.

El propósito de este estudio es el de determinar la acción antimicrobiana in vitro de algunas especies de esponjas marinas de las costas mexicanas y mencionar algunas propiedades de interés encontradas en ellas.

II. GENERALIDADES DE LOS ORGANISMOS EMPLEADOS

A. PHYLUM PORIFERA

Las esponjas se consideraron por mucho tiempo como plantas hasta que, en 1835, se les dió la categoría de animales (Grant, R. F. 1835). Aunque ocupando un lugar muy especial por sus particularidades de desarrollo y estructura, el Phylum Porifera se clasificó dentro del subreino de los Metazoos (Stempien, et al., 1970).

Los poríferos son adultos fijos y sus larvas son flageladas capaces de nadar libremente. A menudo agrupados en colonias, tienen el cuerpo con simetría radial o son asimétricos. El Phylum se divide principalmente en tres clases: Clase Calcárea o Calcispongia que posee un esqueleto de carbonato de calcio, Clase Hexactinellida con esqueleto de sílice y Clase Demospongia que puede tener un esqueleto de sílice, espongina o ambos (Weiz, 1974).

De las casi cinco mil especies descritas, la mayoría son marinas, están bien adaptadas a su medio y se encuentran en todos los océanos del mundo, desde las zonas de intermarea hasta las zonas profundas (Stempien, et al., 1970).

En vista de sus hábitos sésiles y su estructura porosa, las esponjas son frecuentemente habitadas por una gran variedad de animales incluyendo peces, equinodermos, crustáceos, anélidos, moluscos, briozoos, coelenterados, bacterias y otras esponjas. Compiten por el espacio vital con otros animales sésiles como corales, tunicados, etc. Algunos moluscos las usan como alimento y algunos cangrejos como protección (Hyman, 1940).

El cuerpo de las esponjas tiene una organización muy sencilla. Consta de un epitelio externo, un epitelio interno y una mesoglea intermedia. El epitelio externo está constituido por pinacocitos que son células planas de forma poligonal que constituyen la epidermis. El epitelio está formado por coanocitos que son células flageladas con un collar gelatinoso, que mantiene a través de la esponja un flujo de agua con alimentos. La mesoglea es una masa gelatino-

sa en cuyo espesor se encuentran células mesenquimáticas ameboides de varios tipos llamadas amebocitos (Weiz, 1974).

La complejidad de las esponjas tiene tres tipos: Estructura Asconoide, estructura Siconoide y estructura Leuconoide. Casi todas las esponjas córneas pertenecen al tipo leuconoide y las esponjas silíceas tienen una estructura sincicial (Lám. 1) (Weiz, 1974).

Ciertos amebocitos especializados pueden funcionar como gametos y también como importantes células digestivas. Los arqueocitos son amebocitos especializados en la fagocitosis de partículas alimenticias de gran tamaño, que no han podido ser capturadas por los coanocitos. Otros amebocitos tienen la función de fabricar los elementos esqueléticos, de almacenar los productos de reserva, de ayudar a la nutrición de los óvulos o de segregar sustancias gelatinosas (Weiz, 1974).

El alimento principal de las esponjas consiste en organismos diminutos y detritus orgánicos, también se piensa que pueden utilizar nutrientes disueltos. En ausencia de cavidad digestiva, la digestión es intracelular y tienen lu-

gar en los amebocitos. Algunos productos de la digestión son almacenados en los amebocitos conocidos como tesocitos en forma de glicógeno, grasas, glicoproteínas y lipoproteínas. Los productos de excreción son usualmente bases complejas del nitrógeno - como agmatina, un derivado de la guanidina (Jakowska, et al., 1960).

Parece ser que las esponjas no tienen células nerviosas aunque son capaces de responder a estímulos externos, tales como la luz brillante y a los estímulos mecánicos que provocan en la esponja una lenta contracción. Parece que la respuesta corre a cargo de los miocitos situados alrededor de los poros inhalantes o del ósculo y pueden provocar la contracción o dilatación de tales orificios. (Weiz, 1974).

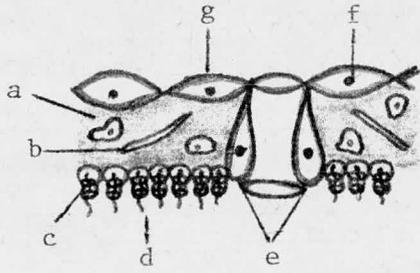
Los elementos que forman el esqueleto son las espículas que presentan de uno a seis radios según el tipo de esponja en que se encuentren. Las esponjas tienen una elevada capacidad reproductora vegetativa, pueden reproducirse por gemación y fragmentación. La mayoría de las esponjas son hermafroditas, pero la autofecundación es rara ya que la formación de los óvulos y espermatozoides no es al mismo tiempo.

Los espermatozoides salen de la esponja por el ósculo y el atrio y entran a otra con la corriente de agua por los poros inhalantes. Los espermatozoides son capturados por los amebocitos o por los coanocitos que los transportan hasta el óvulo, realizándose así la fecundación (Weiz, 1974).

Las esponjas se presentan en muchos colores, el exterior a menudo difiere del interior, algunas esponjas cambian de color al morir y otras en vida (De Laubenfels, 1953).

La consistencia de una esponja varía desde compresible hasta dura. Algunas son consistentes, otras frágiles y quebradizas o bien cartilaginosas. La superficie de una esponja puede ser lisa, verdaderamente conulosa, tuberculada o hispida. En cuanto a forma pueden ser ramosas, flabeladas, tubulares o vasiformes, como se muestra en la lámina 2 (De Laubenfels, 1953).

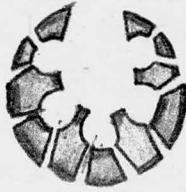
Lám. 1 - Figs. 1. Tres capas fundamentales del tejido de una esponja. a. Mesoglea. b. Espícula. c. Coanocito. d. Epitelio interno. e. Porocito. f. Pinacocito. g. Epitelio externo. 2-4 Niveles de complejidad estructural de las esponjas. 2. Asconoide. 3. Siconoide. 4. Leuconoide. 5. Porocito. 6. Poro inhalante. 7a. Prosópilo. 7b. Canales inhalantes. 7c. Apópilo. 8-10. Esquema de la estructura sincicial de las esponjas silíceas. 8a. Red de células mesenquimáticas. 8b. Cámara de coanocitos o cestilla vibrátil. 8c. Atrio. 9. Cámara. a. Apópilo. b. Cámara de coanocitos. c. Prosópilo. 10a. Prosópilo. (Weiz, 1974).



1



2



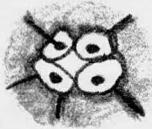
3



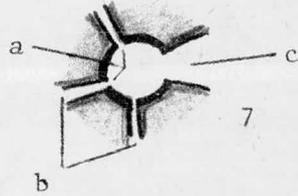
4



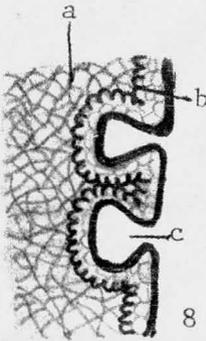
5



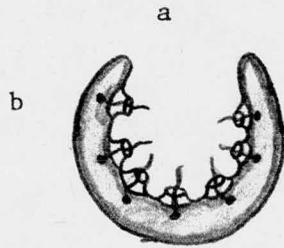
6



7



8



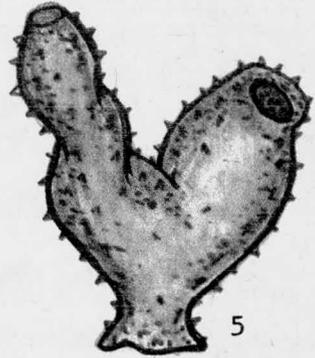
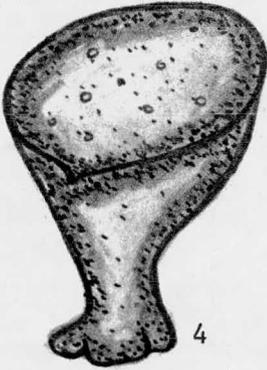
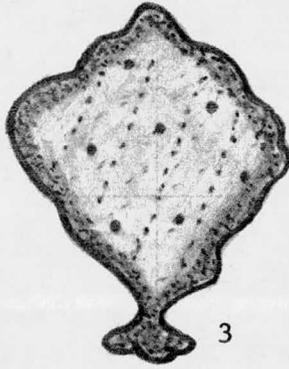
9



10

c

Lám. 2 - Figs. 1-5. Formas externas más comunes en las esponjas. 1,2. Ramosas.
3. Flabelada.
4. Vasiforme.
5. Tubular.
(De Laubenfels, 1953).



B. MICROORGANISMOS DE PRUEBA

Staphylococcus aureus. Los estafilococos son células grampositivas cuya principal característica es coagular el plasma y ser hemolíticos. Forman parte de la flora normal de la piel humana y los aparatos respiratorio y digestivo. Se encuentran con regularidad en el aire y en los lugares habitados por el hombre, de donde éste puede infectarse. Los estafilococos causan diversas infecciones piógenas, abscesos, supuraciones y aún septicemias mortales. Intervienen en muchas infecciones cutáneas como acné, impétigo y pueden ser agentes causales de la neumonía, meningitis, empiemas, endocarditis, ostiomielitis y supuraciones en cualquier órgano.

Salmonella typhi. Las salmonelas son bacilos gramnegativos, contienen en su membrana lipopolisacáridos que se liberan por lisis de la célula y actúan como endotoxinas. Se les encuentra en las heces de los enfermos, que al contaminar las aguas y los alimentos pueden provocar la infección de otros hombres. En todas las infecciones por salmonela, los organismos entran por vía oral y pueden producir varios

tipos de enfermedad. Las formas mixtas son más frecuentes: Fiebres intestinales como la fiebre tifoidea, septicemias, donde estos microorganismos se diseminan muy ampliamente y tienden a causar supuraciones focales, abscesos, meningitis, ostiomielitis, neumonía y endocarditis especialmente en pacientes debilitados.

Streptococcus hemolyticus. Los estreptococos son microorganismos grampositivos, asociados a importantes enfermedades humanas. Más de veinte productos extracelulares antigénicos son elaborados por el grupo A del estreptococo. Entre las infecciones estreptocóccicas se pueden mencionar erisipela, fiebre puerperal, infección generalizada (septicemia estreptocóccica), faringitis estreptocóccica, impétigo, endocarditis bacteriana subaguda. Entre las enfermedades postestreptocóccicas tenemos la fiebre reumática y la glomerulonefritis aguda.

Escherichia coli. Escherichia coli es un bacilo gramnegativo que pertenece al grupo de los coliformes. Constituye parte de la flora normal del intestino del hombre y animales, y sólo se transforma en patógeno cuando alcanza teji-

dos fuera de él, particularmente las vías urinarias, vías biliares, peritoneo, pulmones y meninges, provocando inflamación en estos sitios. Producen infecciones generalmente en la primera infancia y en la vejez. Se han encontrado algunas cepas que ahora se conocen con el nombre de enteropatógenas y que pueden producir diarrea aguda y otras que penetran en el epitelio intestinal provocando una inflamación que se asemeja a la disentería por Shigela.

Shigella flexnerii. Las shigelas son bacilos gramnegativos cuyo hábitat natural está limitado al intestino grueso del hombre. Las infecciones por shigela están limitadas casi siempre al aparato digestivo, la infección del torrente circulatorio es muy rara. Las shigelas pueden causar disentería. Todas las shigelas al autolisarse, liberan su antígeno somático tóxico. Esta endotoxina está relacionada posiblemente con la intensa irritación de la pared del intestino.

Shigella flexnerii pertenece al grupo de las shigelas capaces de fermentar el manitol.

III. ANTECEDENTES

En 1954, Nigrelli observó por primera vez la acción antimicrobiana de ciertas esponjas subtropicales, al colocar un pequeño trozo de la esponja sobre cajas de Petri sembradas. Fue hasta 1959, cuando reportó una sustancia que posee actividad contra bacterias gramnegativas, bacterias grampositivas, Mycobacterium sp y Cándida albicans y la llamó Ectyonina. La Ectyonina fue purificada a partir del extracto etil étereo de la esponja Microciona prolifera, y no presentó toxicidad frente a peces y ratones (Nigrelli, et al., 1959).

En 1960, se reportó la acción de las esponjas Halichondria panicea, Cliona celata, Tedania ignis, Haliclona viridis, Dysidea ethérea y Oligocera hemorrhages sobre Escherichia coli, Mycobacterium tuberculosis, Cándida albicans y Pseudomonas pyocyanea (Jakowska, et al., 1960).

En 1966, Stempien y otros encontraron una sustancia antibiótica de una esponja del género Agelas, y en 1967, Sharma y Burkholder purificaron dos compuestos de Verongia fistularis y Verongia cauliformis con acción frente a bacterias grampositivas y gramnegativas. En 1968, Sharma, Vig y Burk-

holder reportaron la estructura química de dichos compuestos.

Sharma y otros, en 1970 purificaron y caracterizaron cinco de varios compuestos activos presentes en Dysidea herbacea y dos presentes en Phakelia flabelata con amplia acción frente a bacterias grampositivas y gramnegativas. Stempien y otros en 1972 reportaron la presencia de dos compuestos activos presentes en Verongia archeri. Andersen y Faulkner (1972) reportaron dos esponjas más con actividad antimicrobiana del género Verongia: Verongia thiona y Verongia sp, recolectadas en el Golfo de California.

En la tabla 1 se muestran algunas de las esponjas que han sido reportadas con acción antimicrobiana a partir de 1959, y los microorganismos sobre los cuales actúan.

Tabla 1

Esponjas con acción antimicrobiana reportadas
partir de 1959:

<u>Año</u>	<u>Esponja</u>	<u>Microorganismo prueba</u>
1959	<u>Microciona prolifera</u>	<u>M.aureus</u> , <u>E.coli</u> , <u>P.pyocyanea</u> <u>K.pneumoniae</u> , <u>Myco.Cobra</u> , <u>Myco.607</u> , <u>C.albicans</u> .

<u>Año</u>	<u>Eponja</u>	<u>Microorganismo prueba</u>
		(Nigrelli, et al., 1959).
1960	<u>Halichondria panicea</u>	<u>E.coli</u> , <u>Mycobacterium tuber-</u> <u>culosis</u> , <u>C.albicans</u> ,
	<u>Cliona celata</u>	<u>E.coli</u> , <u>Mycobacterium tuber-</u> <u>culosis</u> , <u>C.albicans</u> ,
	<u>Tedania ignis</u>	<u>E.coli</u> ,
	<u>Haliclona viridis</u>	<u>E.coli</u> , <u>Mycobacterium tuber-</u> <u>culosis</u> , <u>E.albicans</u> ,
	<u>Dysidea etherea</u>	<u>E.coli</u> , <u>Mycobacterium tuber-</u> <u>culosis</u> ,
	<u>Oligocera hemorrhages</u>	<u>E.coli</u> , <u>Mycobacterium tuber-</u> <u>culosis</u> , <u>P.pyocyanea</u> ,
		(Jakowska, et al., 1960).
1967	<u>Cryptotethya crypta</u>	<u>Mycobacterium 607</u> ,
	<u>Haliclona rosea</u>	<u>E.coli</u> ,
	<u>H.viscosa</u>	<u>E.coli</u> ,
	<u>Axinella damicornis</u>	<u>E.coli</u> ,
	<u>Verongia archeri</u>	<u>E.coli</u> ,
	<u>Agelas sp.</u>	<u>E.coli</u> ,

<u>Año</u>	<u>Esponja</u>	<u>Microorganismo prueba</u>
1967	<u>Ianthella sp.</u>	<u>E.coli</u> ,
	<u>Agelas sparsus</u>	<u>E.coli</u> ,
	<u>Homaxinella rudis</u>	<u>E.coli</u> ,
	<u>Callyspongia procumbens</u>	<u>E.coli</u> ,
	<u>Plakortis sp.</u>	<u>E.coli</u> (Nigrelli, et al., 1967)
	<u>Verongia fistularis</u>	<u>B.subtilis</u> , <u>E.coli</u> ,
	<u>Verongia cauliformis</u>	<u>B.subtilis</u> , <u>S.lutea</u> , <u>S.aureus</u> , <u>A.aerógenes</u> , <u>E.coli</u> , <u>K.pneumo-</u> <u>niae</u> , <u>P.vulgaris</u> , <u>P.aeruginosa</u> , <u>S.typhosa</u> , <u>Myco.smegmatis</u> ,
1960	<u>Pellina carbonaria</u>	<u>C.albicans</u> (Sharma, et al., 1960).
1968	<u>Speciospongia vesparia</u>	G(+), G(-), <u>C.albicans</u> ,
	<u>Ianthella ardis</u>	G(+),
	<u>Cinachyra cavernosa</u>	G(+), G(-), (Burkholder, 1968),
	<u>Homaxinella sp.</u>	<u>B.subtilis</u> , <u>E.coli</u> (Sharma, et al., 1968),
1969	<u>Verongia aerophoba</u>	<u>B.subtilis</u> , <u>E.coli</u> , <u>C.albi-</u> <u>cans</u> , <u>Myco.phlei</u> ,

<u>Año</u>	<u>Esponja</u>	<u>Microorganismo prueba</u>
1969	<u>Crambe crambe</u>	<u>B.subtilis</u> , <u>E.coli</u> ,
		<u>C.albicans</u> , <u>Myco.phlei</u> ,
	<u>Aplysilla sulfurea</u>	<u>B.subtilis</u> , <u>E.coli</u> , <u>Myco phlei</u>
	<u>Spongia virgultosa</u>	<u>B.subtilis</u> , <u>Myco phlei</u> ,
	<u>Ircinia variabilis</u>	Ídem,
	<u>Hemimycale columella</u>	<u>B.subtilis</u> , <u>E.coli</u> , <u>Mycophlei</u> ,
	<u>Cliona carteri</u>	<u>E.coli</u> , <u>Myco phlei</u> ,
	<u>Anchinoe ficticius</u>	Ídem,
	<u>Spirastrella cunetatrix</u>	<u>Myco.phlei</u> ,
	<u>Ircinia fasciculata</u>	<u>B.subtilis</u> , <u>Myco phlei</u> ,
	<u>Petrosia ficiformis</u>	<u>B.subtilis</u> , <u>Myco phlei</u> ,
	<u>Placospongia decorticans</u>	<u>E.coli</u> ,
	<u>Cliona copiosa</u>	<u>B.subtilis</u> ,
	<u>Fasciospongia cavernosa</u>	Ídem,
	<u>Pellina semitubulosa</u>	<u>Myco.phlei</u> ,
	<u>Clathria toxistyla</u>	Bacteria Marina 746,
	<u>Crella rosca</u>	Ídem,
	<u>Geodia cydonium</u>	Ídem (Burkholder, et al., 1969).

<u>Año</u>	<u>Eponja</u>	<u>Microorganismo prueba</u>
1970	<u>Dysidea herbacea</u>	G(+),G(-),
	<u>Phakellia flabellata</u>	(Sharma, et al., 1970),
	<u>Desmapsamma anchorata</u>	<u>E. coli</u> ,
	<u>Halichondria melanadocia</u>	Ídem,
	<u>Zygomycete parishii</u>	Ídem (Stempien, et al., 1970),
1972	<u>Verongia thiona</u>	<u>S.aureus</u> , <u>E.coli</u> ,
		<u>E.aerógenes</u> ,
	<u>Verongia sp.</u>	Ídem,
1973	<u>Hymeniacion sp.</u>	G(+),G(-), <u>C.albicans</u> ,
		(Burkholder, 1973).

IV. MATERIAL Y METODOS

A. ESPONJAS

De las esponjas en estudio, diecinueve provienen del arrecife La Blanquilla, Veracruz ($19^{\circ}13' N$, $96^{\circ}06' W$), con temperatura anual promedio de $28^{\circ}C$; dieciocho de Puerto Morelos, Quintana Roo ($20^{\circ}50' N$, $87^{\circ}17' W$), con temperatura anual promedio de $28^{\circ}C$ y cinco de Isla Ixtapa y Bahía Zihuatanejo, Gro. ($17^{\circ}37' N$, $101^{\circ}34' W$), con temperatura anual promedio de $26^{\circ}C$.

La colecta se lleva a cabo por buceo autónomo y buceo libre, a profundidades de tres a quince metros. Las esponjas son inmediatamente congeladas en hielo seco y transportadas al laboratorio para su tratamiento, donde se conservan a temperaturas de $-8^{\circ}C$ en bolsas de polietileno y sin la adición de alguna sustancia química o conservador.

B. TERMINOS TECNICOS

Se considera extracto crudo de una esponja, a las sustancias solubles obtenidas después de homogeneizar la esponja descongelada con un solvente determinado.

Para un manejo más fácil de la esponja como de los da-

tos se da a cada una de ellas una clave, que consiste en una letra y un número. La letra indica el lugar de donde proviene la esponja y el número es para diferenciar una de otra. Así, K significa que la esponja proviene de Quintana Roo, V. de Veracruz y Z de Zihuatanejo.

Las esponjas estudiadas son objeto de investigación taxonómica en el Laboratorio de Farmacología Marina del Centro de Ciencias del Mar y Limnología.

C. REACTIVOS

Para la preparación de los extractos crudos se utilizan cinco solventes de diferente polaridad: Agua destilada, Metanol, Etanol, Acetona y Cloroformo. Los medios utilizados para la conservación y desarrollo de los microorganismos de prueba son Infusión Cerebro-Corazón, agua peptonada al 0.1% Medio 110, Medio S S Agar, Medio ENDO, Base para Agar sangre adicionada con sangre de carnero desfibrinada, y Medio Agar simple.

D. MICROORGANISMOS DE PRUEBA

Las cepas de Salmonella typhi, Escherichia coli y Sthapylococcus aureus provienen del Departamento de Bacterio

logía de la Facultad de Química, Shigella flexnerii del Laboratorio de Bacteriología Intestinal del Hospital Infantil de México y el Streptococcus β hemolyticus taxo A del Laboratorio de Bacteriología del mismo hospital.

El comportamiento de las cepas frente a los antibióticos comerciales es la siguiente:

S. aureus presenta resistencia a: Ampicilina, Penicilina, Sulfonamida. Presenta sensibilidad media a Cefalosporina, Cloramfenicol, Tetraciclina, Leucomicina y Gentamicina y presenta sensibilidad a Eritromicina, Oxacilina, Rifocina y Novobiocina.

S. typhi no es resistente a ningún antibiótico probado y presenta sensibilidad a Cefalosporina, Colimicina, Acido Nadilíxico, Kanamicina, Tetraciclina, Ampicilina, Gentamicina y Cloramfenicol.

E. coli presenta resistencia a Cloramfenicol y sensibilidad a Cefalosporina, Colimicina, Ac. Nadilíxico, Kanamicina, Tetraciclina, Ampicilina y Gentamicina.

Sh. flexnerii es resistente a Cloramfenicol, Tetraciclina, Sulfadiazina y Estreptomina y presenta susceptibili-

dad a Cefalosporina, Colimicina, Ac. Nadilíxico, Kanamicina y Ampicilina.

S. β hemolyticus es resistente a Sulfonamidas, presenta sensibilidad media a Cloramfenicol, Tetraciclina, Novobiocina y Leucomicina y es sensible a Ampicilina, Cefalosporina, Eritromicina, Oxacilina, Penicilina y Rifocina.

Las cepas originales de E. coli, S. aureus y S. typhi se mantienen en Infusión Cerebro-Corazón, Sh. flexnerii en medio Kligler y Streptococcus β hemolyticus en placas de agar enriquecidas con sangre.

El método de desarrollo empleado es el de Kirby y Bauer comúnmente utilizados para pruebas de antibiosis y que consiste en lo siguiente: Se inocula al microorganismo en Infusión Cerebro-Corazón y se incuba a 37°C por tres horas, al cabo de las cuales se siembra sobre medio de Agar simple para Sh. flexnerii, E. coli, S. aureus y S. typhi, y sobre agar enriquecido con sangre para S. β hemolyticus haciendo estrías en tres direcciones: horizontal, vertical y transversal.

E. PREPARACION DE LOS EXTRACTOS CRUDOS Y DE LOS DISCOS PRUEBA

Los extractos crudos se preparan homogeneizando cinco

gramos de la esponja con cincuenta mililitros del solvente en un homogeneizador de tejidos. La suspensión de células resultante se centrifuga por quince minutos a 2385 rpm y se desecha el sedimento. El líquido sobrenadante se coloca en un recipiente que facilite la evaporación del solvente al cabo de la cual quedan en el fondo las sustancias solubles en forma de residuo. El residuo es removido con una espátula, y se pesan cincuenta miligramos de éste sobre un disco de papel filtro estéril de seis milímetros de diámetro. Para evitar posibles contaminaciones, se coloca sobre el disco preparado una gota de solvente que se deja evaporar. Se hacen discos control con solvente solamente.

F. PRUEBAS DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO

Los discos son colocados sobre las cajas Petri previamente sembradas, se meten a refrigerar por una o dos horas para que los microorganismos no empiecen a reproducirse inmediatamente y facilitar la difusión del residuo, finalmente se incuban a 37°C por veinticuatro horas, al cabo de las cuales se observan los resultados.

IV. RESULTADOS

En la Tabla 2 se muestra la actividad de los extractos de las esponjas sobre los diferentes microorganismos de prueba. Los extractos están indicados como:

H	Acuoso
M	Metanólico
E	Etanólico
A	Acetónico
C	Clorofórmico

La inhibición está medida en milímetros de diámetro, tomando en cuenta que el diámetro de los discos es de seis milímetros.

Tabla 2

Actividad de los extractos de las esponjas estudiadas

Esponja	Ex-tracto	Inhibición en mm. de diámetro				
		<u>E.coli</u>	<u>S.aureus</u>	<u>S.typhi</u>	<u>Sh.flex neri</u>	<u>S.βhemo lyticus</u>
V-8	H	8.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0

Tabla 2
(Continuación)

Esponja	Ex-tracto	Inhibición en mm. de diámetro				
		<u>E.coli</u>	<u>S.aureus</u>	<u>S.typhi</u>	<u>Sh.flex neri</u>	<u>S.βhemo lyticus</u>
V-9	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	7.0	10.0	6.0	6.0	6.0
	E	7.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	7.0	8.0	6.0	6.0	6.0
	C	8.0	6.0	6.0	6.0	6.0
V-13	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
V-16	H	8.0	8.0	6.0	6.0	6.0
	M	7.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	E	7.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	7.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	C	7.0	9.0	6.0	6.0	6.0
V-17	H	6.0	6.0	6.0	9.0	7.0
	M	6.0	25.0	40.4	15.0	7.0
	E	6.0	22.0	40.8	14.0	7.0
	A	6.0	20.0	40.0	16.0	7.0
	C	6.0	23.0	13.0	12.0	7.0
V-18	H	6.0	6.0	25.0	19.0	6.0
	M	6.0	6.0	33.5	6.0	6.0
	E	6.0	7.0	29.4	6.0	6.0
	A	6.0	7.0	31.2	11.0	7.0
	C	6.0	8.0	29.6	16.0	6.0

Tabla 2
(Continuación)

Esponja	Ex-tracto	Inhibición en mm. de diámetro				
		<u>E.coli</u>	<u>S.aureus</u>	<u>S.typhi</u>	<u>Sh.flex neri</u>	<u>S.phemo lyticus</u>
V-19	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	8.0	6.0	6.0	6.0
V-20	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	11.0	6.0	6.0	9.0
	E	6.0	10.0	6.0	6.0	8.0
	A	6.0	11.0	6.0	6.0	8.0
	C	6.0	9.0	6.0	6.0	6.0
V-21	H	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
V-38	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	7.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
V-201	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	8.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0

Tabla 2
(Continuación)

Esponja	Ex- tracto	Inhibición en mm. de diámetro				
		<u>E.coli</u>	<u>S.aureus</u>	<u>S.typhi</u>	<u>Sh.flex neri</u>	<u>S.β hemo lyticus</u>
V-202	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.5	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.5	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	8.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
V-203	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	9.0	9.0	6.0	6.0	6.0
	E	7.0	8.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	10.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	8.0	6.0	6.0	6.0
V-204	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	14.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
V-205	H	7.0	6.0		6.0	12.0
	M	6.0	6.5		17.5	6.0
	E	6.0	6.5		15.0	8.0
	A	8.0	6.5		6.0	6.0
	C	8.0	6.0		12.0	14.0
<u>H.rubens</u>	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0

Tabla 2
(Continuación)

Esponja	Ex-tracto	Inhibición en mm. de diámetro				
		<u>E.coli</u>	<u>S.aureus</u>	<u>S.typhi</u>	<u>Sh.flex neri</u>	<u>S.β hemo lyticus</u>
<u>H.viridis</u>	H	7.0	9.0	6.0	6.0	7.0
	M	7.0	9.0	6.0	6.0	7.0
	E	7.0	10.0	6.0	6.0	7.0
	A	7.0	11.0	6.0	6.0	7.0
	C	7.0	12.0	6.0	6.0	8.5
<u>C.falax</u>	H	7.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	7.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	E	7.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	C	7.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Vw	H	6.0	8.0		6.0	6.0
	M	7.0	7.0		6.0	6.0
	E	8.0	9.0		6.0	6.0
	A	6.0	10.0		6.0	6.0
	C	6.0	13.0	6.0	6.0	6.0
K-2	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
K-3	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	8.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0

Tabla 2
(Continuación)

Esponja	Ex-tracto	Inhibición en mm. de diámetro				
		<u>E.coli</u>	<u>S.aureus</u>	<u>S.typhi</u>	<u>Sh.flex neri</u>	<u>S.β hemo lyticus</u>
K-4	H	6.0	6.0	6.0	6.0	11.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	8.0	6.0	6.0	14.0
K-5	H	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	8.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	10.0	6.0	6.0	10.0
	A	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
K-6	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	9.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
K-7	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	8.0	20.0	6.0	6.0
	E	6.0	9.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	8.4	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
K-9	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	8.0	6.0	21.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	20.0	6.0

Tabla 2
(Continuación)

Esponja	Ex-tracto	Inhibición en mm. de diámetro				
		<u>E.coli</u>	<u>S.aureus</u>	<u>S.typhi</u>	<u>Sh.flex neri</u>	<u>S.βhemo lyticus</u>
K-10	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	9.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	20.0	6.0	7.5	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
K-12	H	6.0	12.8	6.0	8.0	7.0
	M	6.0	10.4	6.0	9.0	7.0
	E	6.0	12.8	12.0	8.0	7.0
	A	6.0	8.8	15.0	6.0	7.0
	C	6.0	11.4	6.0	7.5	7.0
K-13	H	6.0	10.0	6.0	6.0	8.0
	M	6.0	11.2	6.0	9.0	9.0
	E	6.0	11.0	6.0	6.0	9.0
	A	6.0	7.0	6.0	6.0	7.0
	C	6.0	7.0	6.0	6.0	7.0
K-14	H	6.0	10.2	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	9.8	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	10.2	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	26.0	6.0
K-15	H	6.0	6.0		6.0	6.0
	M	6.0	6.0		6.0	6.0
	E	6.0	6.0		6.0	6.0
	A	6.0	6.0		6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0

Tabla 2
(Continuación)

Esponja	Ex- tracto	Inhibición en mm. de diámetro				
		<u>E.coli</u>	<u>S.aureus</u>	<u>S.typhi</u>	<u>Sh.flex neri</u>	<u>S.β hemo lyticus</u>
K-20	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	8.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	17.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	8.0	6.0	6.0	6.0
K-21	H	6.0	10.6	6.0	6.0	7.0
	M	6.0	12.6	6.0	6.0	7.0
	E	6.0	9.6	6.0	6.0	7.0
	A	6.0	12.8	19.0	6.0	7.0
	C	6.0	10.8	6.0	6.0	7.0
K-25	H	6.0	8.0	13.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	7.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
K-27	H	6.0	6.0	6.0	6.0	9.0
	M	6.0	8.8	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	8.8	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	10.4	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	10.0	6.6	6.0	9.0
K-36	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0

Tabla 2
(Continuación)

Esponja	Ex- tracto	Inhibición en mm. de diámetro				
		<u>E.coli</u>	<u>S.aureus</u>	<u>S.typhi</u>	<u>Sh.flex neri</u>	<u>S.s.hemo lyticus</u>
K-40	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	22.0	6.0
	E	6.0	10.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	7.0	6.0	27.0	6.0
	C	6.0	7.0	6.0	26.0	6.0
Z-2	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Z-4	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Z-29	H	6.0	20.0		6.0	18.0
	M	6.0	28.6	16.0	8.5	19.0
	E	6.0	29.0	20.0	6.0	19.0
	A	6.0	29.8	20.0	8.0	23.0
	C	6.0	25.8	16.0	6.0	27.0
Z-203	H	6.0	6.0		6.0	6.0
	M	6.0	6.0		6.0	6.0
	E	6.0	6.0		6.0	6.0
	A	6.0	6.0		6.0	6.0
	C	6.0	6.0		6.0	6.0

Tabla 2
(Continuación)

Esponja	Ex- tracto	Inhibición en mm. de diámetro				
		<u>E.coli</u>	<u>S.aureus</u>	<u>S.typhi</u>	<u>Sh.flex neri</u>	<u>S.βhemo lyticus</u>
Z-204	H	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	M	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	E	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	A	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	C	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0

Tabla 3

Número de esponjas estudiadas, con actividad frente a microorganismos G(+) y G(-)

<u>Actividad</u>	<u>No. de esponjas</u>	<u>%</u>
Contra G(+)	14	33.3
Contra G(-)	1	2.5
Contra G(+) y G(-)	21	50.0
Sin actividad	6	14.3
Total de esponjas probadas	42	100.0

Tabla 4

Número de esponjas estudiadas que presentan actividad contra organismos G(+) y G(-), según el extracto utilizado

Actividad	No. de Extractos				
	<u>Acuoso</u>	<u>Metanólico</u>	<u>Etanólico</u>	<u>Acetónico</u>	<u>Cloro- fórmico</u>
Contra G(+)	9	10	14	17	13
Contra G(-)	3	4	4	0	4
Contra G(+)G(-)	6	12	9	13	9
Sin actividad	24	16	15	12	16

Tabla 5

Número de esponjas estudiadas, que presentan actividad
 contra cada uno de los microorganismos
 según el extracto utilizado.

Microorganismo (Actividad)	E x t r a c t o s				
	Acuoso	Metanólico	Etanólico	Acetónico	C Cl ₃
<u>E. coli</u>	5	7	7	4	5
<u>S. aureus</u>	11	22	24	30	21
<u>S. typhi</u>	2	4	4	5	4
<u>Sh. flexnerii</u>	3	7	4	5	8
<u>S.βhemolyticus</u>	9	7	9	8	9

Tabla 6

Distribución de la actividad antimicrobiana de las esponjas recolectadas en las diferentes áreas.

Area	No. de esponjas recolectadas	No. de esponjas (porcentaje) que presentan actividad sobre:			
		G(+)	G(-)	G(+) y G(-)	Sin actividad
Veracruz	19	8-(42%)	1-(5.2%)	10-(52.6%)	0
Quintana Roo	18	6-(33.3%)	0	9-(50%)	3-(16.6%)
Zihuatanejo	5	0	0	2-(40%)	3-(60%)
Total	42	14	1	21	6
Porcentajes de actividad		33.3%	2.3%	40.0%	14.3%

Tabla 7

Diferentes propiedades farmacológicas encontradas en las esponjas colectadas en Veracruz, Zihuatanejo y Quintana Roo.

<u>Esponja</u>	<u>Extracto</u>	<u>Actividad Antimicrobiana</u>	<u>Actividad Tóxica</u>	<u>Actividad Hemolítica</u>
V-8	H	+	+	+
	M	-	+	+
	A	-	+	+
	C	-	+	+
V-9	M	+	-	-
	E	+	-	-
	A	+	-	-
	C	+	-	-
V-13	H	-	-	+
	E	+	-	-
	A	+	+	-
V-16	H	+	-	+
	M	+	+	-
	E	+	-	-
	A	+	+	-
	C	+	+	-
V-17	H	+	+	-
	M	+	-	-
	E	+	-	-
	A	+	-	-
	C	+	-	-

Tabla 7
(Continuación)

<u>Esponja</u>	<u>Extracto</u>	<u>Actividad Antimicrobiana</u>	<u>Actividad Tóxica</u>	<u>Actividad Hemolítica</u>
V-18	H	+	-	-
	M	+	+	-
	E	+	-	-
	A	+	-	-
	C	+	-	-
V-19	E	+	-	-
	A	+	-	-
	C	+	-	-
V-20	M	+	-	+
	E	+	-	+
	A	+	-	+
	C	+	-	-
<u>C.falax</u>	H	+		-
	M	+		-
	E	+		-
	A	+		-
	C	+		-
Vw	H	+		+
	M	+		-
	E	+		-
	A	+		-
	C	+		-
K-3	H	-	-	+
	M	-	-	+
	A	+	-	+
	C	-	-	-

Tabla 7
(Continuación)

<u>Esponja</u>	<u>Extracto</u>	<u>Actividad Antimicrobiana</u>	<u>Actividad Tóxica</u>	<u>Actividad Hemolítica</u>
K-4	H	+	-	-
	E	-	-	+
	A	-	-	+
	C	+	-	-
K-5	H	+		-
	M	+		-
	E	+		-
	C	+		-
K-6	H	-	-	+
	A	+	-	+
	C	+	-	+
K-7	M	+	-	-
	E	+	-	-
	A	+	-	-
K-9	H	-	+	+
	M	-	+	-
	E	-	+	-
	A	+	+	-
	C	+	+	-
<u>C.falax</u>	H	+		-
	M	+		-
	E	+		-
	A	+		-
	C	+		-

Tabla 7
(Continuación)

<u>Esponja</u>	<u>Extracto</u>	<u>Actividad Antimicrobiana</u>	<u>Actividad Tóxica</u>	<u>Actividad Hemolítica</u>
Vw	H	+		+
	M	+		-
	E	+		-
	A	+		-
	C	+		-
K-3	H	-	-	+
	M	-	-	+
	A	+	-	+
	C	-	-	-
K-4	H	+	-	-
	E	-	-	+
	A	-	-	+
	C	+	-	-
K-5	H	+		-
	M	+		-
	E	+		-
	C	+		-
K-6	H	-	-	+
	A	+	-	+
	C	+	-	+
K-7	M	+	-	-
	E	+	-	-
	A	+	-	-

Tabla 7
(Continuación)

<u>Esonja</u>	<u>Extracto</u>	<u>Actividad Antimicrobiana</u>	<u>Actividad Tóxica</u>	<u>Actividad Hemolítica</u>
K-9	H	-	+	+
	M	-	+	-
	E	-	+	-
	A	+	+	-
	C	+	+	-
K-10	H	-	+	+
	M	+	+	+
	E	-	-	+
	A	+	-	+
K-12	H	+	+	-
	M	+	+	-
	E	+	+	-
	A	+	+	-
	C	+	+	-
K-13	H	+	-	-
	M	+	+	-
	E	+	+	-
	A	+	+	-
	C	+	-	-
K-14	H	+	-	+
	M	+	+	-
	E	+	+	+
	A	-	+	-
	C	+	+	-
K-15	H	-	-	+

Tabla 7
(Continuación)

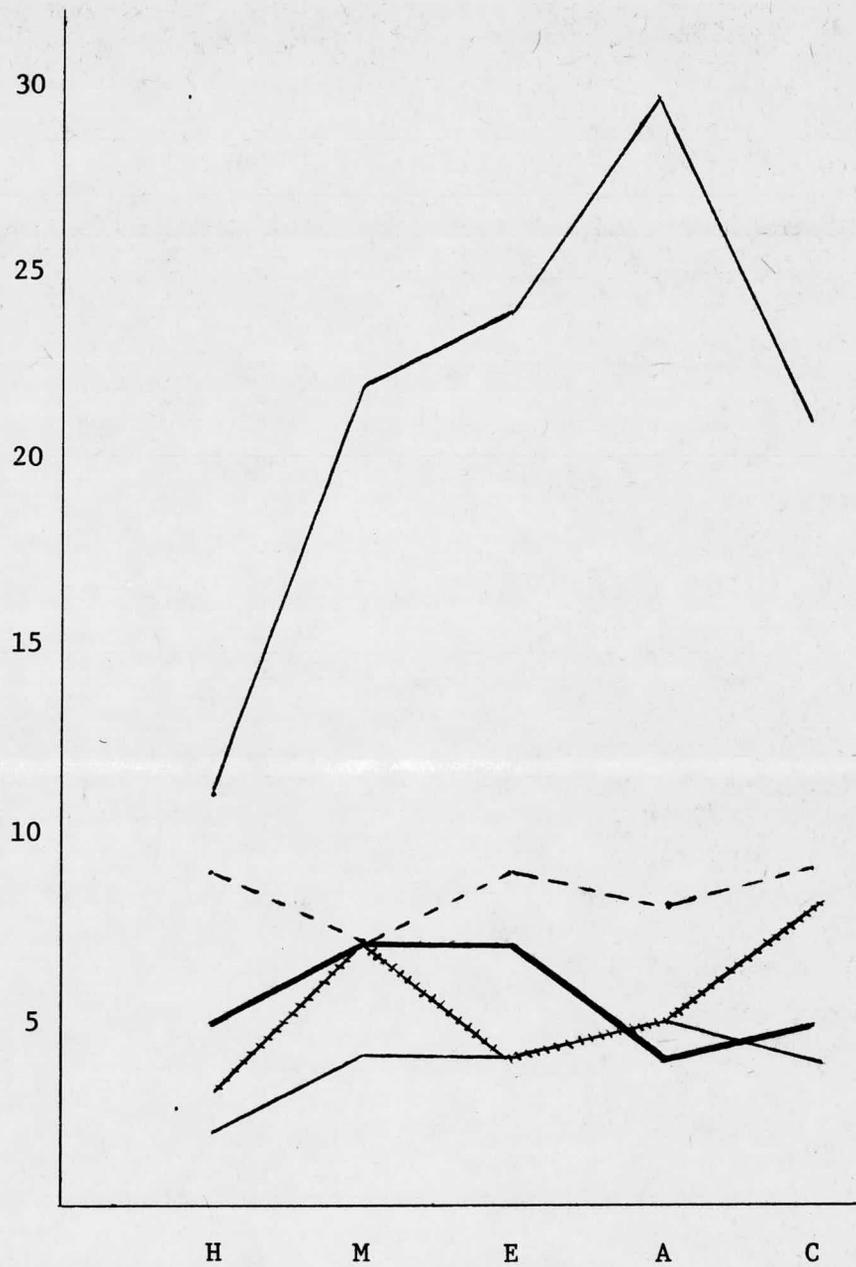
<u>Esponja</u>	<u>Extracto</u>	<u>Actividad Antimicrobiana</u>	<u>Actividad Tóxica</u>	<u>Actividad Hemolítica</u>
K-20	M	+	-	-
	E	+	-	-
	A	+	-	-
	C	+	-	-
K-21	H	+	+	-
	M	+	+	+
	E	+	+	+
	A	+	+	+
	C	+	-	+
K-25	H	+	-	-
	A	+	-	-
K-27	H	+	-	-
	M	+	-	-
	E	+	-	-
	A	+	-	-
	C	+	-	-
K-40	M	+	-	-
	E	+	-	-
	A	+	-	-
	C	+	-	-
Z-29	H	+	+	-
	M	+	+	-
	E	+	+	-
	A	+	+	-
	C	+	-	-

Tabla 7
(Continuación)

<u>Esponja</u>	<u>Extracto</u>	<u>Actividad Antimicrobiana</u>	<u>Actividad Tóxica</u>	<u>Actividad Hemolítica</u>
Z-203	H	-	+	+
	M	-	+	+
	E	-	+	+
	A	-	+	+
	C	-	+	+
Z-204	H	-	+	+
	M	-	+	+
	E	-	+	+
	A	-	+	+
	C	-	+	+

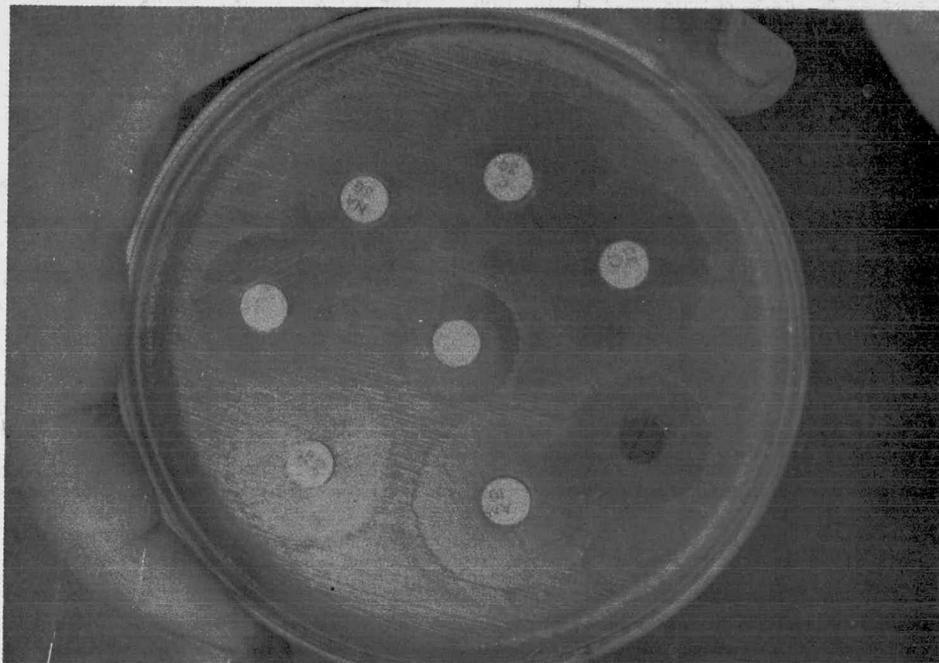
Lám. 3, Fig. 1. Relación entre el número de esponjas que presentan actividad contra los microorganismos de prueba, y los solventes utilizados en orden ascendente de polaridad.

1. S. aureus
2. S. β hemolyticus
3. E. coli
4. Sh. flexnerii
5. S. typhi

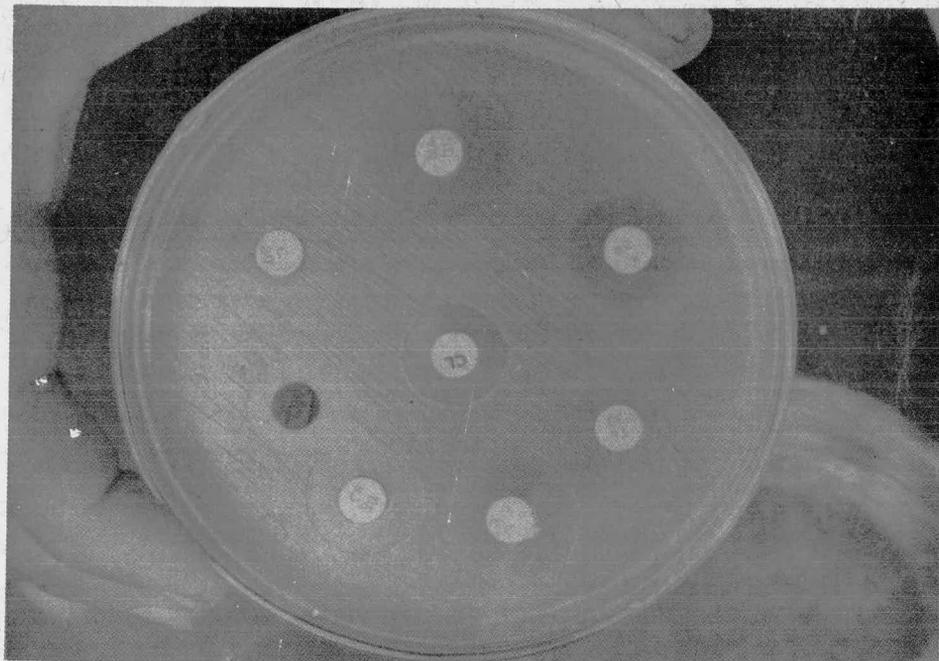




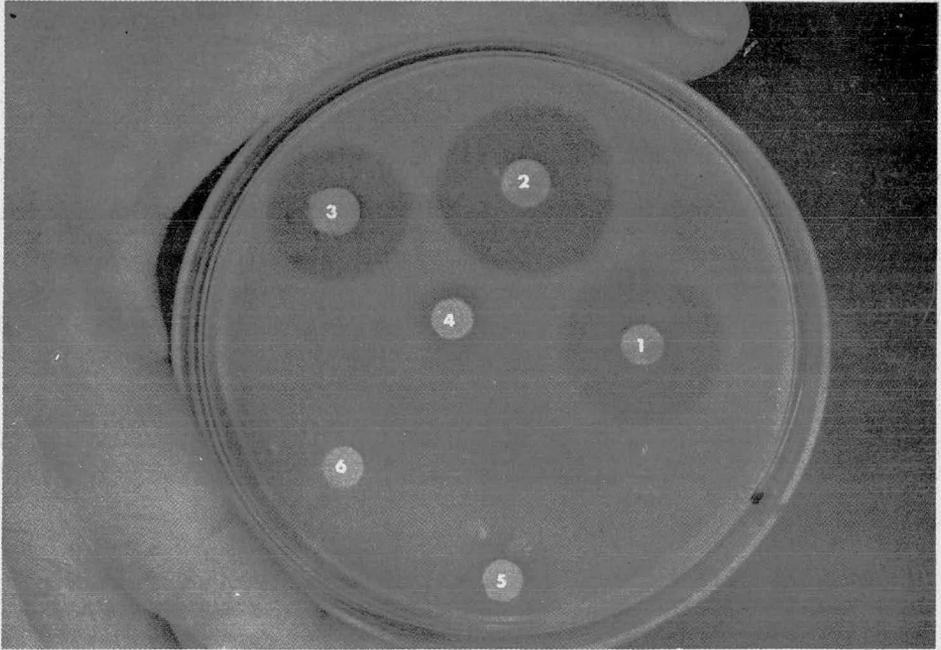
Lám. 1 . Inhibición del crecimiento de Escherichia coli
por sensidiscos.



Lám. 2 . Inhibición del crecimiento de Salmonella typhi
por sensidiscos.

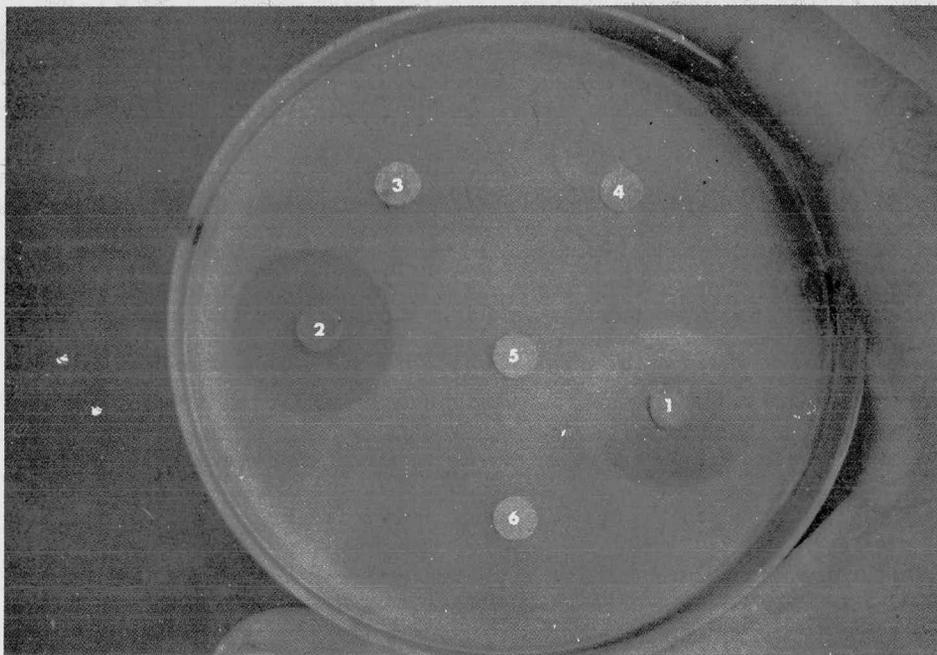


Lám. 3 . Inhibición del crecimiento de Shigella flexnerii
por sensidiscos.



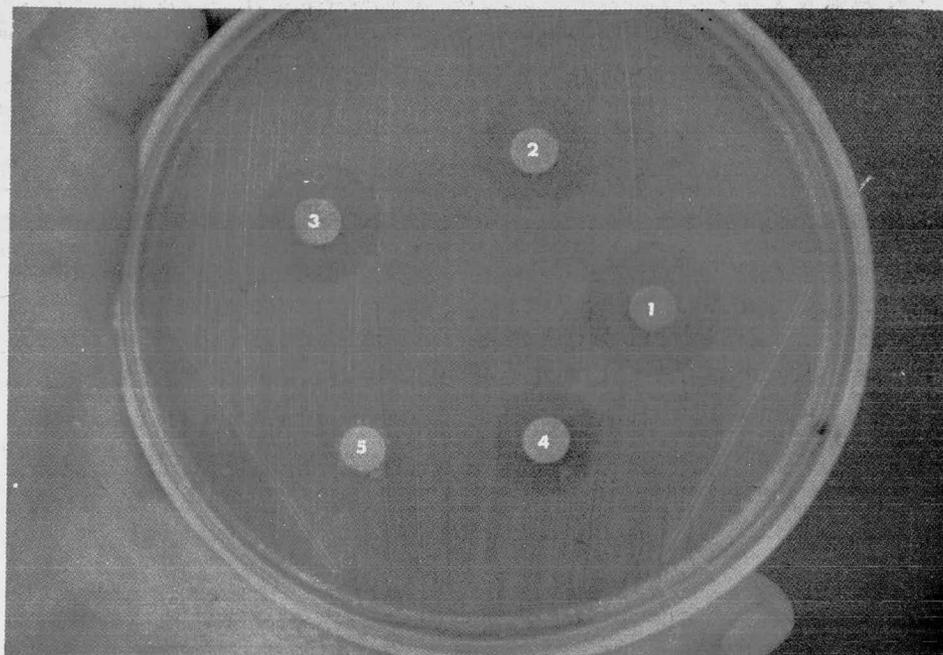
Lám. 4 . Acción sobre S. aureus de:

1. Extracto Etanólico,
2. Extracto Metanólico,
3. Extracto Acetónico de la esponja V-17.
4. Extracto Clorofórmico de la esponja V-19.
5. Extracto Acetónico de la esponja V-20.
6. Testigo.



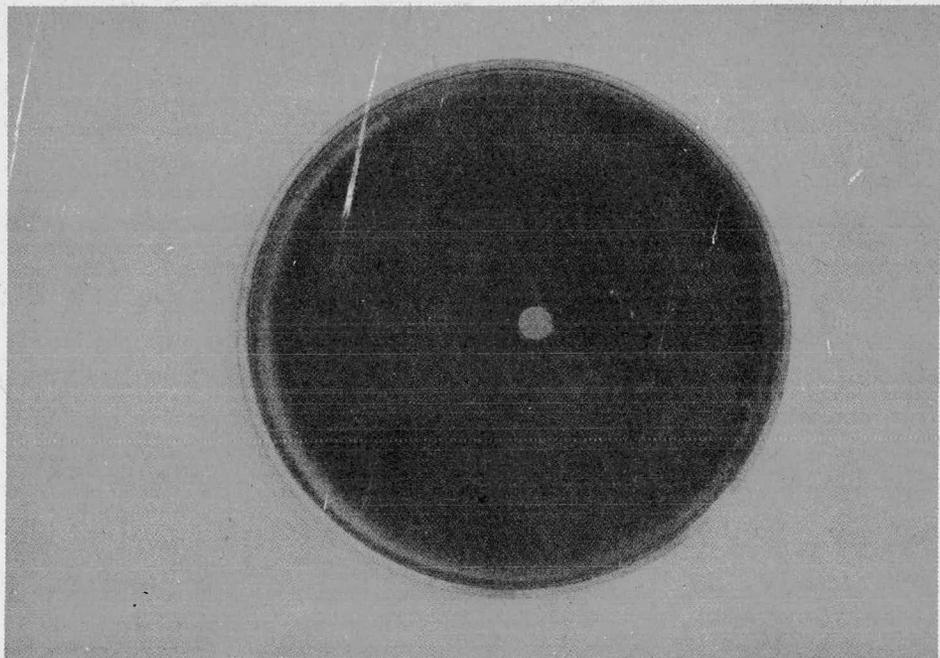
Lám. 5 . Acción sobre S. aureus de:

1. Extracto Acuoso de la esponja Z-29.
2. Extracto Clorofórmico de la esponja V-17.
3. Extracto Acuoso,
4. Extracto Etanólico,
5. Extracto Clorofórmico de la esponja V-204.
6. Testigo.



Lám. 6 . Acción sobre Sh. flexnerii de:

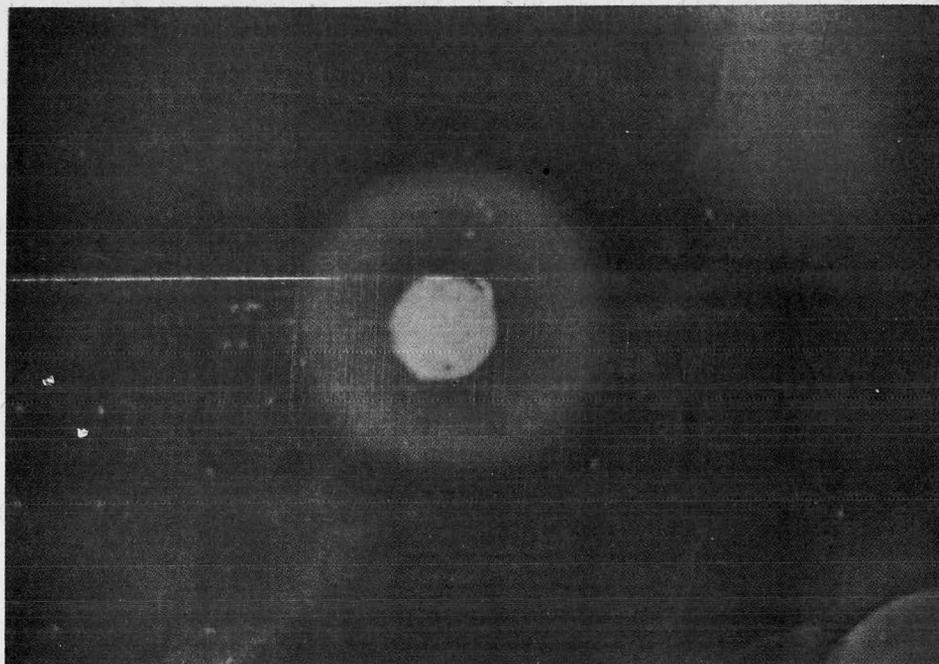
1. Extracto Metanólico,
2. Extracto Etanólico de la esponja V-205.
3. Extracto Clorofórmico de la esponja V-18.
4. Extracto Etanólico de la esponja V-17.
5. Testigo.



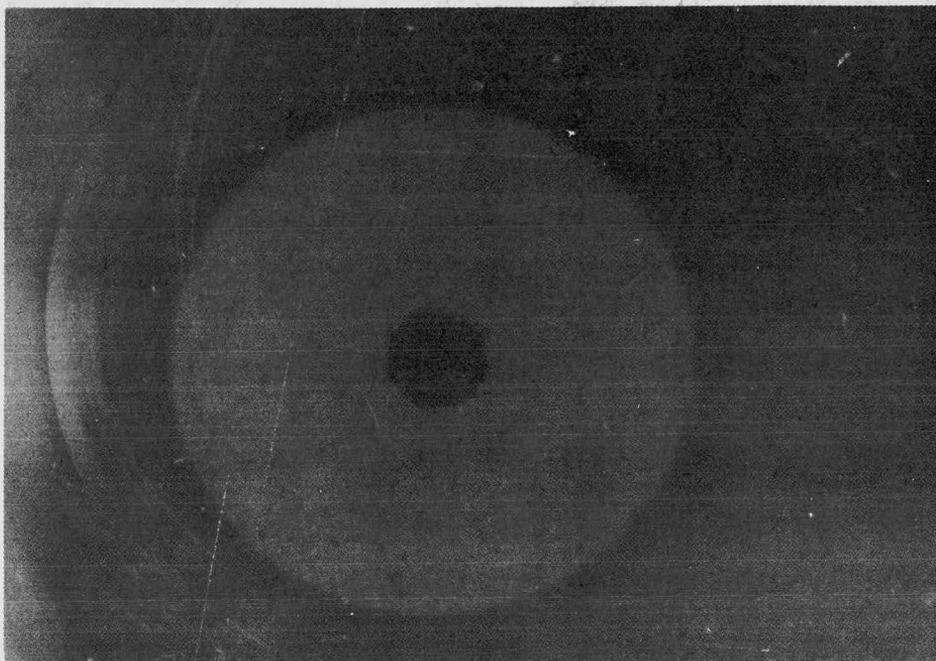
Lám. 7 . Acción del Extracto Etanólico de la esponja Z-6
sobre S. β hemolyticus.



Lám. 8 . Acción del Extracto Metanólico de
la esponja Z-29 sobre S.β hemolyticus.



Lám. 10 . Acción hemolítica del Extracto Acuoso
de la esponja V-204.



Lám. 9 . Acción hemolítica del Extracto Acetónico
de la esponja Z-203.

VI. DISCUSION

El alto porcentaje de esponjas con actividad antimicrobiana que se observa en los resultados, indica que la producción de este tipo de sustancias es común entre las esponjas que habitan las áreas de estudio, ya que solamente un 14.3% del total no presentan esta propiedad como se observa en la tabla 3.

En esta misma tabla se dividen los microorganismos en grampositivos y gramnegativos y se observa que la mayoría de las esponjas presentan actividad contra ambos tipos de bacterias, de manera indistinta. Una minoría representada por el 2.5% es activa contra bacterias G(-) exclusivamente. Aún más, en forma global, puede verse que las esponjas presentan más actividad contra las bacterias G(+) que contra las G(-). Este comportamiento puede verse también en las tablas 4 y 5.

El tipo de relación entre bacterias y esponjas no ha sido aún determinado. Se piensa que la concentración de bacterias en la esponja pueda ser debido al depósito de aquellas en los tejidos del animal por efectos de la fil-

tración, o bien que las bacterias encuentren ahí un medio propicio para su desarrollo (Madri, et al., 1967).

Si se parte de la suposición de que el antibiótico producido por una esponja juega un papel muy importante como defensa contra las infecciones microbianas (Green, 1974 y Comros 1967), se sugiere que el antibiótico producido por una esponja puede no estar dirigido contra aquellas bacterias con las cuales está comúnmente asociada, sino que más bien esté dirigido contra aquellas que le pueden provocar una infección. Estas bacterias son las que no son muy comunes en el medio y por tanto en la esponja. O bien que la esponja tenga sobre las bacterias un efecto que por una parte no sea capaz de matarlas y por otra les impida ejercer una acción nociva sobre aquellas. —

En las tablas 4 y 5 se muestra el comportamiento de las sustancias antimicrobianas frente a los solventes utilizados. Si trazamos una gráfica (Lám. 3, Fig. 1) de la información reportada en la tabla 5 o se observan los datos de ambas tablas, se nota que no hay una relación entre polaridad del solvente y el número de esponjas antibióticas.

Este hecho hace pensar que haya diversas sustancias antimicrobianas entre las esponjas, incluso que una misma esponja produzca dos o más antibióticos con diferente afinidad por los solventes. Respecto a esto, Sharma y otros (1968) hacen una división de las sustancias antimicrobianas de acuerdo a su extractabilidad en metanol, como sigue:

1. Sustancias activas que son extraídas con metanol, pero que no lo pueden ser con solventes inmiscibles en agua, como etil acetato, éter, cloroformo, etc.

2. Sustancias activas que son extraídas con metanol, pero que no lo pueden ser con solventes inmiscibles en agua.

3. La actividad es parcialmente extraída en metanol.

4. Las sustancias antimicrobianas no pueden ser extraídas en metanol del todo.

En la tabla 6 se observa el número de esponjas con actividad antibiótica que se presentan según el área de recolección y sus porcentajes respectivos. Las esponjas en Veracruz son muy abundantes mientras que en el área de Zihuatanejo son muy escasas, como se ve por el número de anima-

les colectado en cada área.

La temperatura en las diferentes áreas de estudio es prácticamente la misma. Sin embargo, el comportamiento de las esponjas con respecto a la producción de sustancias antimicrobianas es muy diferente. En Veracruz un 100% de las esponjas muestran actividad y una minoría de ellas son activas frente a bacterias G(-). De las esponjas de Quintana Roo, un 16% no muestra actividad antimicrobiana y no hay esponjas con actividad frente a G(-) exclusivamente. De las esponjas recolectadas en Zihuatanejo, un 60% no presenta actividad.

Green (1977), realizó estudios de la toxicidad de las esponjas aquí estudiadas sobre peces de los géneros Carassius auratus y Gambusia sp., y reportó los resultados obtenidos por el tiempo que tarda en morir el pez, en presencia del extracto de la esponja.

En la tabla 7 se toma cualitativamente aquellos extractos de esponja que presentan algunas de las propiedades mencionadas hasta ahora. Encontramos extractos que solamente presentan un tipo de actividad, extractos que presentan

dos tipos de actividad, y extractos que presentan los tres tipos de actividad. Sin embargo, no se puede suponer que cada actividad corresponda a una sustancia, ni que una sustancia sea la responsable de las tres actividades.

Algunas esponjas sugieren que se trata de sustancias diferentes, tales como la V-13, en que la sustancia hemolítica se hace presente en el extracto acuoso, la antimicrobiana en el metanólico y en el acetónico se encuentran tanto sustancias tóxicas como antimicrobianas. Otras esponjas presentan propiedades que hacen pensar que son debidas a una sola sustancia o bien a sustancias diferentes, pero que estructuralmente son tan parecidas que muestran una actividad similar frente a un solvente dado, como es el caso de la esponja Z-203, en la cual la actividad hemolítica siempre se presenta con la actividad tóxica.

Se debe tomar en cuenta que la tabla es sólo cualitativa, y que hay esponjas que presentan un alto índice de toxicidad y los efectos antibióticos son despreciables, por ejemplo H. rubens. Otras por el contrario producen halos de inhibición muy grandes y un índice de toxicidad muy pe-

queño, por ejemplo la Z-29.

En la tabla 7 se observa que se presenta con más frecuencia extractos con actividad tóxica y antimicrobiana, que aquellos que son tóxicos y hemolíticos, y sólo una pequeña proporción presenta las tres propiedades juntas.

VII. CONCLUSIONES

1. Un 85.7% de las esponjas colectadas tienen algún grado de actividad antimicrobiana.
2. Un 50% de las esponjas colectadas con actividad antimicrobiana actúan contra organismos G(+) y G(-).
3. Un 2.5% de las esponjas colectadas con actividad antimicrobiana tiene acción específica contra organismos G(-).
4. La afinidad de las sustancias antimicrobianas por los diferentes solventes es variable y no sigue un patrón en cuanto a polaridad.
5. Se presenta mayor número y diversidad de esponjas en el área de La Blanquilla, Veracruz, que en Puerto Morelos, Quintana Roo, y en ésta, mayor que en Isla Ixtapa y Bahía de Zihuatanejo.
6. En Veracruz y Quintana Roo, un 100% y un 83.3% respectivamente, presentan actividad al menos frente a alguno de los microorganismos probados; en Zihuatanejo, un 60% de las esponjas estudiadas no tiene acción antimicrobiana.

7. Hay esponjas que presentan acción antibacteriana, actividad hemolítica y actividad tóxica conjuntamente; hay esponjas que presentan dos propiedades, y las hay que solamente presentan una.
8. Se presentan con más frecuencia extractos con propiedades tóxicas y antimicrobianas, que aquellos que son tóxicos y hemolíticos y sólo una pequeña proporción presenta las tres propiedades juntas.
9. Un 81% de las esponjas estudiadas presenta al menos una propiedad farmacológica.

VIII. LITERATURA CITADA

- ANDERSEN, R. J., D. J. FAULKNER, 1973. Antibiotics from marine organisms of the Gulf of California. In: Worthen, L.R. (Ed.) Food Drugs from the Sea, Proceedings 1972, Mar. Tech. Soc.: 111-115.
- BURKHOLDER, P.R., 1968. Antimicrobial substances from the Sea. In: Freudenthal, H.D. (Ed.) Drugs from the Sea: 87-112.
- - - - - , 1973. Ecology of marine antibiotics and Coral Reefs. In: Jones, O.A. and Enden, R. (Eds.) Biology and Geology of Coral Reefs, Academic Press, N. Y., 2: 117-182.
- BURKHOLDER, P.R., K. RUETZLER, 1969. Antimicrobial activity of some marine sponges. Nature, 222: 983-984.
- DE LAUBENFELS, M.W., 1953. A guide to the sponges of Eastern North America. Mar. Lab. Univ. Miami, Spec. Publ. 32 p.
- GRANT, R.F., 1835. In: Cyclop. Anat. and Phys. I: 107-118.

- GREEN, M.G., 1974. Ecology of toxicity in marine sponges. University of Southern California. 125-127.
- GREEN, M.G., 1977. Ecology of toxicity in marine sponges. Mar. Biol. 40: 207-215.
- JAKOWSKA, S., R.F. NIGRELLI, 1960. Antimicrobial substances from sponges. Ann. N.Y. Acad. Sci. 90 (3): 913-916.
- JAWETZ, E., J.L. MELNICK, E.A. ADELGERG, 1973. Manual de Microbiología Médica. Ed. El manual moderno. México, D.F.: 189-200, 228-238.
- MADRI, P.P., G. CLAUS, S.M. KUNEN, E.E. MOSS, 1967. Preliminary studies on the Escherichia coli uptake of the redbear sponge (Microciona prolifera Verrill). Life Sci. 6 (8): 889-894.
- NIGRELLI, R.F., S. JAKOWSKA, I. CALVENTI, 1959. Ectyonin, antimicrobial agent from the sponge Microciona prolifera Verrill. Zoológica, 44: 1973-1976.
- NIGRELLI, R.F., M.F. STEMPIEN, G.D. RUGGIERI, V.R. LIGUORI, J.T. CECIL, 1967. Substances of potential biomedical im-

portance from marine organisms. Fed. Proc. 26:(4): 1197-1205.

SHARMA, G.M., P.R. BURKHOLDER, 1967. Studies on antimicrobial substances of sponges. I. Isolation, purification and properties of a new bromine containing antibacterial substances. J. Antibiot. Ser. A. 20: 200-203.

SHARMA, G.M., B. VIG, P.R. BURKHOLDER, 1968. Studies on the antimicrobial substances of sponges. III. Chemical properties of some compounds from marine sponges. In: Freudenthal, H.D. (Ed.) Food Drugs from the Sea. Mar. Tech. Soc.: 119-126.

- - - - - , 1970. Antimicrobial substances of marine sponges. IV. In: Youngken, H.W. (Ed.), Food Drugs from the Sea, Proceedings 1969, Mar. Tech. Soc., 307-310.

STEMPIEN, M.F., 1966. An antibiotic substance isolate from a sponge of the Genus Agelas. Amer. Zool. 6 (276): 363.

STEMPIEN, M.F., G.D. RUGGIERI, R.F. NIGRELLI, J.T. CECIL, 1970. Physiologically active substances from marine sponges. II. In: Youngken, H.W. (Ed.) Food Drugs from the Sea.

Proceedings, 1969, Mar. Tech. Soc.: 295-305.

STEMPIEN, M.F., J.S. CHIB, R.F. NIGRELLI, R.A. MIERZWA,
1973. Physiologically active substances from marine sponges.

II. Antimicrobial substance presents in extracts of the
sponge Verongia archeri and other species of the Genus
Verongia. In: Worthen, L.R. (Ed.) Food Drugs from the Sea,
Proceedings 1972, Mar. Tech. Soc.: 105-110.

WEIZ, P.B., 1974. La Ciencia de la Zoología, Ed. Omega,
Barcelona, 567-577.