



UNIVERSIDAD
DE LOS ANDES
MÉRIDA VENEZUELA

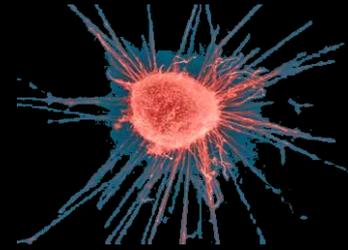
Universidad de Los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis
Escuela de Bioanálisis
Mérida Edo. Mérida



**Determinación de actividad biológica de extractos
crudos obtenidos de esponjas marinas
autóctonas de las costas del estado Sucre, Venezuela.**

Andrés León; Joan Gómez, Judith Araque, Pablo Djabayan y *Félix Andueza
Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes. Mérida.
Venezuela *Prometeo SENESCYT. ESPOCH. Riobamba. Ecuador

PROBLEMA

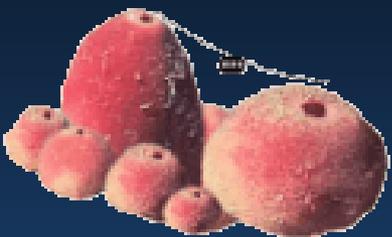


Las esponjas marinas son seres vivos pertenecientes al reino *Animalia*, y como tal poseen una estructura bioquímica capaz de producir sustancias con propiedades que le favorezcan, como por ejemplo que le permitan desarrollar sus actividades biológicas propias de un ser vivo con mayor facilidad, o que le confieran protección como mecanismo de defensa y/o adaptación frente a los agentes biológicos, físicos y/o químicos que les rodean, es por ello que nos preguntamos...



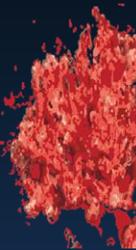
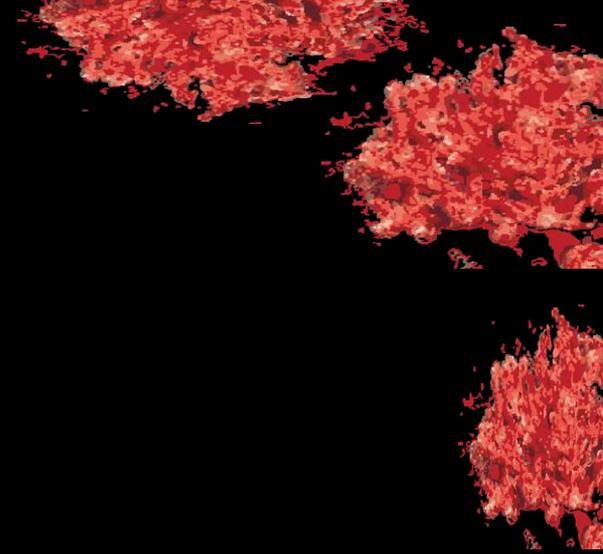
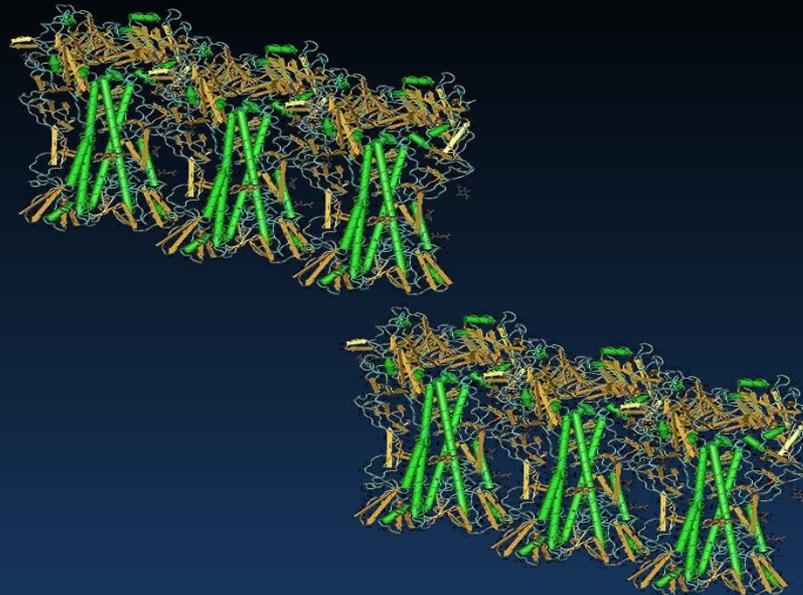
¿Podremos determinar algún tipo de actividad Biológica a partir de extractos crudos obtenidos de diferentes especies de poríferas autóctonas de las costas del estado Sucre, Venezuela?,

y de encontrarse esta propiedad ¿podremos establecer relación entre la actividad biológica y algún compuesto en específico?,



OBJETIVO GENERAL:

Determinar de la actividad biológica de los extractos crudos obtenidos de esponjas marinas autóctonas de las costas del estado Sucre, Venezuela.



OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

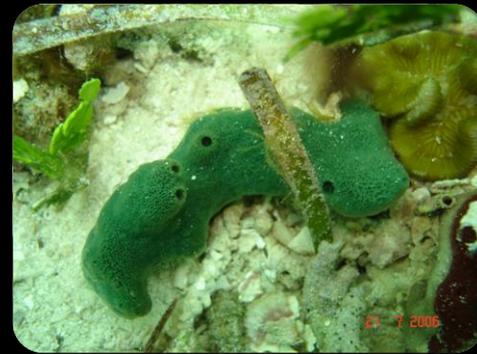
- 1. Recolectar las esponjas marinas.**
- 2. Limpiar las esponjas marinas.**
- 3. Obtener los extractos crudos a partir de las esponjas marinas.**
- 4. Semi-purificar los extractos crudos.**
- 5. Determinar las actividades hemolíticas y antibacterianas de los extractos purificados.**
- 6. Detectar las posibles lectinas en las muestras analizadas.**
- 7. Obtener los extractos etanólicos a partir de de las esponjas marinas**
- 8. Purificar las extractos etanólicos.**
- 9. Determinar la posible actividad antibacteriana de los extractos etanólicos**



MATERIALES Y MÉTODOS



MATERIALES Y MÉTODOS



Amphimedon viridis



Ircinia strobilina



Spirastrella hartmanni

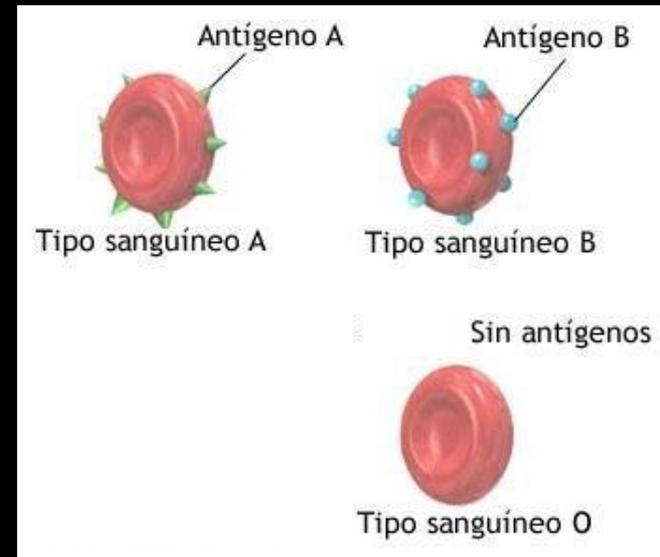


Cliona varians



Chondrilla nucula

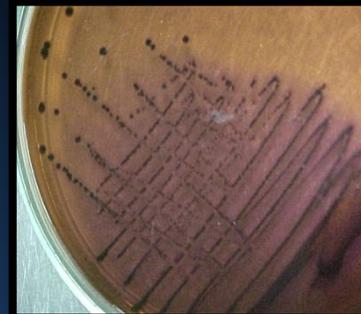
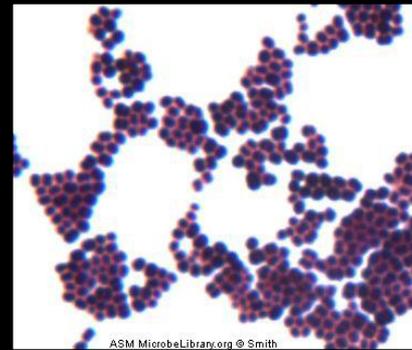
MATERIALES Y MÉTODOS



UNIVERSIDAD
DE LOS ANDES
MÉRIDA, VENEZUELA



MATERIALES Y MÉTODOS



MATERIALES Y MÉTODOS

MÉTODOS:

Métodos de Extracción:

Extracción acuosa:



100mL PBS
pH 7,3



100mL Sol.
Salina



Extracción etanólica:

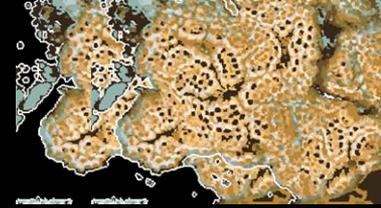


100mL
Etanol

Triturar



Secar



MATERIALES Y MÉTODOS

MÉTODOS:

Determinación de Actividad Biológica:

Prueba de Actividad Hemaglutinante

Preparación de la suspensión
de eritrocitos

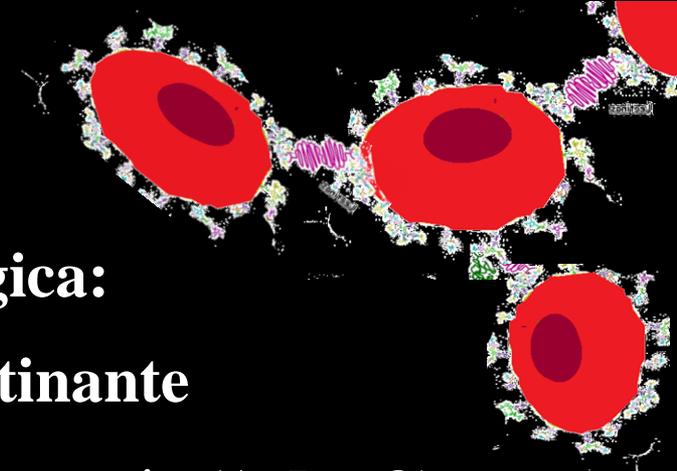
- 0,5mL de hematíes (A, B y O)
- Diluidos con 5mL S.S.F.
- Centrifugar a 3.000 r.p.m. por 2min
- Por triplicado
- 0,1mL hematíes + 1,9mL S.S.F.

Actividad Hemaglutinante de
los extractos crudos

- Tubos de ensayo
- 0,1mL del extracto
- 0,1mL Suspensión al 5%
- Agitar
- Temperatura ambiente por 15 min
- Centrifugar a 3.000 r.p.m. por 30 seg

Titulación de la
hemoaglutinación

- Dilución doble seriada 1:1024
- Solución Salina



MATERIALES Y MÉTODOS

MÉTODOS:

Determinación de Actividad Biológica:

Prueba de Actividad Antimicrobiana

Preparación del inóculo bacteriano

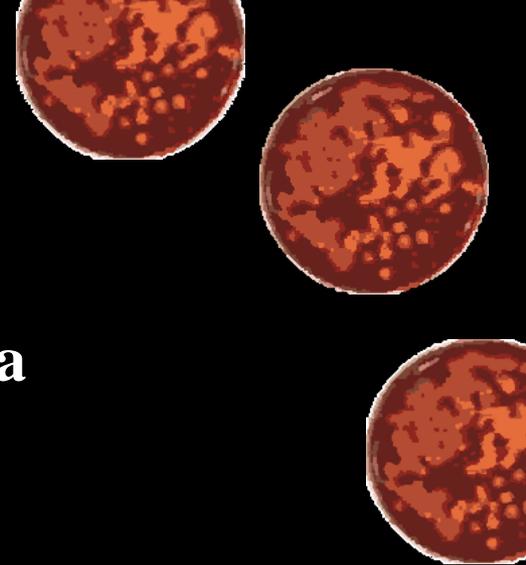
- $1,5 \times 10^8$ UFC/ml
- Cepas a estudiar
- 0,5 Mc Farland [36]

Actividad antibacteriana
Método de difusión en Agar

- Método de Hayes y Markovic [37]
- Agar Muller-Hinton
- Cilindros de acero inoxidable de 7 mm
- 100 μ l de inóculo bacteriano
- 20 μ l de extracto etanólico
- Respectivos Controles
- Incubar 30 min (O_2 Requerido)

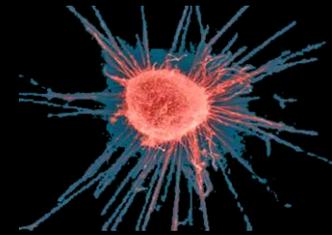
Concentración Mínima inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida

- 5, 2,5, 2 , 1.5 y 1.25 mg/mL
- 100, 50, 40, 30 y 25 mg/ml
- 625 nm
- Recuento de UFC/mL



RESULTADOS:

Estudio de la actividad Hemaglutinante:



Esponja	Grupos Sanguíneos					
	Grupo A		Grupo B		Grupo O	
	PBS	Sol. Salina	PBS	Sol. Salina	PBS	Sol. Salina
Esponja #02 <i>A. viridis</i>	3 +++	1 +	0	0	0	0
Esponja #07 <i>I. strobilis</i>	4 +++++	2 ++	4 +++++	3 +++	4 +++++	2 ++
Esponja #08 <i>C. nucula</i>	3 +++	N.S.E	2 ++	N.S.E	2 ++	N.S.E
Esponja #09 <i>C. varians</i>	3 +++	4 +++++	0	3 +++	2 ++	2 ++
Esponja #10 <i>S. hartmanni</i>	1 +	1 +	½ +	0	0	0
Control Negativo	0	0	0	0	0	0

Tabla #01 Resultados de las actividades hemaglutinantes evaluadas.

PBS: Solución Buffer Fosfato Salino pH 7,3.

N.S.E.: No se evaluó.



8. RESULTADOS:

8.1 Estudio de la actividad Hemaglutinante:

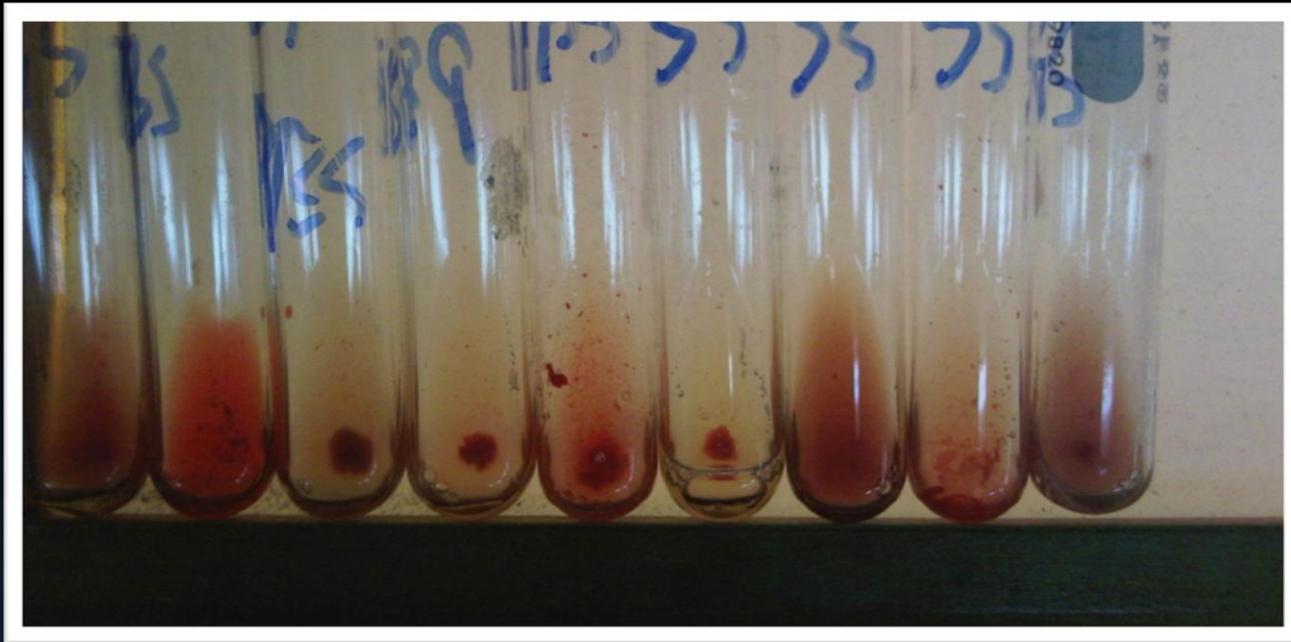
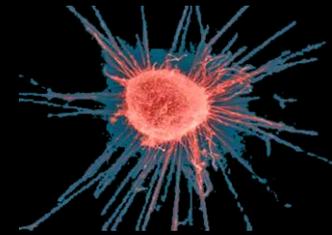
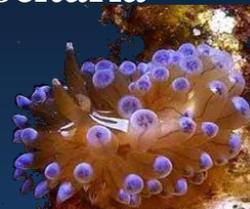
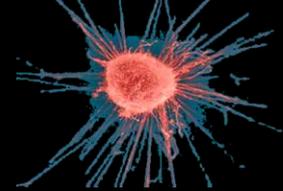


Foto #02. Resultados de la actividad hemaglutinante sobre la suspensión eritrocitaria de la muestra del grupo sanguíneo A.



RESULTADOS:

Estudio de la actividad Antimicrobiana:



		Halo de Inhibición bacteriana	
Especie de Esponja Marina	Tipo de extracto	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Esponja #02 <i>A. viridis</i>	Acuoso en PBS	7 mm	7 mm
	Acuoso en Solución Salina (NaCl + CaCl)	7 mm	7 mm
	Etanólico	13 mm	9 mm
Esponja #07 <i>I. strobilis</i>	Acuoso en PBS	7 mm	7 mm
	Acuoso en Solución Salina (NaCl + CaCl)	7 mm	7 mm
	Etanólico	7 mm	7 mm
Esponja #08 <i>C. nucula</i>	Acuoso en PBS	7 mm	7 mm
	Acuoso en Solución Salina (NaCl + CaCl)	7 mm	7 mm
	Etanólico	7 mm	7 mm
Esponja #09 <i>C. varians</i>	Acuoso en PBS	7 mm	7 mm
	Acuoso en Solución Salina (NaCl + CaCl)	7 mm	7 mm
	Etanólico	7 mm	7 mm
Esponja #10 <i>S. hartmanni</i>	Acuoso en PBS	7 mm	7 mm
	Acuoso en Solución Salina (NaCl + CaCl)	7 mm	7 mm
	Etanólico	7 mm	7 mm

Tabla #02. Resultados de las actividades antimicrobianas evaluadas.

8. RESULTADOS:

8.2 Estudio de la actividad Antimicrobiana:

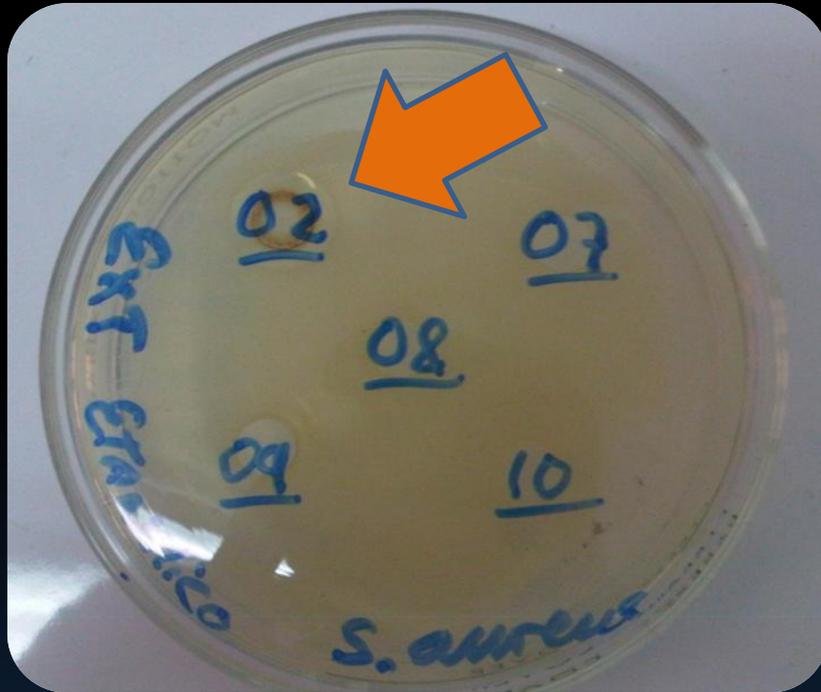
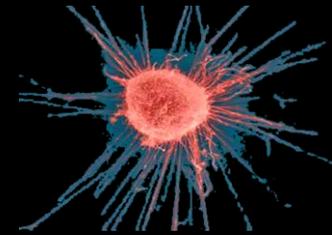


Foto #08. Evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos en medio etanólico sobre la cepa de *Staphylococcus aureus*.

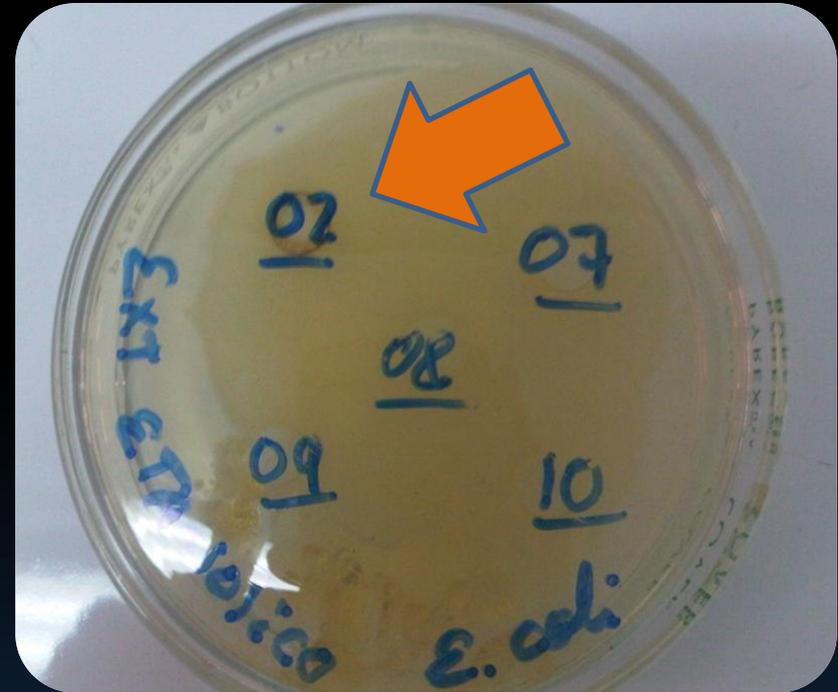


Foto #11. Evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos en medio etanólico sobre la cepa de *Escherichia coli*.



DISCUSIÓN:

La Interacción

Sugiere la
Presencia
de Lectinas*

Todos los
Extractos



Sustancias
Bioquímicas

Cambios
Fisiológicos
trascendentales

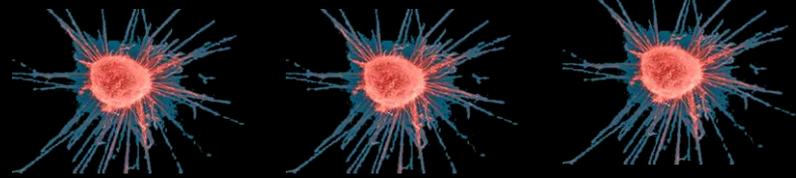
Resultados de las
Pruebas hemaglutinantes

Alterar
Tejidos y
Sistemas Vivos

Presencia
de Moléculas
Orgánicas

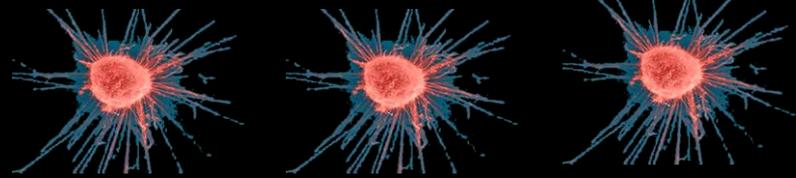
*Lectinas: conocidas como hemaglutininas por poseer la capacidad de aglutinar los eritrocitos [14].

CONCLUSIONES:



La actividad aglutinante de los extractos evaluados sobre las suspensiones eritrocitarias de los grupos sanguíneos A, B y O confirma la presencia de lectinas y a su vez se correlaciona con los resultados previos reportados en el año 2.008 por Molina y Briceño.

La afinidad de las lectinas presentes en las esponjas evaluadas es mayor hacia el grupo A que hacia los grupos O y B.



Las lectinas de las especies *Amphimedon viridis* (esponja #02), *Ircinia strobilina* (esponja #07), *Chondrilla nucula* (esponja #08), *Cliona varians* (esponja #09) y *Spirastrella hartmanni* (esponja #10) mostraron mejor actividad hemaglutinante en medio PBS que en medio salino.

El congelamiento representa la mejor forma de preservación de las lectinas y otras moléculas presentes en la composición de las esponjas ya que no mostraron discrepancias importantes entre los resultados actuales y los reportados en el 2.008.

La especie *Amphimedon viridis* es la única esponja con verdadero potencial antimicrobiano de las 13 especies estudiadas recolectadas en las costas del estado Sucre, Venezuela, lo cual se confirma con los estudios hechos por Molina y Briceño en el año 2.008 y en este trabajo.