

J. A. Mora Cristancho¹
F. Newmark Umbreit¹
M. Santos-Acevedo¹
J. Sánchez Nieves²

Evaluación de extractos de esponjas marinas como nuevas fuentes de sustancias antimicrobianas

¹Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andrés (INVEMAR) Santa Marta (Colombia)

²Departamento de Biología Universidad Nacional de Colombia Bogotá (Colombia)

Como parte de la búsqueda de sustancias activas antimicrobianas novedosas se analizó la actividad *in vitro* de los extractos orgánicos crudos de 15 especies de esponjas marinas de la costa noreste de Colombia contra microorganismos de importancia clínica en humanos (una cepa de cada especie de *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*). Los extractos de las esponjas *Halichondria* sp., *Petromica ciocalyptoides* y *Xestospongia proxima* exhibieron actividad contra las bacterias grampositivas y contra el hongo, mientras que la esponja *Drumacidon reticulata* sólo mostró actividad contra esta levadura. La bioactividad de los extractos fue contrastada con un antibiótico (cefoperazona) y un antimicótico (nistatina) comerciales y se encontró que los valores de inhibición *in vitro* del extracto de *X. proxima* son mayores, en algunos casos, a los observados para la cefoperazona y la nistatina. Los extractos de las esponjas *Myrmekioderma gyroderma*, *Myrmekioderma rea*, *Biemna cribaria*, *Cinachyrella kuekenthali*, *Iotrochota imminuta*, *Oceanapia peltata*, *Polymastia tenax*, *Desmapsamma anchorata*, *Spirastrella coccinea*, *Cribrachalina infundibulum* y *Oceanapia bartschi* no presentaron actividad antimicrobiana.

Palabras clave:

Porífera. Antimicrobiano. Extractos crudos. Bioprospección marina. Caribe colombiano.

Rev Esp Quimioter 2008;21(3):174-179

Evaluation of marine sponge extracts as new sources of antimicrobial substances

As part of the search for new natural sources of antibiotic compounds, in this study, carried out in the northeastern coast of Colombia, 15 sponge species were collected. A crude organic extract was obtained from each

one and evaluated regarding their antimicrobial properties *in vitro* against microorganisms with clinical importance for humans (one strain for each specie of *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*). Sponge extracts from *Halichondria* spp., *Petromica ciocalyptoides* and *Xestospongia proxima* exhibited antibacterial activity against gram-positive bacteria and antifungal activity against the fungi, while the sponge *Drumacidon reticulata* showed activity only for the same yeast specie. Bioactivity of the extracts was compared with that of both a antibiotic (cefoperazone) and an antimicotic (nistatine). It was found that inhibition values of *X. proxima* extracts *in vitro* are, in some cases, higher than those observed for cefoperazone and nistatine. Crude extracts from the sponges *Myrmekioderma gyroderma*, *Myrmekioderma rea*, *Biemna cribaria*, *Cinachyrella kuekenthali*, *Iotrochota imminuta*, *Oceanapia peltata*, *Polymastia tenax*, *Desmapsamma anchorata*, *Spirastrella coccinea*, *Cribrachalina infundibulum* and *Oceanapia bartschi* did not show any antimicrobial activity whatsoever.

Key words:

Porifera. Antimicrobial. Crude extracts. Marine bioprospecting. Colombian Caribbean.

INTRODUCCIÓN

Se cree que la biodiversidad marina a nivel genético y bioquímico es superior a la continental¹, por lo que es de esperar que un país con dos océanos y con gran diversidad como Colombia ofrezca grandes perspectivas en bioprospección de sustancias activas, planteando así alternativas de desarrollo biotecnológico y económico. Sin embargo, para el inicio de tal desarrollo es necesario incrementar el conocimiento de las especies que residen en sus mares y determinar su potencial de uso.

En este sentido, en Colombia se ha destacado la investigación con esponjas marinas, un grupo de animales multi-

Correspondencia:

Jennyfer A. Mora

Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (INVEMAR)

Cerro Punta de Betín, A.A.

1016 Santa Marta (Colombia)

Correo electrónico: jmora@invemar.org.co

celulares primitivos, morfológicamente simples, pero con una organización bioquímica compleja y diversa; constituye el grupo con mayor número y diversidad de productos naturales marinos, cuyas características biológicas los convierten en candidatos ideales para la investigación farmacológica y clínica²⁻⁴.

Desde el año 1986 se viene desarrollando un proceso de búsqueda de productos naturales en estos organismos a través de la identificación de los compuestos y de las especies promisorias. De esta forma, entre los nuevos agentes antimicrobianos de origen marino registrados en Colombia están la variabilina (de *Ircinia felix*), activa contra bacterias grampositivas y gramnegativas⁴, y el compuesto +(-) curcufenol (de *Didiscus oxeata*), aislado de la naturaleza por primera vez por investigadores colombianos, activo contra bacterias grampositivas y los hongos *C. albicans* y *Saccharomyces cerevisiae*⁵.

A nivel mundial ya existen varios compuestos antibióticos aislados de esponjas marinas disponibles comercialmente y otros sometidos a estudios preclínicos y clínicos³. Algunos ejemplos son: spongistatina 1 (de *Hytios erecta*) y aurantosidos (de *Siliquariaspongia japonica* y *Homophymia confiera*), entre los agentes antifúngicos disponibles comercialmente⁶. *Sammaplina A* (de *Psammaplysina* sp.) se utiliza para el control de *S. aureus* resistente a la metilicina, cuya actividad es comparable con la ciproflaxina⁷. La oceanapisida (de *Oceanapia*) posee actividad antifúngica contra *Candida glabrata*⁸. Los sulfatos de acantosterol (de *Acanthodendrilla* sp.) son activos contra cepas de *S. cerevisiae*⁷. Las cribrostatinas (de *Cribrochalina* sp.), entre las cuales la cribrostatina 2 es la más activa frente a hongos y bacterias, incluyen *Neisseria gonorrhoeae* y *Streptococcus pneumoniae*⁹.

Particularmente para el mar Caribe, en Venezuela se obtuvo el antifúngico discodermida (de *Discodermia dissoluta*)¹⁰; en Brasil, los alcaloides haliconamida E y las arenosclerinas (de *Arenosclera brasiliensis*), con actividad antibiótica y antifúngica^{11,12}, y la halicondramina (de *Halichondria* spp.), activa contra bacterias patógenas resistentes, pero no para *C. albicans*^{11,13}.

Conscientes de la necesidad y relevancia del descubrimiento de nuevos antibióticos, así como de la importancia de dar continuidad al proceso de explotación de productos de origen marino, con proyección en la industria farmacéutica en Colombia, el propósito de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos orgánicos crudos obtenidos de 15 esponjas marinas del Caribe colombiano contra cepas microbianas de importancia clínica en humanos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Colección y tratamiento del material biológico

En el área de Santa Marta, NE de la costa Caribe de Colombia y el Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT), entre

noviembre de 2003 y febrero de 2004, fueron recolectados manualmente aproximadamente 600 g de cada esponja mediante buceo autónomo; las muestras se transportaron en bolsas herméticas con agua del medio. En el laboratorio se retiró el exceso de agua y se congeló el material a -15 °C. Se guardó un fragmento de cada esponja en etanol al 70% para confirmar la identificación taxonómica y posteriormente esta muestra se depositó como testigo en la Colección de Referencia de Organismos Marinos del Museo de Historia Natural Marina-INVEMAR (tabla 1).

Para obtener los extractos orgánicos crudos de todas las esponjas, un volumen conocido de cada esponja fue liofilizado durante 15 h, para la posterior extracción con metanol GR (grado reactivo) durante 24 h en agitación constante. La solución resultante de la extracción se filtró en un Kitasato

Tabla 1	Esponjas colectadas para el estudio de la actividad antimicrobiana		
Especie	Localidad	Profundidad	N.º de catálogo
<i>Oceanapia peltata</i> , Schmidt, 1870	El Morro Bahía de Santa Marta	25 m	INV-POR 882
<i>Xestospongia proxima</i> , Duch. y Mich., 1864	Bahía de Chengue	19-20 m	INV-POR 885
<i>Polymastia tenax</i> , Pulitzer-Finali, 1986	Punta de Betín Bahía de Santa Marta	12 m	INV-POR 896
<i>Biemna cribaria</i> , Alcolado y Gotera, 1986	Ensenada Granate	23 m	INV-POR 890
<i>Dragmacidon reticulata</i> , Ridley y Dendy, 1886	El Morro Bahía de Santa Marta	24 m	INV-POR 881
<i>Desmapsamma anchorata</i> , Carter, 1882	Bahía de Chengue	17 m	INV-POR 887
<i>Oceanapia bartschi</i> , De Laubenfels, 1934	Ensenada Granate	15 m	INV-POR 882
<i>Petromica ciocalyptoides</i> , Van Soest y Zea, 1986	El Morro Bahía de Santa Marta	20-24 m	INV-POR 891
<i>Lotrochota imminuta</i> , Pulitzer-Finali, 1986	El Morro Bahía de Santa Marta	4-6 m	INV-POR 883
<i>Myrmekioderma rea</i> , De Laubenfels, 1934	Bahía de Chengue	18-20 m	INV-POR 884
<i>Cinachyrella kuekenthali</i> , Uliczka, 1929	El Morro Bahía de Santa Marta	12-15 m	INV-POR 878
<i>Cribrochalina infundibulum</i> , Schmidt, 1870 sin. <i>vasculum</i>	Punta de Betín Bahía de Santa Marta	11 m	INV-POR 895
<i>Myrmekioderma gyroderma</i> , Alcolado, 1984	Ensenada Granate	22 m	INV-POR 889
<i>Halichondria</i> sp.	El Morro Bahía de Santa Marta	20-24 m	INV-POR 899
<i>Spirastrella coccinea</i> , Duch. y Mich., 1864	El Morro Bahía de Santa Marta	22 m	INV-POR 877

y fue concentrada hasta extracto en un rotavapor (35–37 °C). Los mismos trozos de esponja fueron sometidos a una segunda extracción con una mezcla de metanol y diclorometano GR (2:1) y se repitió el proceso anteriormente descrito; el extracto obtenido se mezcló con el anterior derivado de metanol y se concentró en rotavapor a la misma temperatura. El extracto final fue pesado y removido del globo de destilación, empleando 15 ml de diclorometano o el mismo volumen de éter dietílico GR; se retiró dicho solvente del extracto por evaporación en una cámara de extracción durante 6 h. Todos los extractos se almacenaron en oscuridad y a temperatura de congelación (–15 °C) para su posterior uso en los bioensayos.

Se utilizó el método de difusión en agar con sensidiscos^{14,15}, en el cual para los sensidiscos con extracto se aplicaron alícuotas de 20 µl a cada uno de los discos esterilizados de papel filtro Whatman® GF-C de 6 mm de diámetro¹². Después de 24 h de incubación a 37 °C se midió el diámetro (mm) de inhibición del crecimiento usando un calibrador⁶. Se utilizaron como controles negativos discos limpios (sin extractos y sin solvente) y sólo con solvente en las proporciones y cantidades usadas. Como control positivo para bacterias se usaron sensidiscos de cefoperazona Oxoid® (75 µg), cefalosporina de tercera generación utilizada para el control eficaz de las bacterias usadas en este trabajo, aunque con menor reactividad contra las bacterias grampositivas¹⁵ (tabla 2).

Antes de aplicar los extractos a los sensidiscos se disuelven en cantidades mínimas de solvente hasta obtener una suspensión homogénea. Se realizó un tratamiento con la concentración natural (CN) del extracto en la esponja y un tratamiento con una concentración de 500 mg/ml (EC). Para las dos concentraciones de cada extracto se realizaron seis réplicas completas. Cada réplica correspondió a una caja Petri con un sensidisco del tratamiento 1 (CN), un sensidisco del tratamiento 2 (EC), un sensidisco con solvente, un sensidisco sin solvente limpio y seco y un sensidisco de cefoperazona o nistatina (según el caso) para cada esponja por separado.

Tabla 2	
Concentración mínima inhibitoria de Cefoperazona Oxoid® para las cepas bacterianas usadas en este estudio	
Especie bacteriana	Concentración mínima inhibitoria
<i>Staphylococcus aureus</i>	32 µg/ml
<i>Streptococcus faecalis</i>	64 µg/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 µg/ml
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2 µg/ml

Para determinar la propiedad antibacteriana de los extractos se usaron cultivos de 18–24 h en caldo nutritivo de las bacterias grampositivas *S. aureus* y *S. faecalis* (Cepario Laboratorio de Microbiología, Departamento de Biología-Universidad Nacional de Colombia) y de las bacterias gramnegativas *E. coli* ATCC 25922 Oxoid® (Cepario Laboratorio de Microbiología-INVEMAR) y *P. aeruginosa* (aislamiento clínico, Hospital Central de Santa Marta), mientras que para evaluar la propiedad antifúngica de los extractos se usaron cultivos de 18–24 h en caldo nutritivo de *C. albicans* conservada en agar glucosa de Sabouraud al 4% (aislamiento clínico, Hospital Central de Santa Marta). Se utilizaron como control positivo discos de papel filtro Whatman® GF-C de 6 mm de diámetro, los cuales fueron saturados durante 5 h en una suspensión de nistatina de marca comercial La Sante® (2,273 g/ml); transcurrido este tiempo, los discos fueron retirados de la suspensión y se dejaron secar a temperatura ambiente en la cámara de siembra en condiciones asépticas. Las réplicas de estos ensayos se realizaron de igual forma que para los ensayos de evaluación de la actividad antibacteriana anteriormente descritos. Después de 18 h de incubación a 25 °C se registraron los datos obtenidos de la medición de los halos de inhibición (usando el mismo calibrador).

Los diámetros del halo de inhibición permiten estimar el nivel de actividad del extracto respecto a la cefoperazona y la nistatina. Para determinar las diferencias entre los halos de inhibición producidos por los extractos y el antibiótico o el antimicótico se realizó un análisis de varianza (ANOVA) a una vía con el software Statistica® 99¹⁶ y de comparaciones múltiples entre medias a través de la prueba Student-Newman-Keuls (SNK), con un nivel de significancia de 0,01¹⁷.

RESULTADOS

De las 15 esponjas evaluadas sólo *Halichondria* sp., *P. cicalyptoides* y *X. proxima* inhibieron el crecimiento de dos bacterias grampositivas y el hongo; *D. reticulata* presentó únicamente actividad antifúngica (tabla 3). La actividad antibacteriana contra bacterias gramnegativas no fue detectada en los extractos evaluados.

En todas las réplicas, el crecimiento de las bacterias fue inhibido por la cefoperazona; asimismo, el crecimiento del hongo *C. albicans* fue inhibido por la nistatina, mientras que los discos de control limpios y los discos de control con solvente no presentaron efectos sobre el crecimiento microbiano.

Para *D. reticulata* se presentaron diferencias significativas entre los efectos de inhibición del crecimiento para *C. albicans* producidos por cada tratamiento (CN, EC y nistatina); fue mayor el efecto producido por la nistatina respecto al extracto en las dos concentraciones probadas. Sin embargo, para este hongo la inhibición producida por el extracto concentrado fue mayor que la del extracto a concentración natural.

Tabla 3 Actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos activos

Especie/tratamiento-concentración	Promedio de los halos de inhibición (mm) ^a ± EE		
	<i>C. albicans</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. faecalis</i>
<i>Drugmacionon reticulata</i>			
CN (160 mg/ml)	(-) ^A 6,9±0,117	–	–
EC (500 mg/ml)	(+) ^B 8,3±0,373	–	–
Nistatina (2.273 mg/ml)	(+++) ^C 16,2±0,474	NA	NA
<i>Xestospongia proxima</i>			
CN (89 mg/ml)	(+++) ^A 17,3±0,557	(+) ^A 8,2±0,810	(+) ^A 7,8±0,690
EC (500 mg/ml)	(+++) ^B 20,1±0,616	(++) ^B 12,7±1,130	(++) ^B 11±0,477
Nistatina (2.273 mg/ml)	(+++) ^A 17,6±0,470	NA	NA
Cefoperazona (75 µg)	NA	(+) ^{AB} 9,3±0,423	(+) ^B 10,9±0,590
<i>Petromica ciocalyptoides</i>			
CN (290 mg/ml)	–	(+) ^A 9,4±0,223	(+) ^A 8,9±0,363
EC (500 mg/ml)	(-) ^A 6,9±0,159	(+) ^A 10,3±0,396	(+) ^A 10,4±0,272
Nistatina (2.273 mg/ml)	(++) ^B 14,6±0,331	NA	NA
Cefoperazona (75 µg)	NA	(+++) ^B 20,9±0,563	(+++) ^B 18±0,543
<i>Halichondria</i> sp.			
CN (60,4 mg/ml)	(+) ^A 7,1±0,035	(+) ^A 7,6 ^b ±0,319	(+) ^A 8 ^b ±0,267
EC (500 mg/ml)	(+) ^A 8,1±0,257	(+) ^B 10 ^b ±0,056	(+) ^B 10,2 ^b ±0,181
Nistatina (2.273 mg/ml)	(++) ^B 14,6±0,355	NA	NA
Cefoperazona (75 µg)	NA	(++) ^C 13,6±0,208	(++) ^C 13,2±0,143

Superíndices (mayúsculas) iguales indican que no hay diferencia significativa entre tratamientos (ANOVA y SNK, p < 0,01) (-): sin actividad; (+): actividad débil (7-11 mm); (++) moderada (11-16 mm); (+++): fuerte (> 16 mm) (6); CN: concentración natural; EC: extracto concentrado; NA: no aplica.
^a Incluye el diámetro del disco (6 mm); corresponde al promedio de 6 réplicas. ^b Este dato corresponde a la zona de completa inhibición, pero en estos casos hay una zona adicional de reducida densidad en el cultivo.

El extracto de *X. proxima* a una concentración de 500 mg/ml igualó el poder de inhibición de la cefoperazona para la cepa *S. faecalis* y fue superior para la cepa *S. aureus*, así como para *C. albicans*, en donde superó el poder de inhibición de la nistatina. De igual forma como se describió para el extracto de *D. reticulata*, la actividad del extracto de *X. proxima* se hace mayor con el aumento de concentración; en este caso dicho efecto se observó para las cepas *S. aureus*, *S. faecalis* y *C. albicans* (tabla 3).

Para *P. ciocalyptoides* se encontró que la concentración del extracto no altera el poder de inhibición para las cepas grampositivas, pero sí para *C. albicans*, en la cual sólo se apreció actividad cuando el extracto superó la concentración natural. Los halos de inhibición del extracto obtenido de esta esponja fueron menores a los generados por la cefoperazona y la nistatina.

En el caso de *Halichondria* sp. se encontraron diferencias significativas entre los halos de inhibición producidos por la cefoperazona y la nistatina y el extracto de esta esponja para las

dos concentraciones probadas; fue menor la actividad del extracto. Sin embargo, se evidenció que el efecto de inhibición sobre las bacterias grampositivas fue mayor cuando aumentó la concentración del extracto; en el caso de *C. albicans* se observó este efecto, pero la diferencia de medias no tuvo significancia estadística. *Halichondria* sp. presentó mayor actividad para las cepas grampositivas que para el hongo.

En resumen, se encontró que los extractos de estas cuatro esponjas inhiben el crecimiento de *C. albicans*, resaltando la fuerte actividad de *X. proxima*. Para las cepas grampositivas, *P. ciocalyptoides* generó los mayores halos de inhibición a la concentración natural, mientras que *X. proxima* lo hace con el extracto a mayor concentración (500 mg/ml).

DISCUSIÓN

El desarrollo del presente estudio permitió identificar las esponjas marinas *Halichondria* sp., *X. proxima*, *P. ciocalyptoides* y *D. reticulata* como posibles fuentes de sustancias anti-

microbianas con posibles usos en microbiología clínica, por lo que constituye el primer informe de actividad antimicrobiana de los extractos orgánicos crudos (metanol:diclorometano) sobre cepas de *S. aureus*, *S. faecalis* y *C. albicans*.

La actividad antibacteriana de estos extractos fue más frecuente para el control de bacterias grampositivas (*S. aureus* y *S. faecalis*). Éste es un resultado importante considerando que las cepas de *S. aureus* poseen gran facilidad para mutar e incorporar genes de resistencia frente a los antibióticos tradicionales¹⁸. Estas bacterias fueron inhibidas por tres de los extractos activos y en el caso de *X. proxima* la inhibición fue mayor que la producida por la cefoperazona. Aunque esta cefalosporina es más eficaz para el control del crecimiento de bacterias gramnegativas que grampositivas, no por esta razón deja de ser importante este resultado, ya que se trata de un extracto no purificado. Los extractos orgánicos crudos se caracterizan por ser una mezcla de muchas sustancias que en ocasiones generan reacciones antagónicas en los compuestos activos, por lo cual también se puede observar la misma intensidad de la bioactividad a cualquier concentración del extracto¹⁹.

Cabe resaltar la sensibilidad de *C. albicans* frente a los extractos de las cuatro esponjas, ya que para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por este hongo los principales inconvenientes se deben a la escasez de antimicóticos. Esto obedece a la tendencia tóxica de los antimicóticos comerciales para los humanos debida a la similitud que conservan los hongos con las células eucariotas¹⁸. Con este estudio se han encontrado cuatro nuevas fuentes alternativas para la obtención de un principio activo con efecto antimicótico. Aunque falta establecer su toxicidad, a nivel local éste es un resultado importante, ya que fue evaluado empleando una cepa nativa, que genera un alto valor agregado por cuanto no se trata sólo de un principio activo para esta especie, sino también para una cepa que afecta a pacientes locales.

En términos de bioprospección la especie más interesante es *X. proxima* por presentar los niveles más altos de actividad en todos los microorganismos evaluados, especialmente por la fuerte actividad sobre el control de la levadura. En este caso los valores de los halos de inhibición registrados sugieren que el compuesto activo posiblemente tenga una concentración mínima inhibitoria (CMI) relativamente baja. Por lo anterior se propone la realización de futuros estudios químicos y farmacológicos detallados, como también sobre los posibles mecanismos de acción, con el fin de ampliar las posibilidades de tratamiento de enfermedades infecciosas de la piel y las mucosas causadas por dicho hongo²⁰.

Dentro de los posibles compuestos a los cuales puede atribuirse la actividad antibiótica de los extractos, existen estudios de caracterización química del extracto metanol-acetónico de *X. proxima*, en donde se ha registrado la presencia de clionasterol, colesterol, colestanol, brassicasterol, 22-dihidrobrassicasterol, epigostanol y estigmasterol²¹, de

monohidroxiesteros (24-isopropil-22-dihidrocolestanol) en *P. ciocalyptoides* y *H. lutea*²² y de ácidos 2-metoxipentadecanoico, 16-metilnonadecanoico, 20-metil-18-tetracocenoico y 15-metiloctadecanoico en *P. ciocalyptoides*²³. En este sentido se hace necesario realizar la caracterización de los compuestos contenidos en los extractos de metanol-diclorometano, así como ensayos de bioactividad.

Aunque los resultados de la actividad antimicrobiana con cepas de importancia clínica no pueden ser extrapolados al ambiente marino para respaldar hipótesis ecológicas y evolutivas²⁴, e incluso es cuestionable la extrapolación de información obtenida en ensayos *in vitro* con microorganismos marinos²⁵, las pruebas realizadas respaldan la búsqueda de sustancias que puedan inhibir el asentamiento de bacterias sobre la superficie de ésta como mecanismo inicial para prevenir la epibiosis y/o que puedan prevenir infecciones o descomposición que pudieran causar miles de microorganismos que circulan en su complejo sistema de canales y cavidades²⁶⁻²⁸. De acuerdo con esta hipótesis se propone como tema de futuras investigaciones determinar si la actividad antibiótica observada *in vitro* tiene esta funcionalidad en las esponjas *Halichondria* sp., *P. ciocalyptoides*, *D. reticulata* y *X. proxima* del Caribe colombiano.

La ausencia de actividad antimicrobiana registrada para la mayoría de las esponjas (11/15) puede obedecer a una situación en la que simplemente no hay sustancias bioactivas o bien su nivel de actividad es muy bajo a pesar de haber probado los extractos en concentraciones relativamente altas (tabla 3), a la variabilidad temporal, microgeográfica, intraespecífica e incluso por procedimientos metodológicos (métodos de extracción y polaridad de solventes) que podrían afectar a la bioactividad de los compuestos¹².

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el apoyo científico, técnico, financiero y logístico del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andrés (INVEMAR) en el marco del Programa Valoración y Aprovechamiento de Recursos Marinos, Línea Bioprospección Marina, la Universidad Nacional de Colombia y el Centro de Estudios en Ciencias del Mar (CECIMAR). Fue financiado por el Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales Francisco José de Caldas (COLCIENCIAS), enmarcado en el «Proyecto piloto de prospección de bioactividad de organismos marinos colombianos», código 2105-09-12456. Agradecemos al Hospital Central de Santa Marta y a los laboratorios de Microbiología del INVEMAR y del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia facilitarnos sus instalaciones y equipos, así como las cepas bacterianas. Queremos mostrar nuestro agradecimiento al Grupo de Bioprospección Marina del INVEMAR, especialmente a Sven Zea, Jazmín Arias y Andia Chávez, y a Diego Gil, Jacobo Blanco y Héctor Campos por sus aportaciones al manuscrito final.

BIBLIOGRAFÍA

1. Márquez G. Biodiversidad marina: aproximación con referencia al Caribe. En: Ecosistemas estratégicos y otros estudios de ecología ambiental. Bogotá: Fondo FEN Colombia, 1996; p. 67-102.
2. Osinga, R. Biotechnological aspects of marine sponges. *J Biotechnol* 2003;100:91-2.
3. Faulkner DJ. Marine natural products. *Nat Prod Rep* 2000;17:7-55.
4. Duque C, Puyana M, Osorno O, Zea S. Visión retrospectiva de las investigaciones en productos naturales marinos en Colombia durante los últimos 15 años en el mundo marino de Colombia: investigación y territorios olvidados. *Red de estudios del mundo marino*. Bogotá: REMAR, 2003; p. 313-29.
5. Duque C, Zea S, De Silvestri J, Calderón A, Medina A. Actividad biológica frente a composición química del extracto clorofórmico de la esponja marina *Didiscus oxcata*. *Rev Col Quím* 1988;17:39-46.
6. Monks NR, Lerner C, Henriques A, Farias F, Schapoval E, Suyenaga E, et al. Anticancer, antichemotactic and antimicrobial activities of marine sponges collected off the coast of Santa Catarina, southern Brazil. *J Exp Mar Biol Ecol* 2002;281:1-12.
7. Mayer AM, Hamann MT. Marine pharmacology in 1999: compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, anthelmintic, anti-inflammatory, antiplatelet, antiprotozoal and antiviral activities affecting the cardiovascular, endocrine immune and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2002;132:315-39.
8. Arango A, Sánchez J, Betancur L. Productos naturales con actividad antimicótica. *Rev Esp Quimioter* 2004;17:325-31.
9. Pettit G, Knight J, Collins J, Herald L, Pettit R, Boyd M, et al. Antineoplastic agents 430. Isolation and structure of cribrastatins 3, 4 y 5 from the Republic of Maldives *Cribrorchalina* Species. *J Nat Prod* 2000; 63:793-8.
10. Gunasekera SP, Gunasekera M, McCarthy P. Discodermides: a new bioactive macrocyclic lactam from marine sponge *Discodermia dissoluta*. *J Org Chem* 1991;56:4830-3.
11. Berlinck RG, Hajdu E, Da Rocha R, De Oliveira J, Hernández I, Seleguim M, et al. Challenges and rewards of research in marine natural products chemistry in Brazil. *J Nat Prod* 2004;67:510-22.
12. Muricy G, Hajdu E, Araujo F, Hagler A. Antimicrobial activity of southwestern Atlantic shallow-water marine sponges (Porifera). *Sci Mar* 1993;57:427-32.
13. Torres YR, Berlinck RG, Nascimento G, Fortiers S, Pessoa C, Moraes MO. Antibacterial activity against resistant bacteria and cytotoxicity of four alkaloid toxins isolated from the marine sponge *Arenosciera brasiliensis*. *Toxicon* 2002;40:885-91.
14. Hewitt W, Vincent S. The agar diffusion assay. En: Theory and application of microbiological assay. San Diego, Cal: Academic Press, Inc., 1989; p. 38-79.
15. National Committee for Clinical Laboratory Standard. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved Standard. Document M2-A8. Wayne, Pennsylvania: National Committee for Clinical Laboratory Standard, 2003; p. 23.
16. StatSoft, Inc. STATISTICA for Windows [Computer program manual]. OK: Statsoft, Inc. 2300 East 14th Street, Tulsa, OK 74104, 1999.
17. Sokal R, Rohlf F. Biometry. San Francisco, Cal: State University of New York at Stony Brook-W.H. Freeman and Company, 1981.
18. Walker T. Microbiología. México: McGraw Hill Interamericana, 2000.
19. De Silvestri J, Zea S, Duque C. Actividad antibacteriana de algunas esponjas del Caribe colombiano. *Rev Col Ciencias Químico-Farmacéuticas* 1994;22:21-6.
20. Arenas, R. Dermatofitosis en México. *Rev Iberoam Micol* 2002; 19:63-7.
21. Gaitán R, Méndez D, Rodríguez E, Peralta D, Hernández W. Contribución al estudio del contenido esterólico de algunas esponjas marinas del género *Xestospongia* y evaluación de su actividad ictiotóxica. *Rev Latin Quim* 2003;31.
22. Castellanos L, Zea S, Osorno O, Duque C. Phylogenetic analysis of the order *Halichondria* (Porifera, Demospongiae), using 3 β -hydroxysterols as chemical characters. *Biochem System Ecol* 2003;31:1163-83.
23. Rodríguez W, Osorno O, Duque C, Zea S. Phospholipid fatty acid composition of Colombian Caribbean sponges of the order *Halichondria* (Porifera, Demospongiae) and its significance as chemotaxonomic character. *Year of Natural Products Research. Past, present and future*. Amsterdam 2000;26-30.
24. Berquist PR, Bedford JJ. The incidence of antibacterial activity in marine demospongiae: systematic and geographic considerations. *Mar Biol* 1978;3:215-221.
25. Green G, Gómez P, Bakus G, Schulte B, Jhu S, Wright M. Antibiosis and antifouling in marine sponges: laboratory versus field studies. 3rd. *Int Sponge Conf* 1985;102:108.
26. McCaffrey EJ, Endean R. Antimicrobial activity of tropical and subtropical sponges. *Mar Biol* 1985;89:1-8.
27. Bakus G, Schulte B, Jhu S, Wright M, Green G, Gómez P. Antibiosis and antifouling in marine sponges: Laboratory versus field studies. 3rd. *International Sponge Conference*, 1985; p. 102-8.
28. Henrikson A, Pawlik, J. Seasonal variation in biofouling of gels containing extracts of marine organisms. *Biofouling* 1998;12: 245-55.