



Universidad de Concepción
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas



Determinación de la actividad antibacteriana de las secreciones cutáneas de Anfibios del Bosque templado lluvioso de Chile

Seminario de Título presentado a la
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
para optar al título de Biólogo

Romina Ivonne Carvajal Carvajal

Concepción, Abril 2015

RESUMEN

En la actualidad, las enfermedades infecciosas de tipo bacterianas constituyen una grave amenaza para la salud pública mundial dada la pérdida de eficacia de los tratamientos asociados a la creciente resistencia bacteriana. Chile, no queda exento de este problema, lo que pone de manifiesto la alarmante necesidad de estudiar nuevas estructuras bioactivas que permitan el desarrollo de tratamientos antibacterianos innovadores. Los péptidos antimicrobianos (PAMs) son una de las alternativas para combatir la resistencia de múltiples antibióticos. Estas moléculas son producidas por una diversidad de organismos y participan como uno de los principales efectores de la respuesta inmune innata. Su actividad antimicrobiana es muy potente y puede neutralizar a una amplia gama de microorganismos, como las bacterias. Dentro de los organismos productores, los anfibios anuros (sapos y ranas) presentan la mayor riqueza de PAMs considerados como una potencial fuente para el descubrimiento de nuevos agentes terapéuticos. Es así como muchas especies han sido estudiadas alrededor del mundo, sin embargo, los anfibios de Chile aún no han sido explorados en este ámbito. Por lo tanto, se estima que su gran biodiversidad podría significar una gran ventaja para la búsqueda de nuevos antibacterianos. Es por eso que el presente estudio tuvo como objetivo determinar si los anfibios del bosque templado lluvioso de Chile presentan en las secreciones de su piel, actividad antibacteriana dada por PAMs. Para ello, cinco especies de anfibios fueron puestos a prueba: *Pleurodema thaul*, *Calyptocephalella gayi*, *Batrachyla taeniata*, *Eupsophus septentrionalis* y *Batrachyla leptopus*. Se evaluó el uso de distintas metodologías para la obtención de la secreción cutánea, estudiando y describiendo su respuesta frente a los distintos estímulos versus la producción de secreción en cada una de las especies. Posteriormente, mediante la prueba de susceptibilidad por difusión en agar se determinó la capacidad que tenían estas secreciones de inhibir el crecimiento de bacterias de importancia en la salud. Se ensayó sobre bacterias gram-negativas como: *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Helicobacter pylori* ATCC 43504 y Gram-positivas como *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Y para comprobar la presencia de dichos compuestos peptídicos en las secreciones, estos fueron cuantificados a través de Bradford y analizados a través de SDS-PAGE.

Los resultados indicaron que cada especie produce distintas cantidades de secreción cutánea según sea las características de su piel y tipo de estimulación. Se determinó que a través de la inyección de noradrenalina se puede producir mayor liberación de secreción cutánea con valores de hasta 80 nmol/g y que la forma de recolección y almacenamiento son importantes para asegurar una concentración adecuada y calidad de la muestra. Según se demostró, la secreción de la piel de la rana chilena *Calyptocephalella gayi* es la que presentó mayor actividad antibacteriana en la secreción de su piel, inhibiendo el crecimiento de bacterias Gram - (*H. pylori*) con un halo de 20mm y Gram + (*S. aureus*) con un halo de 12mm. No se encontró actividad antibacteriana en la secreción de la piel de las demás especies trabajadas. Finalmente, la muestra de *C. gayi* presentó proteínas, las cuales fueron detectadas en el gel como bandas correspondientes a

10kDa, sugiriendo la presencia de PAMs. Por primera vez en Chile se realizó una búsqueda de nuevas moléculas cuyo modelo de estudio fueran anfibios, esto abrirá puertas a nuevas investigaciones que puedan asegurar disponer de interesantes moléculas bioactivas que sirvan como potenciales fuentes terapéuticas, por lo que se desprende la necesidad de cuidar y conservar la biodiversidad de los anuros de Chile.

Palabras Claves: Resistencia antibacteriana, Péptidos antimicrobianos (PAMs), Secreción cutánea de Anfibios, Anfibios del bosque templado lluvioso de Chile.

