ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE SECRECIONES Y EXCRECIONES LARVALES DE *Calliphora vicina Y Sarconesiopsis magellanica (*DIPTERA*:* CALLIPHORIDAE*)*

Presentado por:

Francy Julieth Novoa Palomares
Laura Daniela Salas Díaz

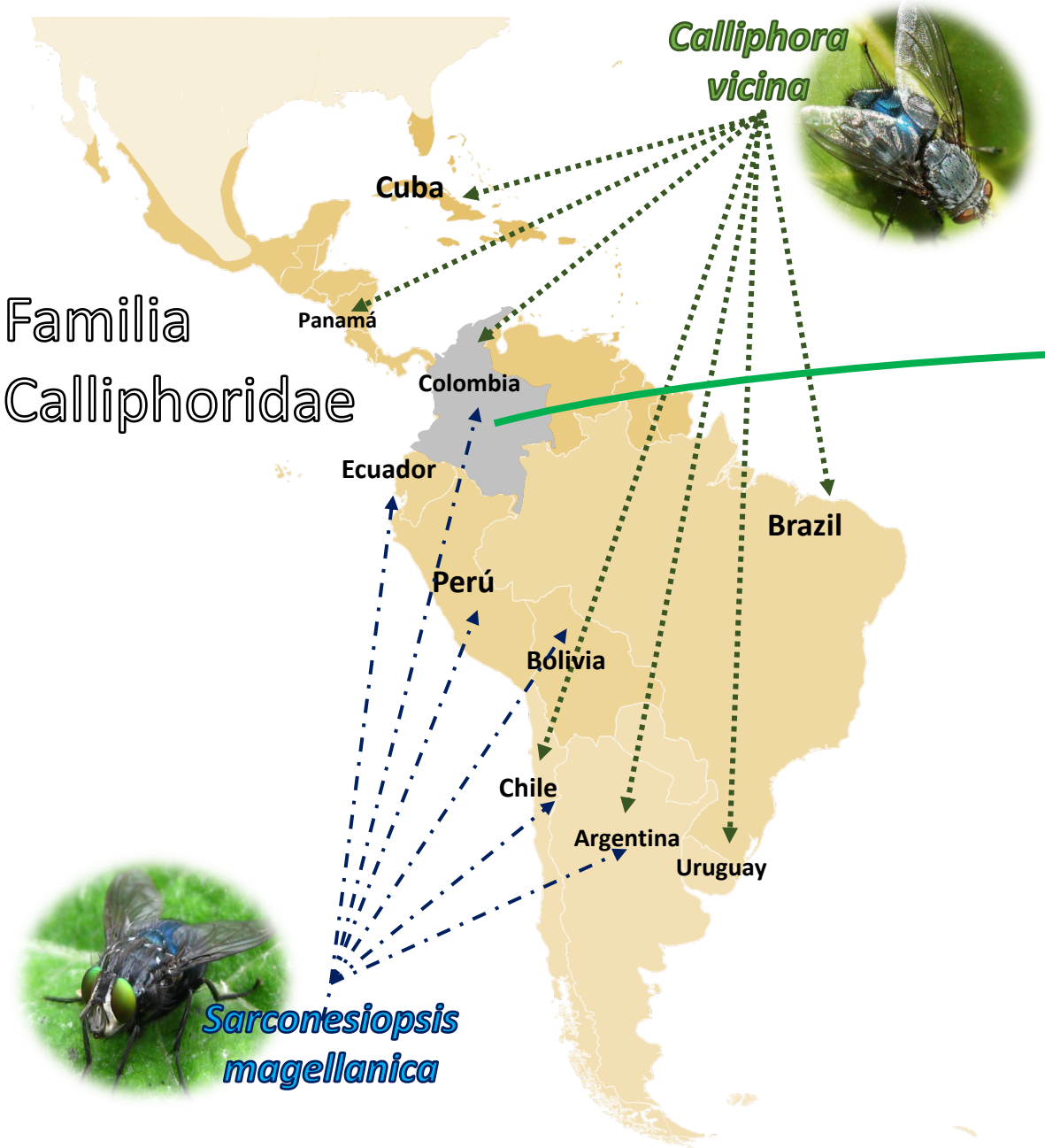
Asesora interna:
Ingred Pinillos Medina. D.M.V

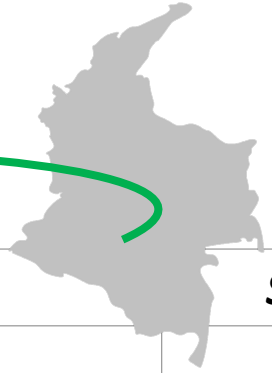
Asesor externo:
Felio Jesús Bello García. MSc., PhD

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad Ciencias de la Salud
Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico
Bogotá D.C.

Introducción

Familia
Calliphoridae





C. vicina	*S. magellanica*
Casanare	Antioquia
Tolima	Boyaca
Santander	Norte de Santander
Caldas	Cundinamarca
Valle del cauca	
Meta	
Cundinamarca	

Pape et al 2004
López-Cepeda et al 2015.
Kosmann et al 2015
Aak A, et al 2011.

Miasis

Intervalo post - mortem

Vector

Terapia larval

1. Desbridamiento
2. Desinfección y erradicación de biopelículas
3. Estimulación del tejido de granulación

Camacho et al 2005
Amat E. 2009.
Góngora et al 2015;
Fischer et al . 2004.
Getachew et al . 2007.
Sharma et al. 2014.
Sherman et al . 2003, 2009

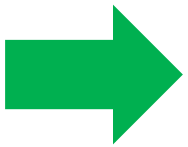
Excreciones y secreciones larvales (ES)

Actividad antimicrobiana

Compuestos alcalinos	Metaloproteínasas de matriz (MMP)	Péptidos antimicrobianos (PAM)
• Carbonato de amonio • Calcio • Alantoína y urea	• Quimiotripsina • Desoxirribonucleasas	• Sarconesina II, aislada de las ES de *S. magellanica*

ES larvales

- *Lucilia serica*
- *Calliphora vicina*
- *Sarconesiopsis magellanica*
- *Chrysomya putoria*
- *Chrysomya megacephla*



S. aureus
E. coli
P. aeruginosa

Bexfield et al 2004.
Barnes et al 2010.
Ratclittfe et al 2015.
Hassan et al 2016.

Contents lists available at ScienceDirect

Acta Tropica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/actatropica

Sarconesiopsis magellanica (Diptera: Calliphoridae) excretions and secretions have potent antibacterial activity

Andrea Díaz-Roa[a], María A. Gaona[b], Nydia A. Segura[a], Diana Suárez[c], Manuel A. Patarroyo[c,d], Felio J. Bello[a,*]

[a] Medical and Forensic Entomology Research Group, School of Medicine and Health Sciences, Universidad del Rosario, Colombia
[b] Microbiology Laboratory, Faculty of Natural and Mathematical Sciences, Universidad del Rosario, Colombia
[c] Molecular Biology and Immunology Department, Fundación Instituto de Inmunología de Colombia, Colombia
[d] Basic Sciences Department, School of Medicine and Health Sciences, Universidad del Rosario, Colombia

Contents lists available at ScienceDirect

Acta Tropica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/actatropica

The effect of *Lucilia sericata*- and *Sarconesiopsis magellanica*-derived larval therapy on *Leishmania panamensis*

Lissa Cruz-Saavedra[a], Andrea Díaz-Roa[a], María A. Gaona[b], Mónica L. Cruz[a], Martha Ayala[c], Jesús A. Cortés-Vecino[d], Manuel A. Patarroyo[e,f], Felio J. Bello[a,g,*]

[a] Medical and Forensic Entomology Research Group, School of Medicine and Health Sciences, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia
[b] Microbiological Research Group—UR (GIMUR), Faculty of Natural and Mathematical Sciences, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia
[c] Parasitology Laboratory, Instituto Nacional de Salud (INS), Bogotá, Colombia
[d] Veterinary Medicine and Zootech Faculty, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
[e] Molecular Biology and Immunology Department, Fundación Instituto de Inmunología de Colombia, Bogotá, Colombia
[f] Basic Sciences Department, School of Medicine and Health Sciences, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia
[g] Faculty of Medicine, Universidad Antonio Nariño, Bogotá, Colombia

Contents lists available at ScienceDirect

Acta Tropica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/actatropica

Evaluating the anti-leishmania activity of *Lucilia sericata* and *Sarconesiopsis magellanica* blowfly larval excretions/secretions in an *in vitro* model

Mayra Juliana Laverde-Paz[a,b], María Clara Echeverry[b], Manuel Alfonso Patarroyo[c,d], Felio Jesús Bello[a,e,f,*]

[a] Medical and Forensic Entomology Research Group, School of Medicine and Health Sciences, Universidad del Rosario, Bogotá DC, Colombia
[b] Public Health Department, Medicine Faculty, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá DC, Colombia
[c] Molecular Biology and Immunology Department, Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC), Bogotá DC, Colombia
[d] Basic Sciences Department, School of Medicine and Health Sciences, Universidad del Rosario, Bogotá DC, Colombia
[e] Medicine Faculty, Universidad Antonio Nariño, Bogotá DC, Colombia
[f] Faculty of Agricultural and Livestock Sciences, Universidad de La Salle, Bogotá DC, Colombia

frontiers in Microbiology

ORIGINAL RESEARCH
published: 28 September 2018
doi: 10.3389/fmicb.2018.02249

Sarconesin: *Sarconesiopsis magellanica* Blowfly Larval Excretions and Secretions With Antibacterial Properties

*Andrea Díaz-Roa[1,2,3], Manuel A. Patarroyo[4,5], Felio J. Bello[6,7] and Pedro I. Da Silva Jr.[1,3]**

[1] Laboratório Especial de Toxinologia Aplicada, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil, [2] PhD Programme in Biomedical and Biological Sciences, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia, [3] Biomedical Sciences Institute, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil, [4] Molecular Biology and Immunology Department, Fundación Instituto de Inmunología de Colombia, Bogotá, Colombia, [5] Basic Sciences Department, School of Medicine and Health Sciences, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia, [6] Faculty of Agricultural and Livestock Sciences, Program of Veterinary Medicine, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia, [7] Medicine Faculty, Universidad Antonio Nariño, Bogotá, Colombia

molecules

MDPI

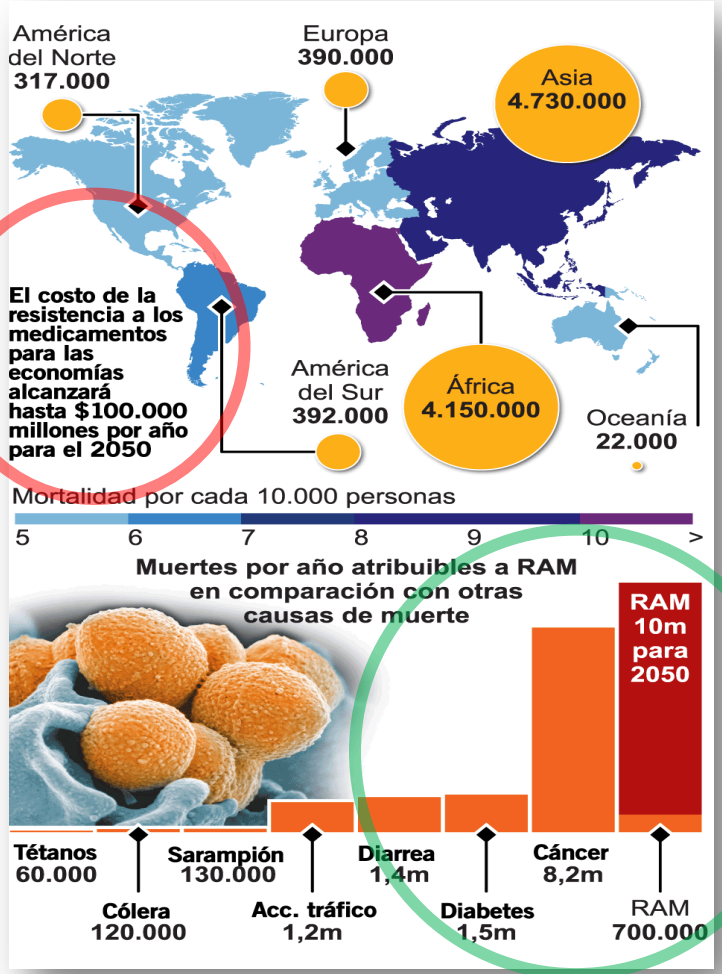
Article

Sarconesin II, a New Antimicrobial Peptide Isolated from *Sarconesiopsis magellanica* Excretions and Secretions

Andrea Díaz-Roa [1,2,3], Abraham Espinoza-Culupú [2,4], Orlando Torres-García [5], Monamaris M. Borges [4], Ivan N. Avino [6], Flávio L. Alves [7], Antonio Miranda [7], Manuel A. Patarroyo [8,9], Pedro I. da Silva Jr. [1,2,*] and Felio J. Bello [10,*]

Problema

¿Cuál es la actividad antimicrobiana más efectiva al comparar las ES larvales de *C. vicina* y *S. magellanica*?



ES larvales

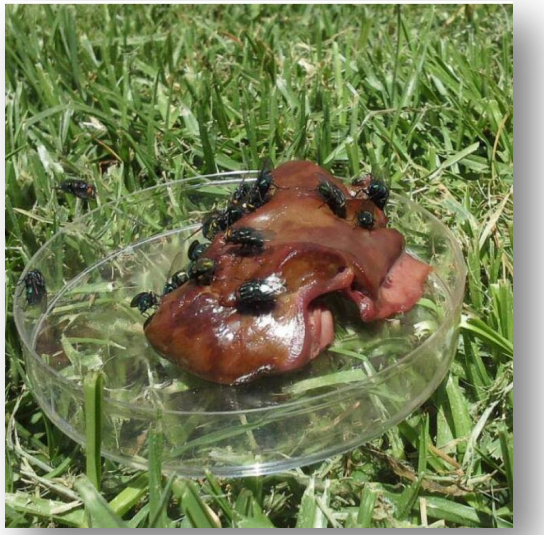
Jansen et al 2018
Ramon – Pardo et al 2018

Objetivo

- Comparar la actividad antimicrobiana de las ES larvales, ES<10 kDa y las ES>10 kDa, derivadas de *Calliphora vicina* y *Sarconesiopsis magellanica*.

- Materiales y métodos
- **Resultados**
- Discusión

Colonización y mantenimiento de la colonia



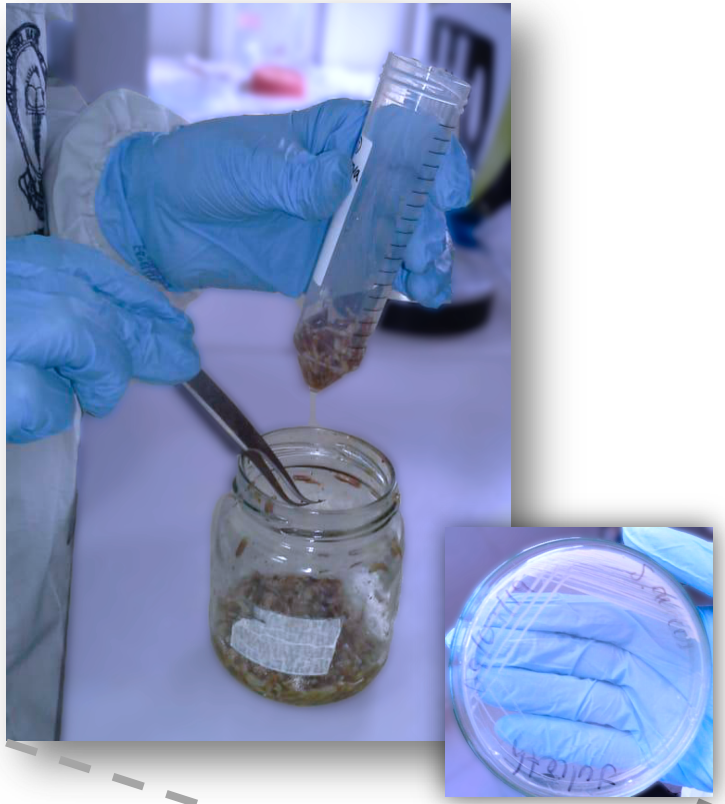
Colecta de especímenes adultos: **Resolución 0922 del 15 de mayo de 2017**

Temperatura 25ºC, Humedad relativa 60% Foto periodo 12:12

Huevos ovipositados de las especies evaluadas

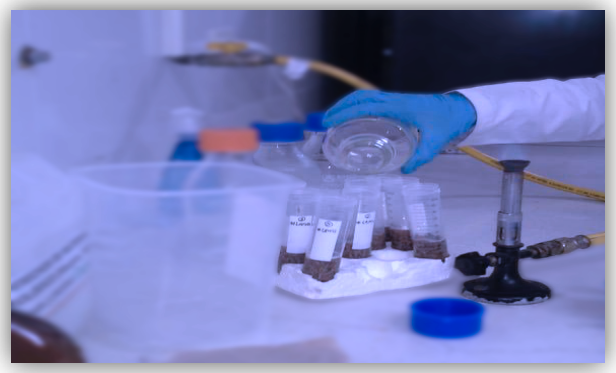
El desarrollo de larvas de tercer estadío ocurrio en un tiempo aproximado de 4 días después de la oviposición.

Obtención de excreciones y secreciones



Larvas de tercer estadío
3000 larvas

Hipoclorito al 0.5%



Formaldehído al 5 %

Agua destilada estéril

Incubación

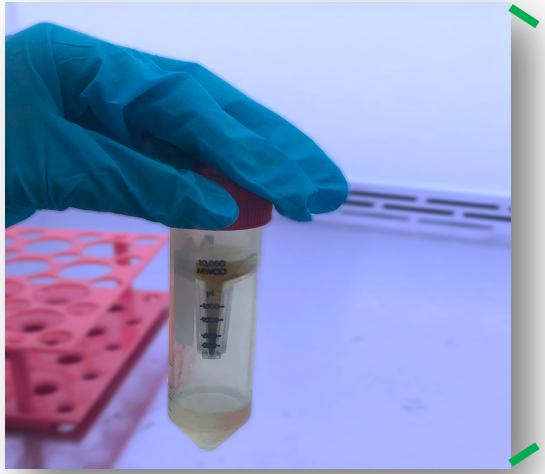
1 hora a
37°C

Centrifugación

13000g
4°C
10min

Filtración de ESn

C. vicina y S. magellanica:
10mL de Es n



Centrifugación

4200 g,
4ºC,
10 min,

Cuantificación de proteínas

Espectrofotometría Ultravioleta – visible (UV/VIS) a 280nm

Análisis estadístico

- ANOVA de una sola vía, más test de Bonferroni.
- T- student

***Diferencias significativas p < 0.05**

Obtención de ES

	ESPECIE	
Parámetro	*C. vicina*	*S. magellanica*
Nº de larvas	3000	
Peso	134,4 g	
Volumen total de **ESn**	15 mL	
Concentración de proteínas de **ESn**	6.764 µg/mL	4.674 µg/mL
Volumen de **ES < 10kDa**	6 mL	
Concentración de proteínas **ES < 10kDa**	4.561 µg/mL	3.050 µg/mL
Volumen de **ES > 10kDa**	4 mL	
Concentración de proteínas **> 10kDa**	6.867 µg/mL	4.712 µg/mL

Ensayo de turbidimetría

- Agua **100µL**
- Medio LB **100µL**
- Medio + bacteria **100µL** (−)
- Antibiótico **50µL** (+)
- ESn de *C. vicina* **50µL**
- ES <10kDa *C. vicina* **50µL**
- ES > 10kDa *C. vicina* **50µL**
- ESn de *S. magellanica* **50µL**
- ES <10kDa de *S. magellanica* **50µL**
- ES >10kDa de *S. magellanica* **50µL**

Bacterias evaluadas

Staphylococcus aureus **ATCC 25923**

Staphylococcus aureus **ATCC 6538**

Staphylococcus aureus **ATCC 43300**

Streptococcus pneumoniae **ATCC 6303**

Estreptomicina/Penicilina: 10µL – 10 UI

Incubación 18 h 37°C

Gentamicina: 10ug/ml

Escherichia coli **ATCC 26922**

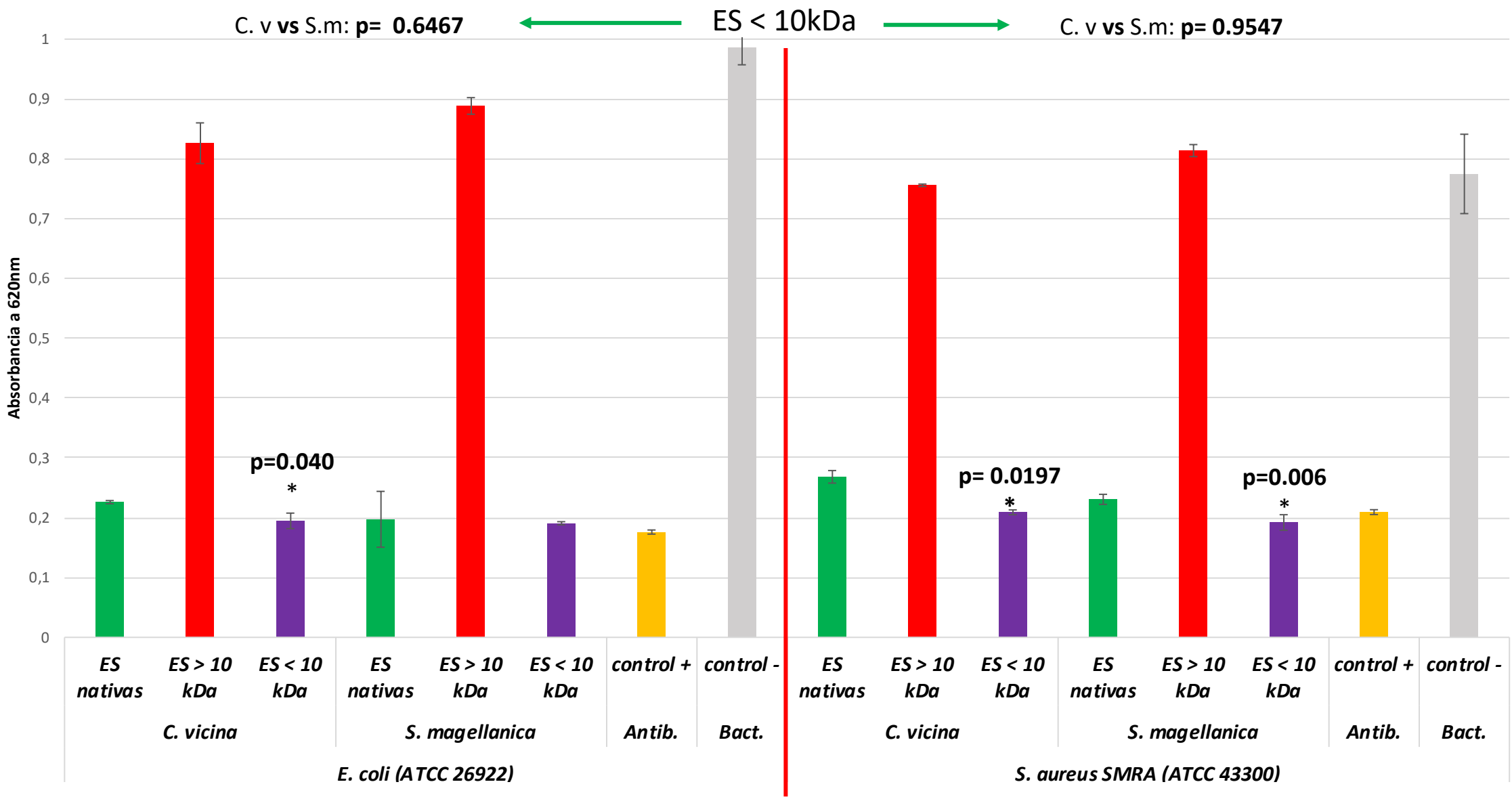
Pseudomonas aeruginosa **ATCC 1744 BAA**

Serratia marcescens **ATCC 13880**

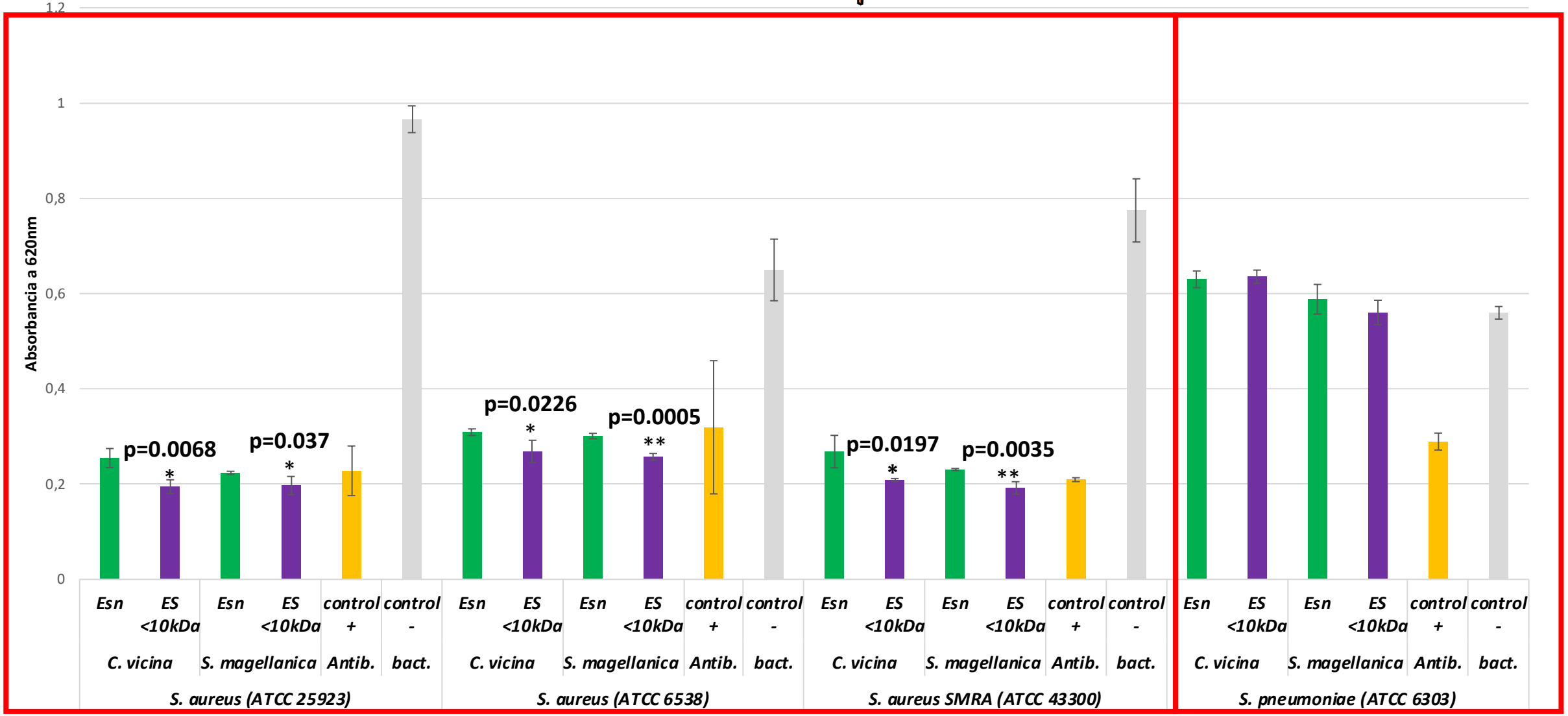
Klebsiella pneumoniae **ATCC 700603**

Sacsaquispe et al. 2002
Diaz Roa et al. 2014

Actividad antibacterial de ES



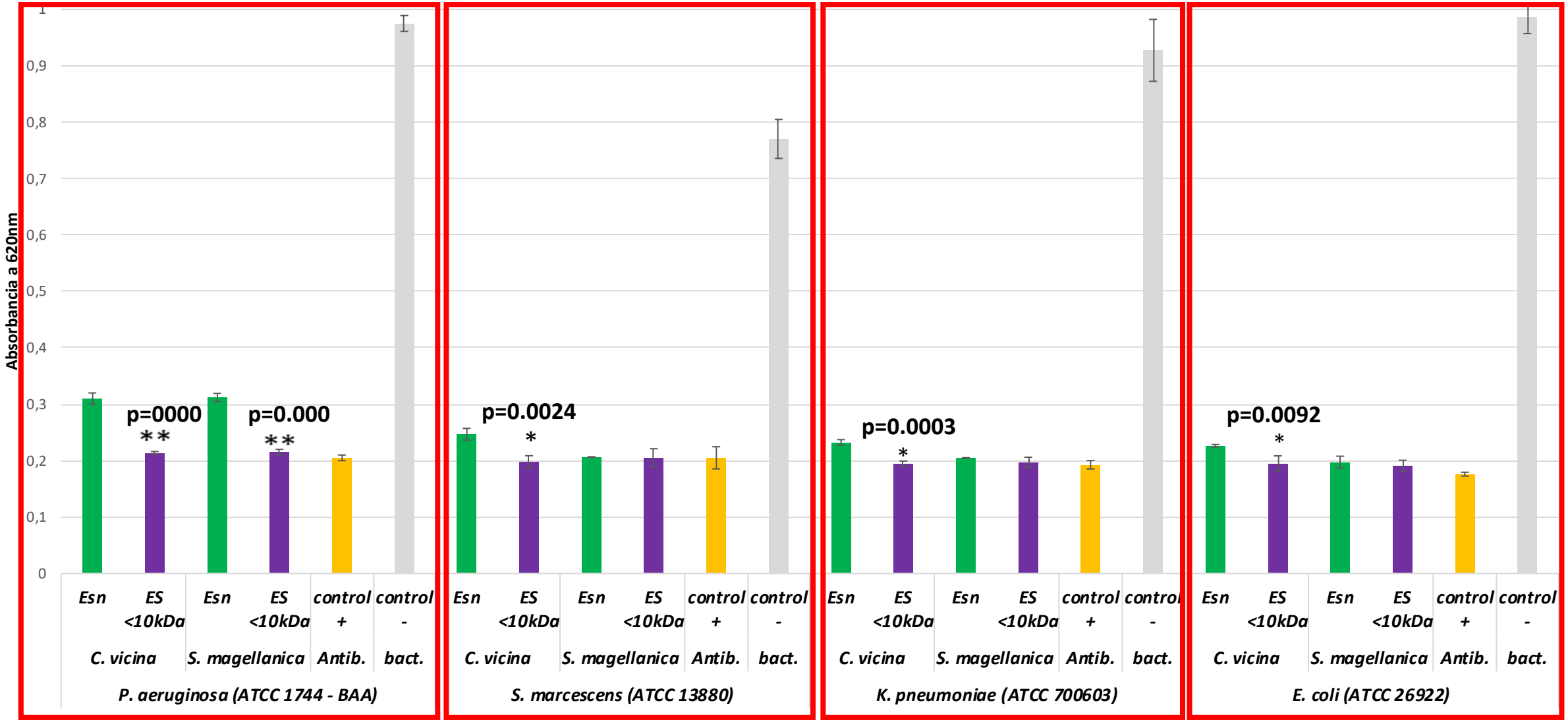
Bacterias Gram positivas



Díaz-Roa et al 2014
Bexfield et al . 2004

Mitchell et al 2010
Azarian 2018

Bacterias Gram negativas

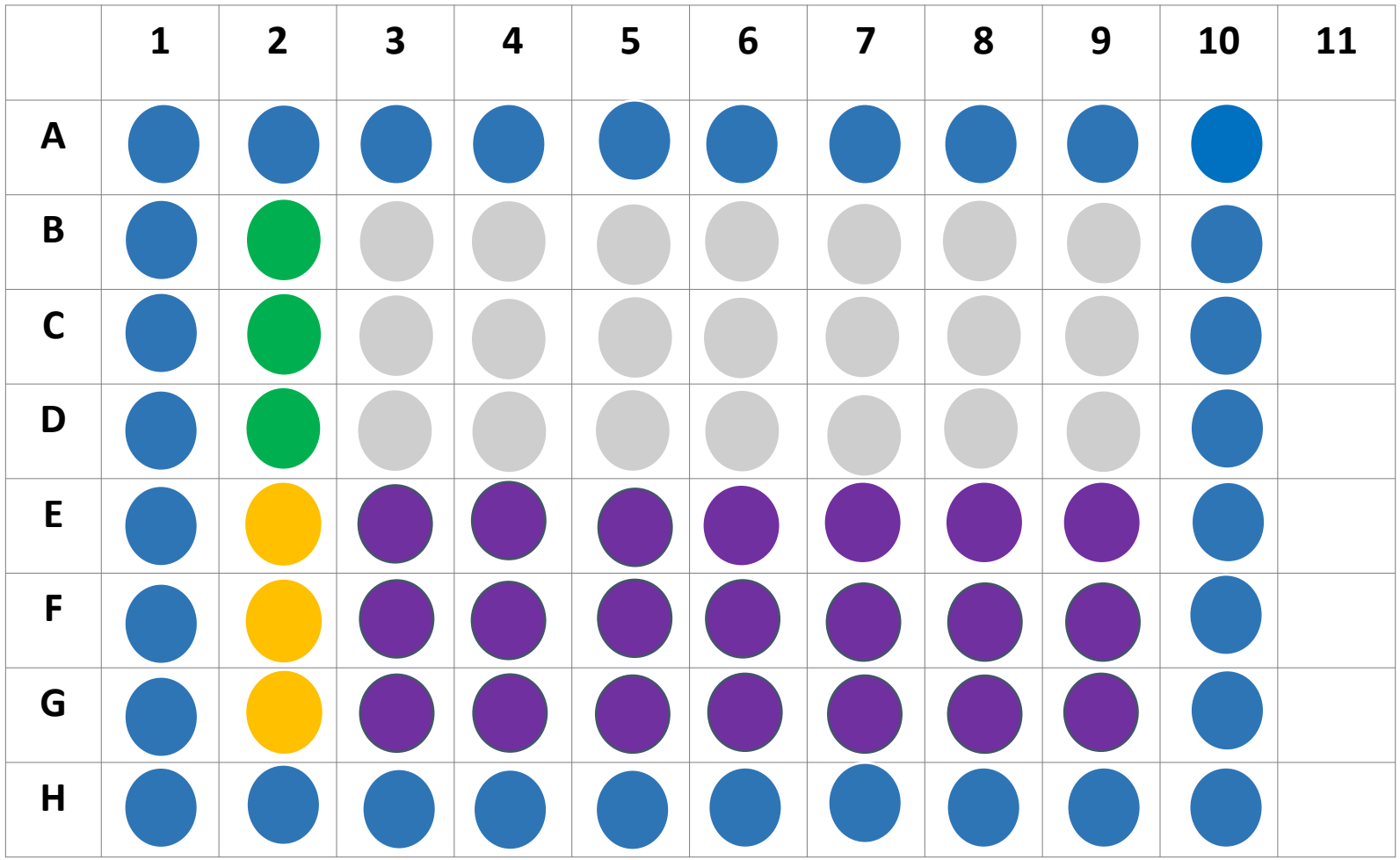


Barnes et al. 2010

Ratcliffe et al. 2015.

Hassan et al 2016.

Concentración mínima inhibitoria



Agua **100 µL**

Medio LB 100 µL

Medio + bacteria 100 µL (-)

Concentraciones del antibiótico 50 µL (+)

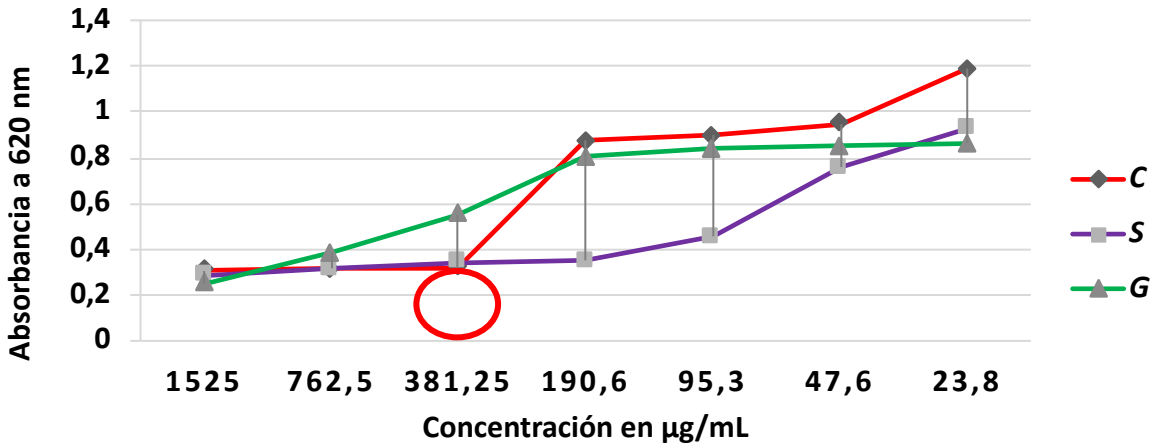
Concentraciones de ES <10kDa 50 µL

Incubación

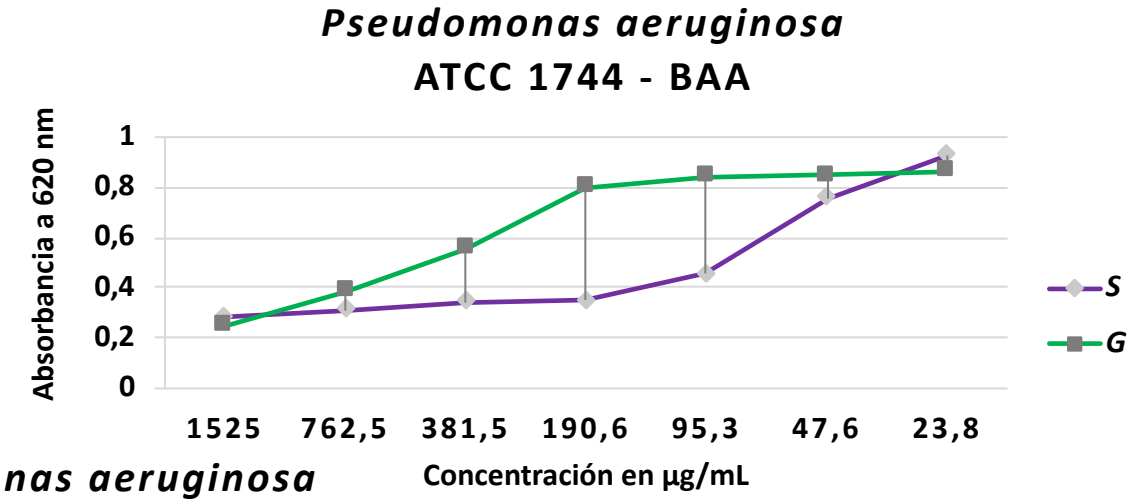
18 horas
37°C

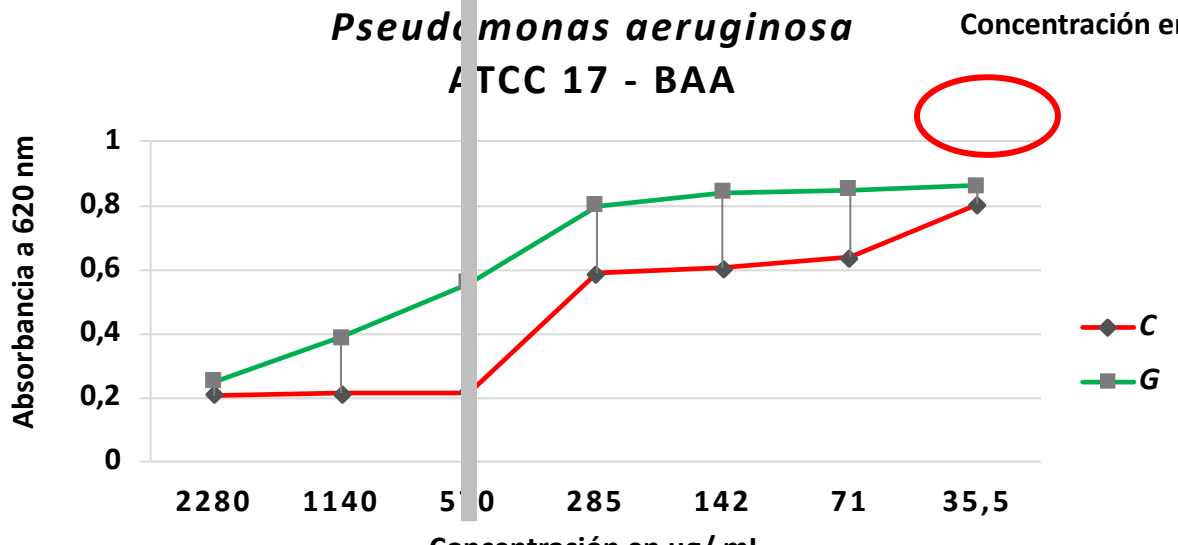
Bacterias Gram negativas

MODELO EXPERIMENTAL

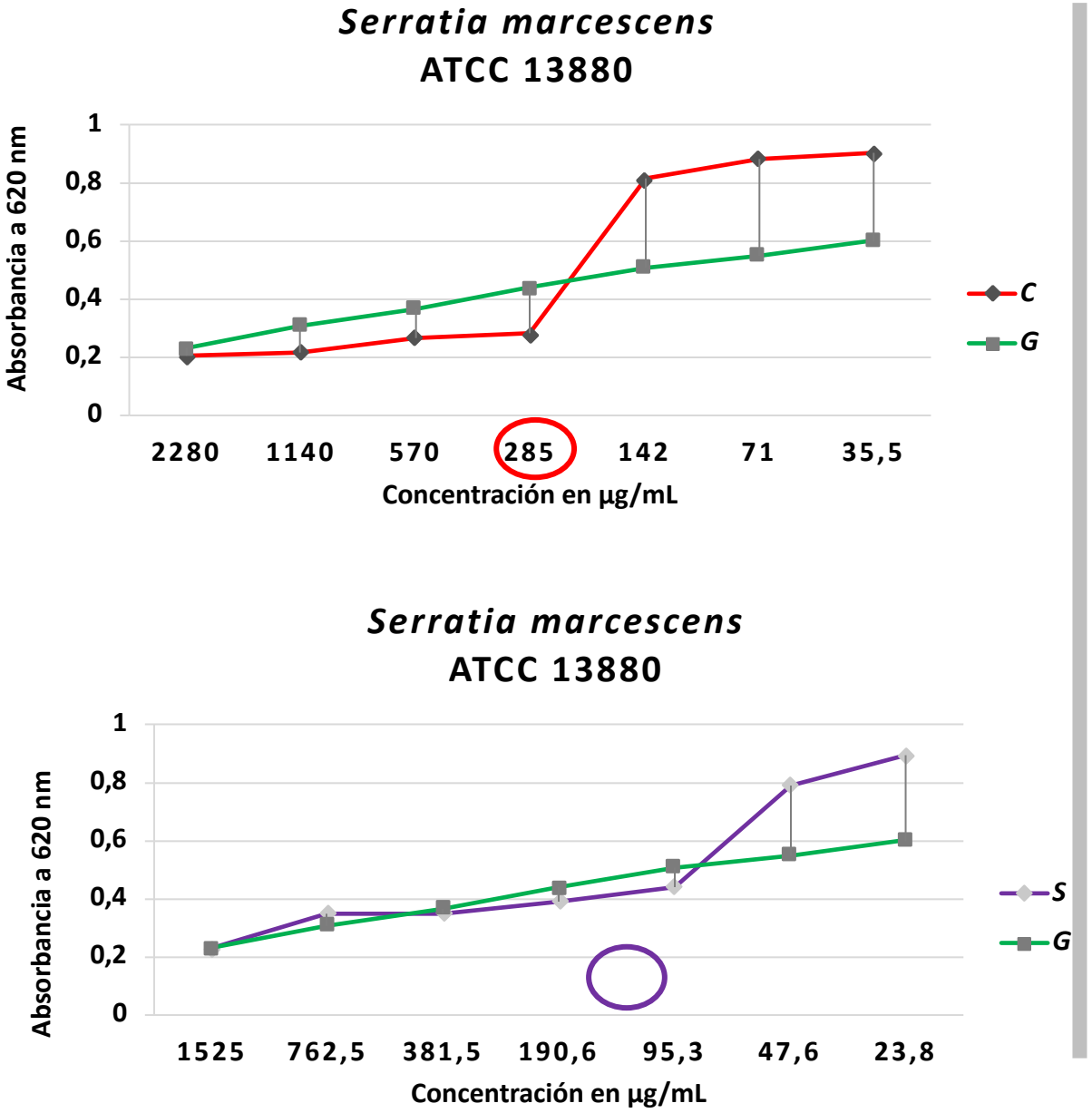


MODELO MATEMÁTICO

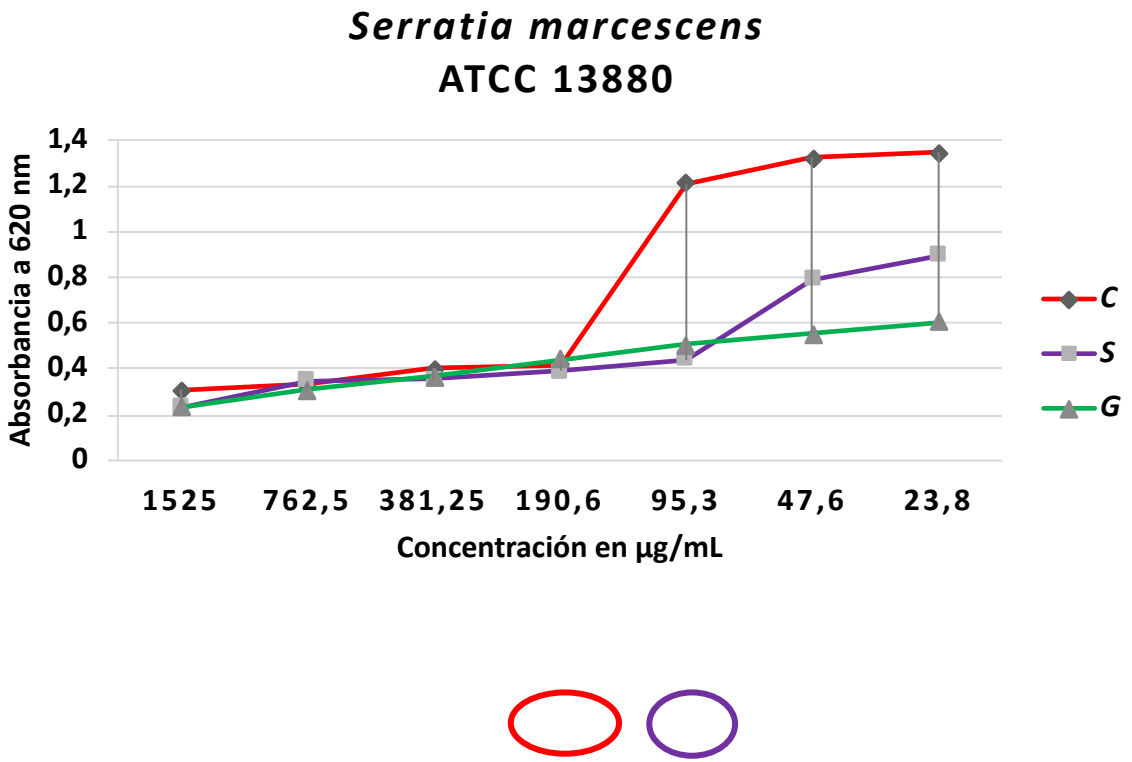




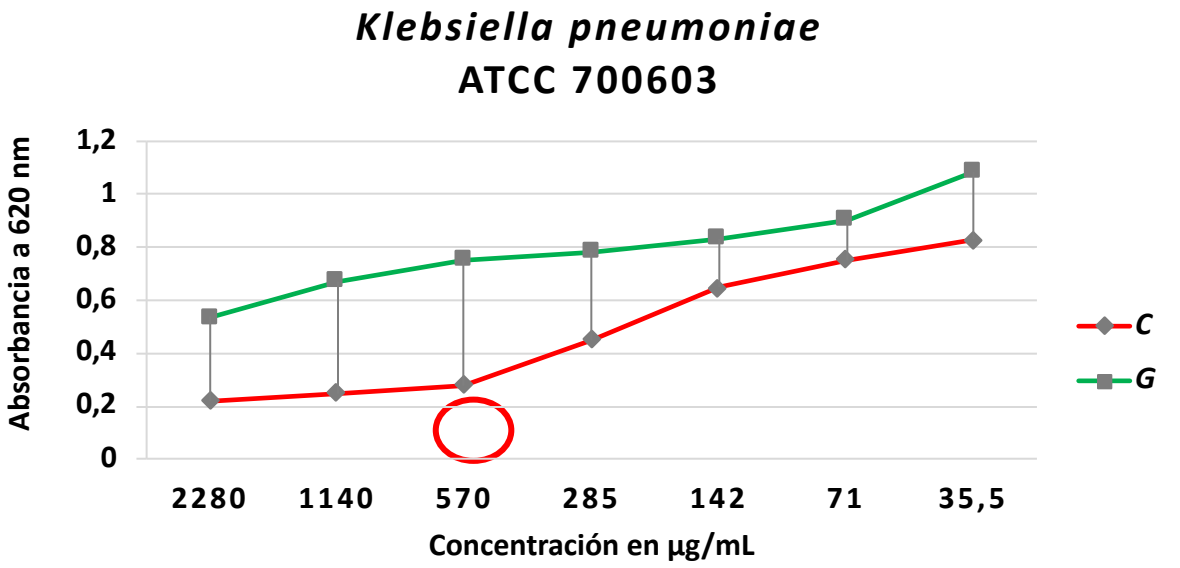
MODELO EXPERIMENTAL

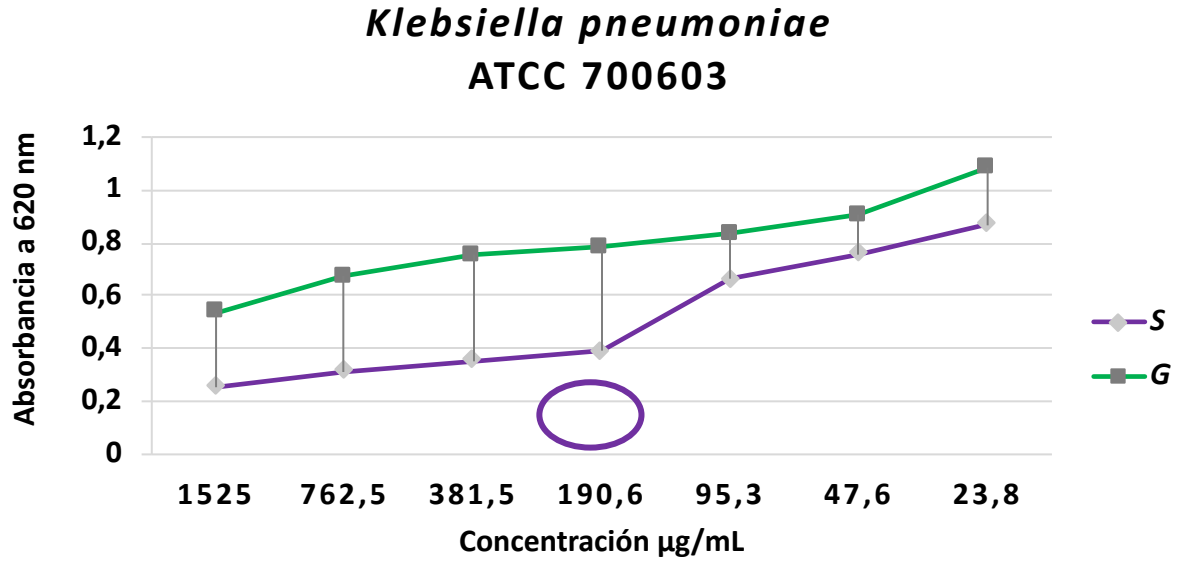


MODELO MATEMÁTICO

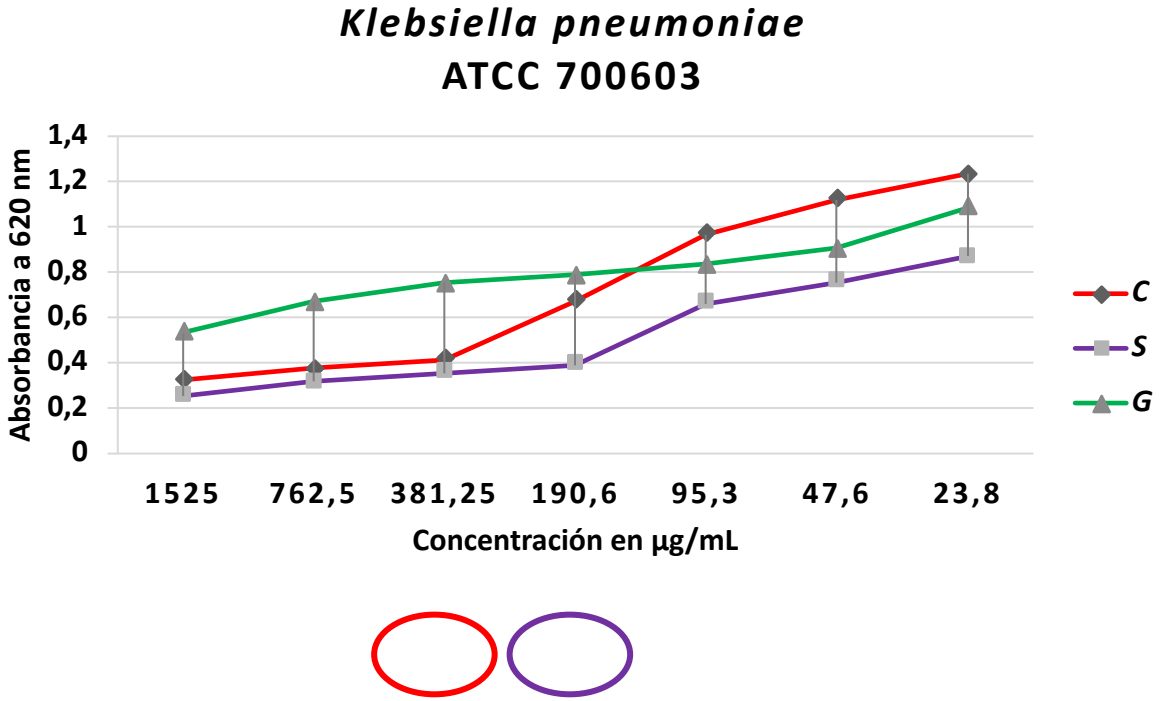


MODELO EXPERIMENTAL

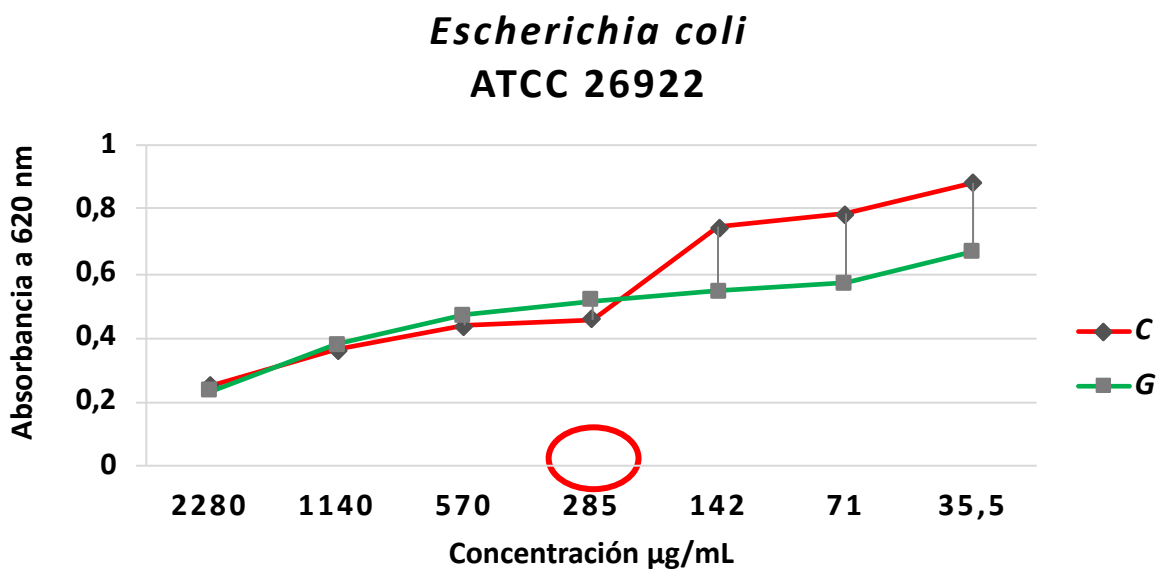


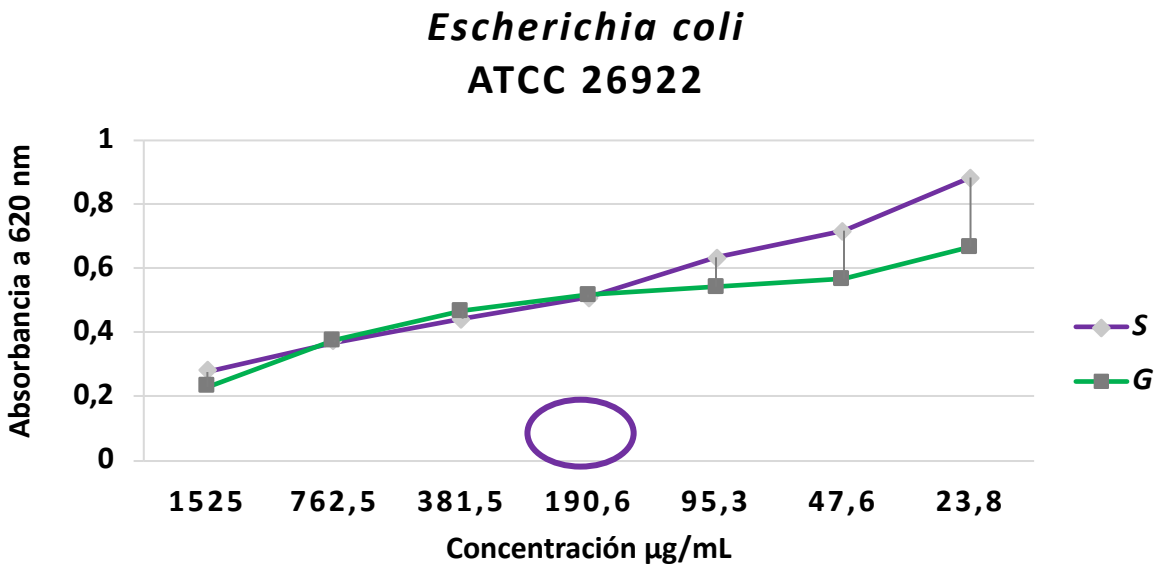


MODELO MATEMÁTICO

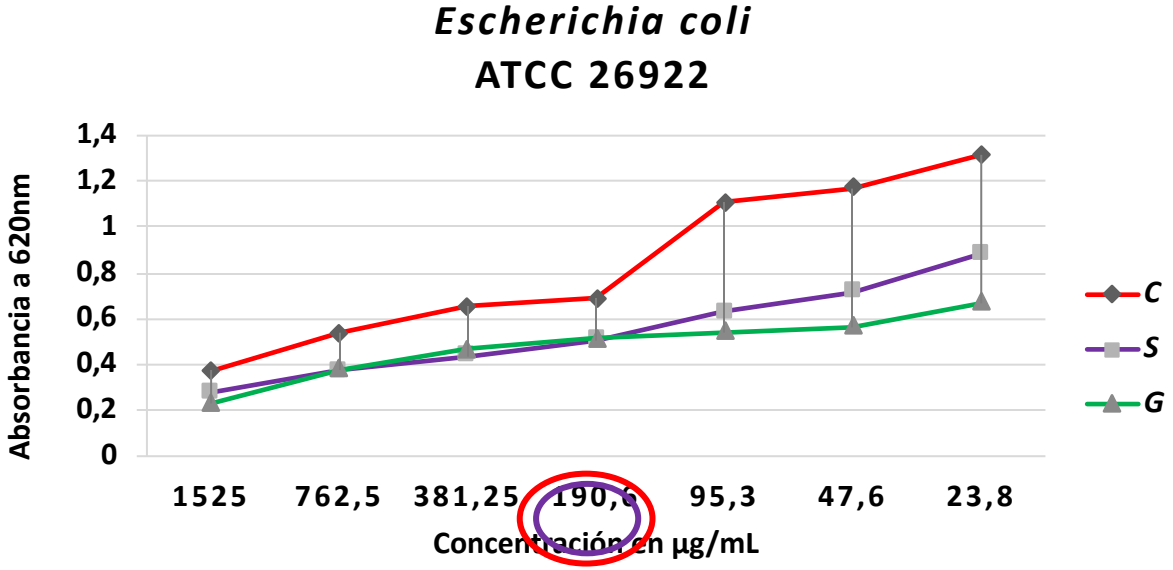


MODELO EXPERIMENTAL





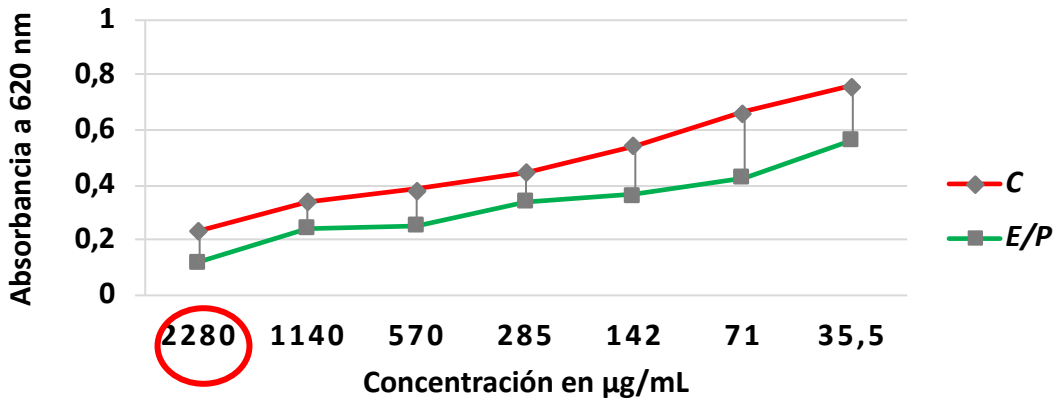
MODELO MATEMÁTICO



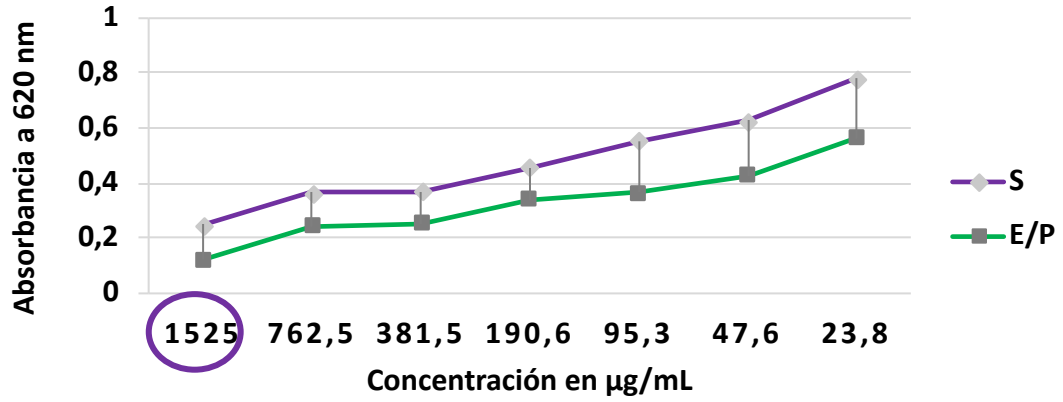
Bacterias Gram positivas

MODELO EXPERIMENTAL

Staphylococcus aureus
ATCC 6538

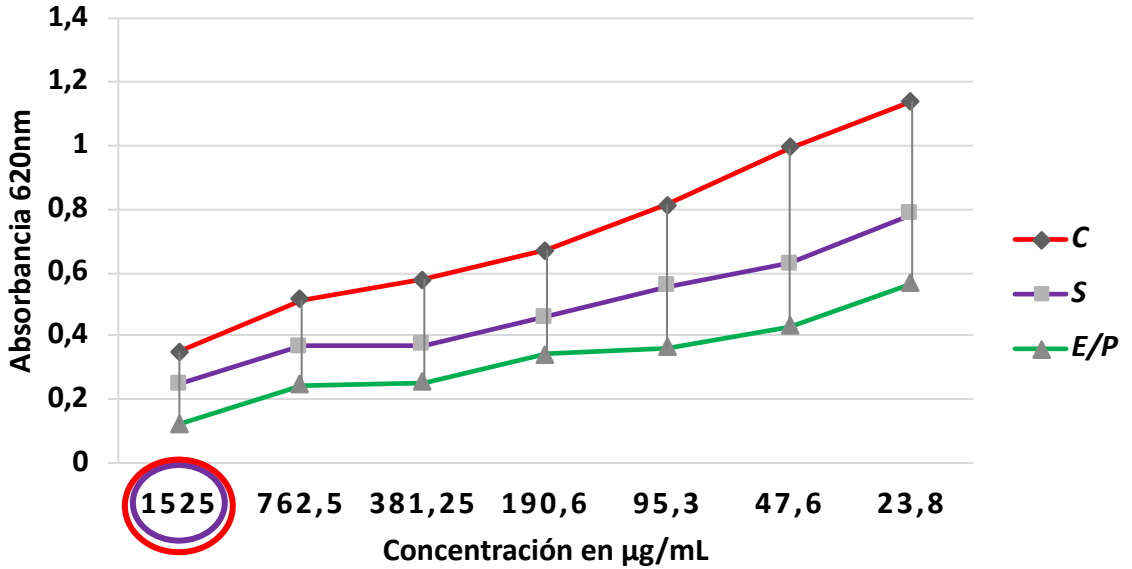


Staphylococcus aureus
ATCC 6538

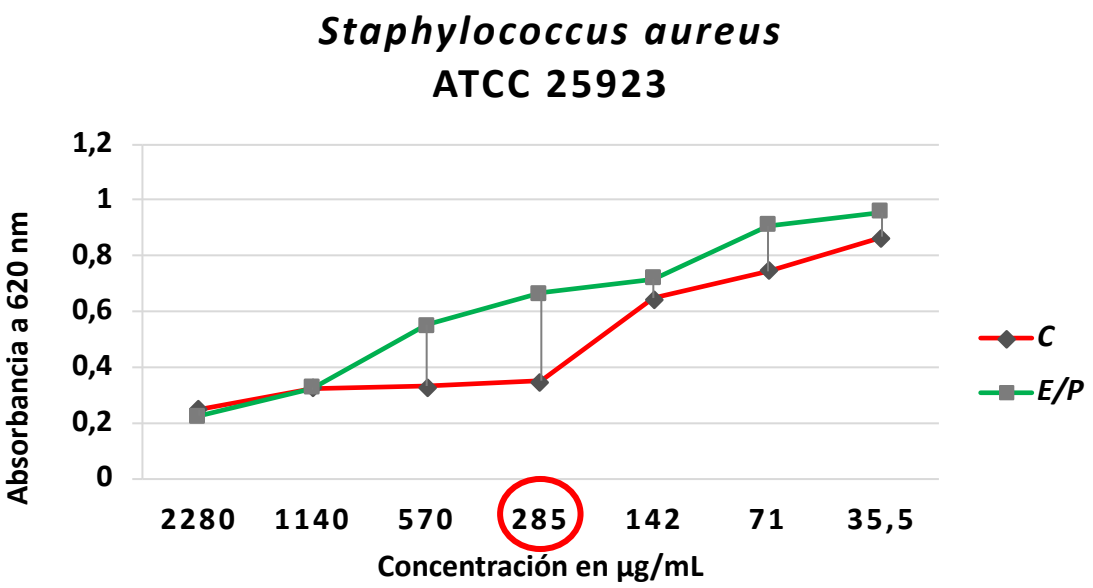


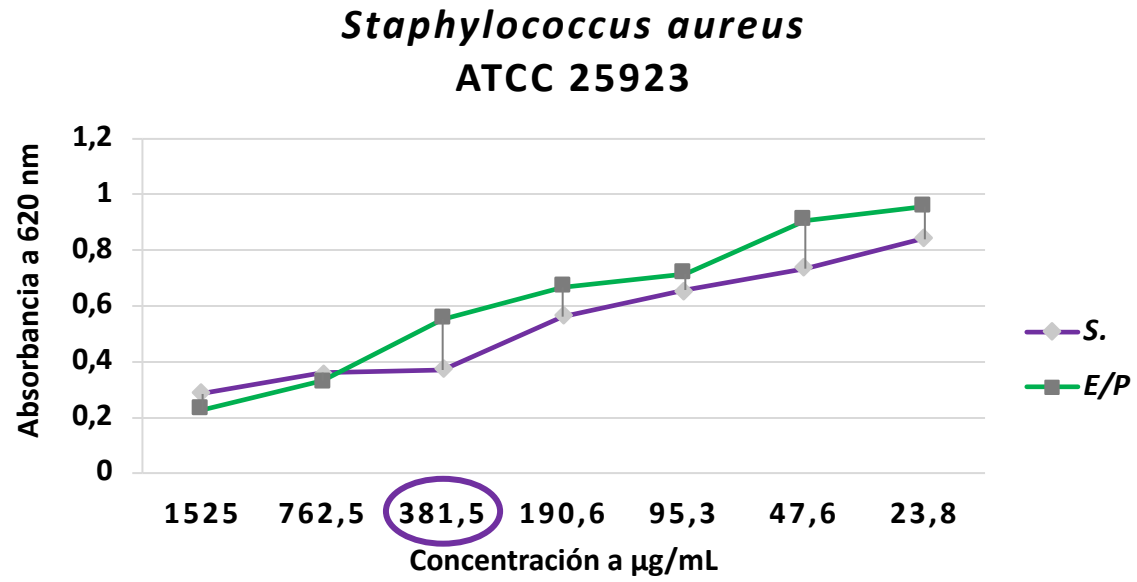
MODELO MATEMÁTICO

Staphylococcus aureus
ATCC 6538

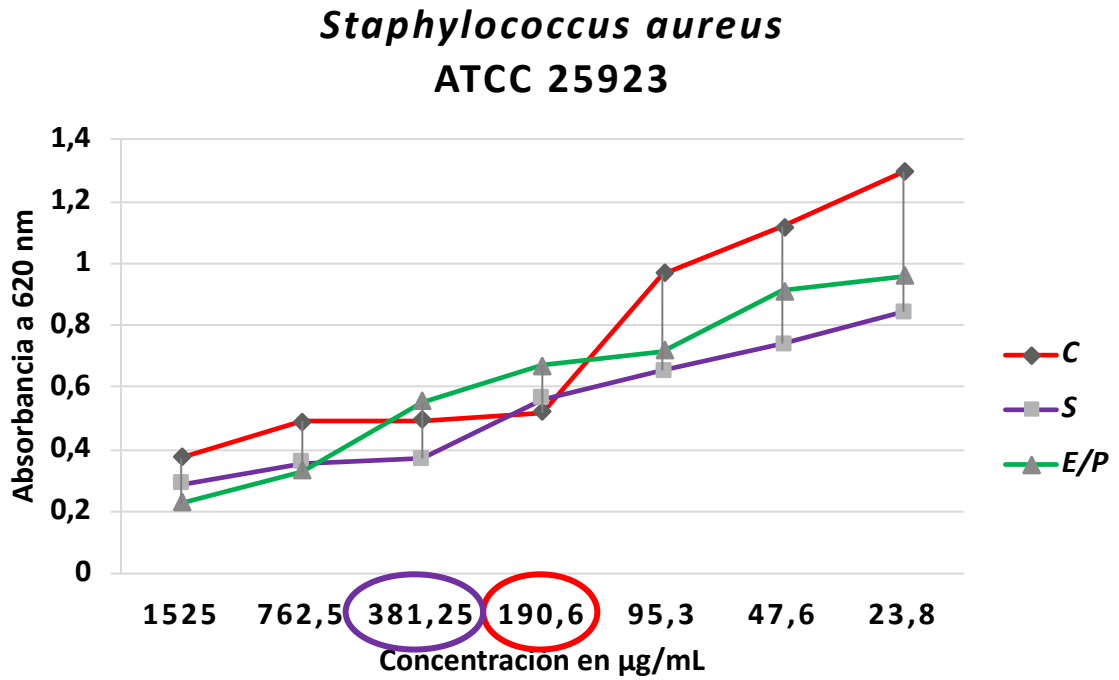


MODELO EXPERIMENTAL

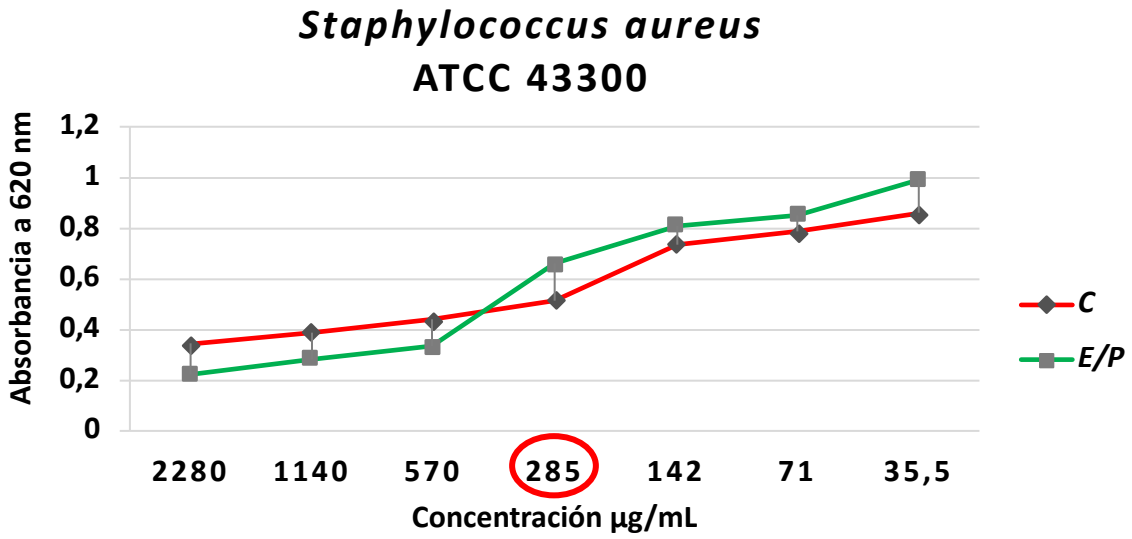


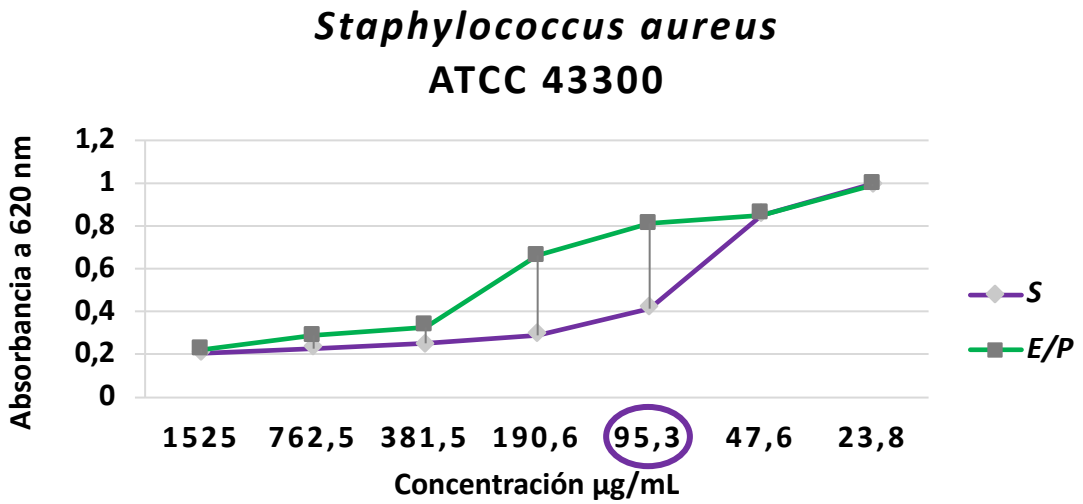


MODELO MATEMÁTICO

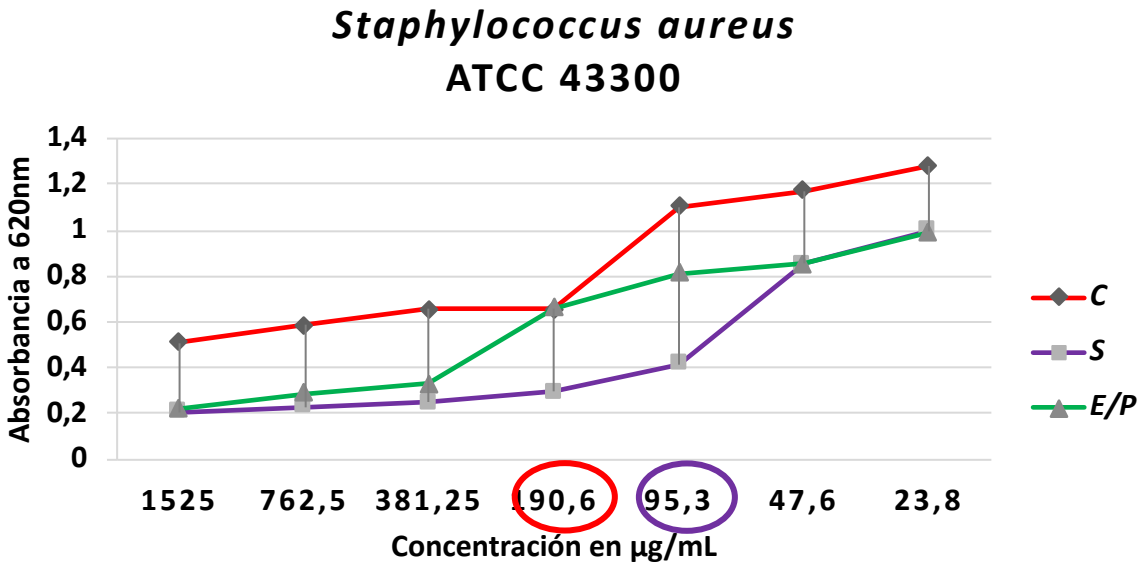


MODELO EXPERIMENTAL





MODELO MATEMÁTICO



- *S. magellanica*
- *C. vicina*
- Las dos especies de mosca

CMI

	Modelo experimental		Modelo matemático	
Bacteria	***C. vicina***	***S. magellanica***	***C.vicina***	***S. magellanica***
P. aeruginosa	570 µg/mL	95.3 µg/mL	381.25 µg/mL	95.3 µg/mL
S. marcescens	285 µg/mL	95.3 µg/mL	190.6 µg/mL	95.3 µg/mL
K. pneumoniae	570 µg/mL	190.6 µg/mL	381.25 µg/mL	190.6 µg/mL
E. coli	285 µg/mL	190.6 µg/mL	190.6 µg/mL	190.6 µg/mL
***S. aureus* ATCC 6538**	2280 µg/mL	1525 µg/mL	1525 µg/mL	1525 µg/mL
***S. aureus* ATCC 25923**	285 µg/mL	381.5µg/mL	190.6 µg/mL	381.25 µg/mL
***S. Aureus* ATCC 43300**	285 µg/mL	95.3µg/mL	190.6 µg/mL	95.3 µg/mL

Van der plas et al. 2010
Cazander et al 2010
Arora et al 2011

CONCLUSIONES

Las ES>10kDa de *C. vicina* y *S. magellanica* no tuvieron potencial antimicrobiano en el ensayo preliminar contra *E. coli*, ni *S. aureus*, mientras que las ESn y las ES<10kDa inhibieron significativamente el crecimiento de todas las bacterias evaluadas, excepto en S. pneumoniae.

La fracción <10 kDa fue diferencialmente más efectiva que las ESn; sin embargo, al comparar esta fracción entre las dos especies de moscas estudiadas se observó que no hubo diferencias significativas.

En cuanto a la CMI, las ES <10 kDa no presentaron actividad bactericida en ninguna de las diluciones; no obstante, las ES de *S. magellanica* fueron mucho más efectivas para todas las bacterias evaluadas excepto para *S. aureus* 25923

Los hallazgos sugieren que las propiedades de las ES larvales, de estas especies de moscas necrófagas podrían ser potencialmente promisorias para el aislamiento y desarrollo de agentes anti-infecciosos los cuales podrían tener aplicación terapéutica tópica en heridas de difícil cicatrización y, también, podrían constituirse hacia el futuro próximo en fármacos, entre otros usos, para el tratamiento de enfermedades infecciosas de origen respiratorio causadas por K. *pneumoniae*.

AGRADECIMIENTOS

- Felio Bello García MSc., PhD
- Ingrid Pinillos Medina D. M. V
- Orlando Alfredo Torres García PhD
- Cindy Yormary Perez MSc
- Yuly Elien Bernal Rosas MSc

Gracias