

**ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE  
SECRECIONES Y EXCRECIONES LARVALES DE *Calliphora vicina* Y  
*Sarconesiopsis magellanica* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)  
COMPARATIVE ANALYSIS OF THE LARVAL EXCRETIONS AND  
SECRETIONS OF *Calliphora vicina* and *Sarconesiopsis magellanica*  
(DIPTERA: CALLIPHORIDAE)**

Francy Novoa Palomares<sup>1</sup>, Laura Daniela Salas Díaz<sup>1</sup>, Cindy Yormary Pérez  
Tellez<sup>2</sup>, Ingrid Pinillos Medina<sup>1</sup>, Orlando Alfredo Torres García<sup>2</sup>, Felio J.  
Bello<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Colegio Mayor de  
Cundinamarca. Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup> Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Antonio Nariño. Bogotá,  
Colombia.

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de la Salle. Bogotá,  
Colombia.

### **Resumen**

El uso masivo y desregulado de los antibióticos ha contribuido al desarrollo de mecanismos de resistencia bacteriana, lo cual representa una grave amenaza mundial de creciente preocupación en salud pública, por esta razón, la búsqueda de nuevas alternativas constituye una prioridad y un reto para la comunidad científica. Las propiedades antimicrobianas de las excreciones y secreciones (ES) larvales derivadas de moscas necrófagas de la familia Calliphoridae podrían ser una fuente promisoría para estos propósitos. El objetivo del presente estudio fue comparar la actividad antimicrobiana de las ES nativas, ES>10 kDa y las ES<10 kDa, derivadas de *Calliphora vicina* y *Sarconesiopsis magellanica*, para esto, se realizó un ensayo de turbidimetría en placa de 96 pozos y se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de las ES<10 kDa. Los resultados mostraron que las ESn y las ES<10 kDa tanto de *C. vicina* como de *S.*

*magellanica* evidenciaron potente actividad antibacterial contra 3 cepas de *Staphylococcus aureus* y 4 bacterias Gram negativas, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Serratia marcescens*, siendo las ES <10kDa más efectivas que las ES<sub>n</sub> en las dos especies de moscas evaluadas. Además, las ES < 10kDa presentaron la misma efectividad, excepto cuando se evaluaron en el ensayo de CMI, en donde se observó que las ES < 10kDa de *S. magellanica* fueron más potentes en todas las bacterias evaluadas excepto en la cepa de *S. aureus* ATCC 25923. Estos resultados representan, potencialmente, una fuente importante para el aislamiento y caracterización de agentes anti-infecciosos y también, podrían constituirse hacia el futuro próximo en fármacos.

**Palabras clave.** *Calliphora vicina*, *Sarconesiopsis magellanica*, excreciones y secreciones larvales, actividad antibacterial.

## **Abstract**

The massive and deregulated use of antibiotics has contributed to the development of mechanisms of bacterial resistance, which represents a serious global threat of growing public health concern, for this reason, the search for new alternatives is a priority and a challenge for the community. scientific. The antimicrobial properties of larval excretions and secretions (ES) derived from ghoulish flies of the Calliphoridae family potentially form a promising source for these purposes. The objective of the present study was to compare the antimicrobial activity of native ES, ES > 10 kDa and ES <10 kDa, derived from *Calliphora vicina* and *Sarconesiopsis magellanica*, for this, a 96-well plate turbidimetry test was performed and determined the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the ES <10 kDa. The results showed that ES<sub>n</sub> and ES <10 kDa of both *C. vicina* and *S. magellanica* showed potent antibacterial activity against 3 *Staphylococcus aureus* strains and 4 Gram negative bacteria, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella Pneumoniae* and *Serratia marcescens*, the ES <10kDa being more effective than the ES<sub>n</sub> in the two species of flies evaluated. Furthermore, ES <10kDa had the same effectiveness, except when evaluated in the CMI trial, where it was observed that ES <10kDa from *S. magellanica* were more potent in all bacteria evaluated except for *S. aureus* ATCC 25923. These results represent, potentially, an important source for the isolation and characterization of anti-infective agents and could also constitute drugs in the near future.

**Keywords.** *Calliphora vicina*, *Sarconesiopsis magellanica*, larval Excretions and Secretions and antibacterial activity.

## INTRODUCCIÓN

La familia Calliphoridae está constituida por moscas caliptradas y en todo el mundo hay alrededor de 1.000 especies, de las cuales solo 126 se encuentran en el Neotrópico (Pape, Wolff, & Amat, 2004). *C. vicina* es una mosca sinantrópica (López-Cepeda & Fagua, 2015), que hace parte de esta familia, la cual se ha reportado en países como Argentina, Uruguay, Brasil, Chile, Cuba, Panamá y Colombia (Aak, Birkemoe, & Leinaas, 2011; Amat, Vélez, & Wolff, 2008; Kosmann, Mello, Harterreiten-Souza, & Pujol-Luz, 2013); en este último, se ha registrado en los departamentos de Casanare, Tolima, Santander, Caldas, Valle del Cauca, Meta y Cundinamarca, específicamente en la Sabana de Bogotá, en zonas ubicadas a 2500 metros sobre el nivel del mar (m. s. n. m) (Camacho, 2005). *S. magellanica* es otra especie de esta misma familia, hemisinantrópica (López-Cepeda & Fagua, 2015), distribuida en países como Argentina, Bolivia, Chile, Ecuador, Perú y Colombia (Amat, 2009; Mariluis & Mulieri, 2003). En Colombia, se ha localizado en los departamentos de Antioquia, Boyacá, Cundinamarca y Norte de Santander a una altura entre 1200 a 3100 m. s. n. m (Góngora, Díaz-Roa, Gaona, Cortés-Vecino, & Bello, 2015).

*C. vicina* y *S. magellanica*, así como otras especies de esta familia son de gran importancia en medicina humana y veterinaria debido a que sus larvas causan miasis en humanos y animales (Francesconia & Lupi, 2012); además,

los adultos actúan como vectores mecánicos de algunas especies de bacterias (Fischer et al., 2004), protozoos y helmintos (Getachew, Gebre-Michael, Erko, Balkew, & Medhin, 2007). Por sus hábitos necrófagos, estas moscas han sido utilizadas en el área forense debido a que forman parte de las comunidades de insectos colonizadores de cadáveres, siendo útiles para determinar el Intervalo Post- Mortem (Sharma, Kumar Garg, & Gaur, 2015). Así mismo, las especies de la familia Calliphoridae han sido ampliamente estudiadas debido a los efectos benéficos de las larvas sobre las heridas de difícil cicatrización, como las úlceras diabéticas crónicas (Sherman, 2003) y las úlceras venosas (Wayman, Nirojogi, Walker, Sowinski, & Walker, 2000). Las larvas limpian las heridas infectadas y necróticas, facilitando la cicatrización de las mismas, metodología que es conocida como terapia larval o biocirugía (Sherman, 2009). El proceso de curación de heridas se genera a partir de tres acciones sinérgicas; desbridamiento (Sherman, 2014), desinfección (Choudhary, Choudhary, Pandey, Chauhan, & Hasnani, 2016; Nigam, Bexfield, Thomas, & Ratcliffe, 2006) y erradicación de biopelículas (Mariena J.A. Van der Plas et al., 2008) y estimulación del tejido de granulación para generar la cicatrización de las heridas (Horobin, Shakesheff, & Pritchard, 2006).

En relación con el efecto antimicrobiano, las larvas ingieren bacterias dentro del tejido necrótico eliminando de forma física los microorganismos presentes (Mumcuoglu, Miller, Mumcuoglu, Friger, & Tarshis, 2009) y, también,

liberando un amplio espectro de sustancias en sus ES, las cuales tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias Gram negativas y Gram positivas (Patarroyo, 2015). Estos hallazgos son potencialmente útiles en el campo médico, puesto que, las propiedades antibacterianas que tienen las ES larvales pueden ser una alternativa para el tratamiento y control de enfermedades infecciosas, en las que los antibióticos convencionales han fallado debido al uso masivo y desregulado de éstos, contribuyendo al desarrollo de mecanismos de resistencia bacteriana; por ejemplo, las betalactamasas, que son enzimas capaces de hidrolizar los antibióticos, lo cual representa una grave amenaza de creciente preocupación en salud pública (Morejón García, 2013).

Por otro lado, anualmente miles de personas en el Mundo mueren en los hospitales por infecciones causadas por bacterias multirresistentes y, se estima que para el año 2050 más de diez millones de personas fallecerán por esta causa, una cifra que excede al número de 8,2 millones de muertes anuales por cáncer, lo cual ocurre en la actualidad (Jansen, Knirsch, & Anderson, 2018). Así mismo, se infiere que si la tendencia de la resistencia antimicrobial continúa, la pérdida acumulada para las economías mundiales podría llegar a los \$100 billones para el año 2050 (Jansen et al., 2018). Por esta razón, la búsqueda de nuevas alternativas para contrarrestar la resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales ha sido en los últimos años un imperativo de los organismos internacionales, tales como la

OMS y la OPS, al igual que la comunidad científica especializada en esta temática (Ramon-Pardo, Sati, & Galas, 2018).

Algunos estudios han demostrado la efectividad antibacterial de las ES larvales de diferentes especies de moscas de la familia Calliphoridae, tales como *Lucilia Sericata* (Bexfield, Nigam, Thomas, & Ratcliffe, 2004; Hassan, Amer, Hammad, & Zidan, 2016), *Sarconesiopsis magellanica* (Díaz-Roa et al., 2014), *Calliphora vicina* (Barnes, Gennard, & Dixon, 2010), *Chrysomya putoria* (Ratcliffe et al., 2015) y *Chrysomya megacephala* (Ratcliffe et al., 2015) principalmente contra las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, las cuales representan un serio problema debido a que son patógenos oportunistas asociados frecuentemente a infecciones intrahospitalarias e infecciones asociadas con heridas de difícil cicatrización (Pastar et al., 2013; Tzaneva, Mladenova, Todorova, & Petkov, 2016)

El objetivo principal de este trabajo fue comparar la actividad antimicrobiana de las ES<sub>n</sub>, de las ES<10 kDa y de las ES> 10 kDa derivadas de larvas de *Calliphora vicina* y *Sarconesiopsis magellanica* contra 4 bacterias Gram negativas y 4 bacterias Gram positivas.

### **Materiales y métodos**

#### **Colonización y mantenimiento de las colonias de *C. vicina* y *S. magellanica***

La colecta de especímenes adultos de ambas especies se realizó en la ciudad de Bogotá D.C, Colombia, en el Parque Nacional Enrique Olaya Herrera, localizado en las coordenadas 4°37'28.2"N 74°03'56.3"W. Para el desarrollo del presente trabajo se contó con los permisos de colecta mediante la resolución 0922 del 15 de mayo de 2017, expedida por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.

Los adultos de *C. vicina* y *S. magellanica* se introdujeron en jaulas entomológicas Gerber de 45cmX45cmX45cm, bajo condiciones controladas de laboratorio, a una temperatura de 25°C ± 1°C, humedad relativa de 60% ± 5% y fotoperiodo de 12:12; su alimentación consistió en hígado como fuente proteica y agua azucarada como fuente de carbohidratos y suplementada con complejo B.

Los huevos ovipositados se transfirieron a frascos de vidrio que contenían 10 g de hígado y estaban identificados con el nombre de cada especie. Después de la eclosión se agregó más hígado para permitir el desarrollo larvario y en un tiempo aproximado de 4 días se tomaron las larvas de tercer estadio, de las cuales un grupo fue utilizado para la obtención de ES larvales y otro seleccionado para darle continuidad a la colonia.

### **Obtención de excreciones y secreciones larvales**

Se utilizaron en los ensayos 3000 larvas de tercer estadio de *C.vicina* y *S. magellanica* respectivamente, las cuales fueron preinmunizadas con el fin de activar el sistema inmunológico y aumentar la expresión de los componentes

con actividad antibacteriana (Jiang et al., 2012). Para este proceso se requirió de una mezcla en suspensión de bacterias Gram positivas y Gram negativas, tales como *S. aureus* ATCC 6538 y *E. coli* ATCC 26922 respectivamente, a una concentración de 0.5 en la escala de Mcfarland, durante 1 hora a 37 °C.

A continuación, se procedió a la desinfección de las larvas con 0,5% de hipoclorito durante 5 min, seguido de un lavado con 5% de formaldehído por 5 min y finalmente 3 inmersiones durante 3 min con solución salina estéril. Posteriormente, se adicionaron 100 µL de solución salina estéril a las larvas y se incubaron a 25 °C durante 1 hora, para inducir las ES; después se extrajeron éstas y se llevaron a tubos de 2 mL, las cuales se centrifugaron a 13.000 g, a temperatura de 4 °C, durante 10 min. Para eliminar posibles contaminantes, el sobrenadante fue filtrado a través de una membrana de 0,22 µm (Ultra Cruz™).

### **Filtración**

Del proceso anterior, se tomaron 10 mL de ESn de *C vicina* y *S. magellanica* respectivamente, las cuales fueron filtradas usando una membrana Amicon® Ultra 15, de peso molecular de 10 kDa. Las ES se centrifugaron a 4200 g, a temperatura de 4°C, durante 10 min, permitiendo obtener fracciones >10 kDa. y <10 kDa.

### **Cuantificación de proteínas**

Este procedimiento se utilizó para cuantificar la cantidad de proteína contenida en las ES larvales de *S. magellanica* y *C. vicina*. El método



utilizado fue de espectrofotometría Ultravioleta – visible (UV/VIS) a 280nm, en NanoDrop 2000c Thermo Scientific™ usando 2 µL de ESn, 2µL de ES <10kDa y 2 µL de ES >10 kDa, volúmenes que fueron previamente obtenidos en el proceso de filtración.

## **Actividad antimicrobiana**

### **Bacterias.**

Las cepas seleccionadas para evaluar la actividad antimicrobiana fueron: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (cepa resistente a la meticilina o MRSA), *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6303, *Escherichia coli* ATCC 26922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1744 BAA, *Serratia marcescens* ATCC 13880 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

### **Ensayo de inhibición de crecimiento en medio líquido**

En este ensayo se evaluó el potencial antimicrobiano de las ESn, de las ES <10 kDa y de las ES>10 kDa tanto de *C. vicina*, como de *S. magellanica*. Para iniciar este procedimiento, se realizó un repique por agotamiento de las bacterias seleccionadas en Agar Nutritivo, el cual fue incubado durante 24 horas a 37 °C, después, se tomaron de 3 a 4 colonias y se suspendieron en medio Luria-Bertani (LB), que fue incubado en las mismas condiciones que el método anterior. Posteriormente, se hizo la lectura de la densidad óptica (DO) a 620 nm la cual fue igual a 0.1 que es comparable con la escala 0.5 de McFarland.

Para el montaje de la microplaca, se agregó 100 µl de medio LB como control de la placa; 100 µl de medio con bacteria como control negativo; para el control positivo se utilizaron dos antibióticos, Gentamicina (10 µg/mL) (Sacsquispe Contreras & Velásquez Pomar, 2002) para bacterias Gram negativas y Estreptomicina/penicilina (10 µg – 10UI) (Sacsquispe Contreras & Velásquez Pomar, 2002) para bacterias Gram positivas, se adicionaron 50 µL de cada antibiótico en 50 µL de medio con la bacteria seleccionada, para un total de 100 µL en cada pozo; para las ES<sub>n</sub>, las ES <10 kDa y las ES>10 kDa, se agregaron 50 µL de cada una a 50 µL de medio con bacteria. Los ensayos se realizaron por triplicado el tiempo de incubación fue de 18 h a 37 °C. El porcentaje de crecimiento se determinó empleando la siguiente formula:

$$\% \text{ de crecimiento} = \frac{\text{Abs blanco} - \text{Abs muestra}}{\text{Abs blanco} - \text{Absorbancia del medio con bacteria}} \times 100$$

### **Ensayo de Concentración Mínima Inhibitoria en medio líquido.**

Para el modelo experimental, se realizaron diluciones seriadas 1:2 a partir de la concentración de proteína obtenida de las ES >10kDa provenientes de larvas de tercer estadio. Para *S. magellanica* las concentraciones utilizadas en las diluciones respectivas fueron: 1,525 µg/mL, 762,5µg/mL, 381,25 µg/mL , 190,6 µg/mL, 95,3µg/ml 47,6 µg/ml y 23,8µg/mL, en tanto que para la mosca *C. vicina* estas concentraciones, en el orden correspondiente,

estuvieron en los valores de 2,280 µg/mL, 1,140µg/ml), 570 µg/mL 285 µg/mL, 142 µg/mL 71 µg/mL y 35,5 µg/ml.

Los antibióticos seleccionados para las bacterias Gram positivas y Gram negativas también se diluyeron en las proporciones seriadas de 1:2. Finalmente, se adicionaron 50 µL de cada dilución a 50 µL de medio con la bacteria seleccionada, para un total de 100 µL en cada pozo. Los controles positivo y negativo, el tiempo y la temperatura de incubación, correspondieron a los descritos en el proceso anterior. Los ensayos fueron realizados por triplicado.

Para el modelo matemático se realizó una regresión lineal simple, para igualar las concentraciones de las dos especies de moscas estudiadas

### **Análisis estadísticos**

A partir de los resultados obtenidos, se construyó una base de datos sobre la cual se hizo el análisis estadístico descriptivo correspondiente y con el software STATA 12 se realizó una prueba ANOVA de una vía para determinar diferencias entre las ES<sub>n</sub>, las ES <10kDa y las ES > 10kDa tanto de *C.vicina*

y como de *S. magellanica*, seguido del test de Bonferroni para establecer cuál de las variables estudiadas aportaba dicha diferencia; así mismo, con la prueba T-Student se evaluó si se presentaban o no diferencias significativas entre la actividad antimicrobiana de las ES<sub>n</sub> y las ES <10 kDa de cada una de las especies de moscas estudiadas. Los datos fueron analizados con un

índice de confianza del 95%, donde el valor de  $p < 0.05$  indicó diferencias significativas.

## **RESULTADOS**

### **Colonización y mantenimiento de la colonia**

Los especímenes adultos de *C. vicina* y *S. magellanica* se mantuvieron bajo condiciones controladas de laboratorio, en donde se observó adaptabilidad de las dos especies a las condiciones físicas, ambientales y nutricionales establecidas. Las larvas de tercer estadio de la especie *C. vicina* se obtuvieron a los 5 días aproximadamente después de la oviposición, al igual que para *S. magellanica*. Hubo continuidad del ciclo de vida de las moscas a través de varias generaciones, lo cual permitió el suministro de material biológicos en los ensayos correspondientes.

### **Obtención y filtración de excreciones y secreciones larvales**

Para *C. vicina* y *S. magellanica* se obtuvieron 15 mL de ES<sub>n</sub> a partir de 3000 larvas, las cuales tuvieron un peso aproximado de 134,4 g.

A partir de 10 mL de las ES<sub>n</sub> de *C. vicina* y *S. magellanica*, se obtuvieron 6 mL de las ES<sub><10kDa</sub> y 4mL de las ES<sub>10>kDa</sub> para cada una de las especies evaluadas.

### **Cuantificación de proteínas**

Las ES nativas y las ES < 10 kDa de *C. vicina* registraron una concentración de proteínas de 6,764 µg /mL y 4,561µg /mL respectivamente, mientras que la concentración de las ES de *S. magellanica* fue menor en comparación con la anterior, teniendo en cuenta que para las ES nativas fue de 4, 674 µg /mL y para las ES < 10 kDa correspondió a 4,050 µg /mL.

### **Actividad antimicrobiana**

#### **Ensayo de inhibición de crecimiento en medio líquido**

Al evaluar la actividad antimicrobiana de las ES<sub>n</sub>, las ES < 10 kDa y las ES >10 kDa de *C. vicina* contra *S. aureus* MRSA y *E. coli*, se evidenció que las ES<sub>n</sub> y las ES < 10 kDa registraron potente actividad antimicrobiana ( $p=0,000$ ), mientras que las ES >10 kDa no inhibieron el crecimiento de estas bacterias (Fig. 1), razón por lo cual esta última fracción no se utilizó en los siguientes ensayos; además, se encontró que las ES <10kDa fueron diferencialmente más efectivas que las ES<sub>n</sub> en relación con los resultados obtenidos con la bacteria *E. coli* ( $p=0.040$ ), sin embargo, en el caso de *S. aureus* no hubo diferencias entre ellas ( $p=0.217$ ). En la especie *S. magellanica*, los hallazgos fueron similares, pero al contrario de *C. vicina*, se determinó que las ES <10kDa mostraban diferencias significativas frente a la bacteria *S. aureus* MRSA ( $p=0.006$ ), en tanto que para *C. vicina* no hubo diferencias entre las ES<sub>n</sub> y las ES <10kDa ( $p=1.000$ ) (Fig. 1)

Las ES<sub>n</sub> y las ES < 10 kDa de *C. vicina* fueron eficaces contra las bacterias Gram negativas (Fig. 2A) y las bacterias Gram positivas evaluadas, excepto

para *S. pneumoniae* ATCC 6303 (Figura 2B), siendo las ES <10kDa las que mostraron una mayor actividad antibacterial respecto a las ESn ( $p < 0.0226$ ). En la especie *S. magellanica*, las ESn y las ES < 10 kDa no tuvieron la capacidad de inhibir el crecimiento de *S. pneumoniae*; sin embargo, si registraron actividad contra las demás bacterias evaluadas (Fig. 2A y 2B), en donde la fracción <10kDa fue más efectiva que las ESn solo en las 3 cepas de *S. aureus* ( $p < 0.0377$ ) y la correspondiente a *P. aeruginosa* ( $p=0.0000$ ). Al comparar la actividad de las ES <10kDa entre *C. vicina* y *S. magellanica* no se registraron diferencias significativas en ninguna de las bacterias evaluadas ( $p > 0.2897$ ) (Fig 2A y 2B).

#### **Ensayo de Concentración Mínima Inhibitoria en medio líquido.**

En el presente estudio, se observó que las concentraciones evaluadas de las ES <10kDa no inhibieron completamente el crecimiento microbiano de ninguna de las bacterias evaluadas; no obstante, los antibióticos utilizados como control positivo tampoco inhibieron el 100% del crecimiento microbiano en el modelo experimental ni en el modelo matemático.

Al comparar la actividad antimicrobiana de las ES <10kDa de *S. magellanica* y *C. vicina* se observó que el potencial antimicrobiano de *S. magellanica* fue más efectivo respecto a *C. vicina* frente a las bacterias *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *K. pneumoniae* y *S. aureus* ATCC 43300 ya que requirió una concentración menor tanto en el modelo experimental como en el modelo matemático para inhibir el crecimiento microbiano, mientras que *C. vicina*

tuvo un potencial mayor que *S. magellanica* frente a *S. aureus* ATCC 25923 (Tabla 1). Para *E. coli* y *S. aureus* ATCC 6538, se observó que en el modelo matemático las dos especies de moscas estudiadas requirieron de la misma CMI, sin embargo, en el modelo experimental la actividad antimicrobiana de *S. magellanica* fue mayor (Tabla 1)

Para todas las bacterias evaluadas se observó que el comportamiento de las ES <10kDa de *C. vicina* y *S. magellanica* fue similar en el modelo experimental y en el modelo matemático (Tabla 1). Por ejemplo, para *Pseudomona aeruginosa*, la CMI de las ES < 10kDa de *C. vicina* en el modelo experimental fue de 500 µg/mL y en el modelo matemático de 381.25 µg/mL, mientras que para las ES < 10kDa de *S. magellanica* se requirió una concentración menor respecto a *C. vicina*, es decir 95.3 µg/mL tanto en el modelo experimental como en el modelo matemático (Figura 3 A.). Por el contrario, para la cepa 25923 de *S. aureus*, se observó que la CMI de las ES < 10kDa de *C. vicina* fue de 285 µg/mL en el modelo experimental y 190.6 µg/mL en el modelo matemático, siendo una concentración menor que la que requirió *S. magellanica* para inhibir el crecimiento de este microorganismo, ya que la concentración de las ES < 10kDa de esta especie de mosca fue de 381.5 µg/mL en el modelo experimental y en el modelo matemático respectivamente (Figura 3B)

## **DISCUSIÓN**

En el presente estudio se demostró que tanto las ES<sub>n</sub> y las ES<10kDa de *C. vicina* y *S. magellanica* exhibieron actividad antimicrobiana contra tres bacterias Gram positivas, *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 25923 y *S. aureus* MRSA ATCC 43300 y cuatro bacterias Gram negativas, *E. coli* (ATCC 26922), *P. aeruginosa* (ATCC 1744 – BAA), *S. marcescens* (ATCC 13880) y *K. pneumoniae* ATCC (ATCC 700603); sin embargo, no se registró actividad contra *S. pneumoniae* ATCC 6303, lo cual pudo estar relacionado con la cápsula de lipopolisacáridos que posee el microorganismo, que probablemente corresponde al factor de virulencia más importante, por tener actividad antifagocítica, disminuir la autólisis y reducir la exposición de los antibióticos (Mitchell & Mitchell, 2010). Así mismo, se demostró en un estudio reciente, que el serotipo 3, el cual se utilizó en el presente trabajo, tiene la capacidad de absorber los anticuerpos anticapsulares inducidos por las vacunas antineumocócicas, impidiendo así la muerte mediada por estos anticuerpos *in vivo* e *in vitro*. (Azarian et al., 2018); además, esta cepa ha venido adquiriendo genes de resistencia por el uso desmesurado de antibióticos, generándose un proceso de recombinación que le posibilita absorber e incorporar material genético de su entorno (Ghahfarokhi et al., 2020).

En relación con los resultados obtenidos de las cepas evaluadas de *S. aureus*, se observó que el potencial antimicrobiano de las ES < 10 kDa tanto de *C. vicina*, como de *S. magellanica*, guardan semejanza con un estudio previo en el que se demostró actividad antibacteriana significativa de la



fracción <500 Da aislada de las ES de *Lucilia sericata* contra un amplio espectro de *S. aureus* MRSA (Bexfield et al., 2008); sin embargo, la fracción > 10 kDa aislada de *C. vicina* y *S. magellanica*, no inhibió el crecimiento bacteriano, lo cual coincide con lo reportado en la fracción >10kDa de *L. sericata* (Bexfield et al., 2004), esto puede significar que las moléculas que se encuentran en rangos de bajo peso molecular son las que poseen actividad antimicrobiana, de hecho, investigaciones previas han reportado que los péptidos antimicrobianos tales como la lucifencina (aislado y purificado de *L. sericata*) se encuentran en un rango de peso molecular de 0.5 a 10kDa (Čeřovský et al., 2010) . Además, en el presente estudio se observó inhibición significativa de las ESn contra *S. aureus*, siendo similar con los resultados obtenidos en investigaciones anteriores en donde se observó una potente actividad de las ESn de *S. magellanica* contra diferentes cepas de *S. aureus*, a partir de los ensayos de turbidimetría (Díaz-Roa et al., 2014)

En cuanto a las bacterias Gram negativas, la duración y potencia de la actividad antibacteriana fue diferente respecto a lo reportado en algunos estudios previos, así por ejemplo, en el presente trabajo, se observó que las ESn y las ES < 10kDa de *C. vicina* y *S. magellanica* exhibieron actividad contra *P. aeruginosa* hasta las 18 horas evaluadas, mientras que en un estudio previo reportaron que en el ensayo de unidades formadoras de colonia (UFC) las ESn de la especie *C. vicina* inicialmente redujeron el número de colonias, pero después de 8 horas nuevamente hubo crecimiento

de la bacteria (Barnes et al., 2010). Por otro lado, las ES<sub>n</sub> y las ES < 10 kDa inhibieron significativamente el crecimiento de *S. marcescens* por un tiempo de 18 horas, no obstante, otra investigación reportó que las ES<sub>n</sub> de *Chrysomya megacephala* y *Chrysomya putoria* sólo mantuvieron su potencial antimicrobiano durante las primeras 6 horas del total de las 22 horas de estudio (Ratcliffe et al., 2015); finalmente, las ES<sub>n</sub> y las ES < 10 kDa tanto de *C. vicina* y *S. magellanica* presentaron actividad contra *K. pneumoniae*, mientras que las ES<sub>n</sub> de *L. sericata* estudiadas no inhibieron esta bacteria en el ensayo de difusión en disco (Hassan et al., 2016). Respecto a *E. coli*, en el ensayo de UFC, difusión en disco y turbidimetría de los estudios anteriormente mencionados, los resultados fueron similares, ya que las ES evaluadas demostraron potencial actividad antimicrobiana independientemente de la especie de mosca estudiada (Barnes et al., 2010; Hassan et al., 2016; Ratcliffe et al., 2015)

Los resultados discordantes del presente estudio con investigaciones previas (Barnes et al., 2010; Hassan et al., 2016; Ratcliffe et al., 2015), podrían explicarse al considerar otras variables, por ejemplo, las diferentes técnicas utilizadas para evaluar la actividad antimicrobiana, en este sentido, en el presente estudio se evaluó la actividad antibacterial por turbidimetría, en razón a que se considera que tiene mayor sensibilidad en comparación con otras técnicas frecuentemente usadas. Otros posibles factores que pudieron influir en los resultados incluyeron el número de larvas utilizadas y el

pretratamiento realizado con las cepas bacterianas sobre las larvas, el cual pudo haber aumentado la concentración de moléculas con propiedades antibacterianas de las ES larvales.

En el ensayo de CMI se observó que en el modelo experimental y el modelo matemático las ES < 10 kDa de las dos especies de moscas evaluadas exhibieron actividad antimicrobiana frente a las bacterias Gram positivas y Gram negativas, sin embargo, los resultados evidencian que hay una diferencia en el potencial antimicrobiano dependiendo de la especie bacteriana evaluada. Investigaciones previas sugieren que las bacterias Gram positivas son más sensibles a las ES larvales, mientras que las bacterias Gram negativas requieren mayores concentraciones para su inhibición (Kawabata et al., 2010; Mariena J.A. Van der Plas et al., 2008), no obstante, algunos autores sugieren lo contrario (Barnes et al., 2010; Díaz-Roa et al., 2014), por lo que es necesario realizar más estudios que lleven a resultados concluyentes.

Por otro lado, a pesar de que las ES < 10kDa de *C. vicina* y *S. magellanica* presentaron una potente actividad antimicrobiana, esta actividad no fue bactericida; es por esto que la combinación de ES larvales con agentes antimicrobianos podría tener un potencial terapéutico mayor (Cazander, Pawiroredjo, Vandenbroucke-Grauls, Schreurs, & Jukema, 2010; Mariena J.A. van der Plas et al., 2010), lo cual a su vez podría ser una alternativa para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias resistentes a los

antibióticos, como las cepas de *S. aureus*, que han adquirido resistencia intrínseca a la metilina por la presencia del gen *mecA*, o las Enterobacterias y *P. aeruginosa* que han desarrollado resistencia a carbapenémicos, por una combinación de mecanismos que incluyen la producción de enzimas hidrolíticas, tales como las betalactamasas de espectro extendido o BLEEs, las cefalosporinas *AmpC* y las carbapenemasas (Esparza, 2020). Es importante resaltar, que la combinación sinérgica de las ES con los antibióticos puede retrasar el desarrollo de mecanismos de resistencia (Arora, Baptista, & Lim, 2011).

En relación con algunos de los componentes antimicrobianos que hacen parte de las ES larvales, se han registrado compuestos alcalinos, como carbonato de amonio, calcio, alantoína y urea que tienen acción sobre el crecimiento microbiano (Patarroyo, 2015); además, metaloproteinasas de matriz (MMP), como la quimiotripsina tienen efecto inhibitorio sobre la formación de biopelículas, y la desoxirribonucleasa (ADNsa) que impide tanto el crecimiento bacteriano como la formación de biopelículas (Sherman, 2014), todas ellas son de relevante significancia.

Por otro lado, los péptidos antimicrobianos (PAM), importantes componentes de las ES larvales, actúan como mecanismo de defensa del huésped, poseen un potente poder bactericida y tienen la capacidad de neutralizar toxinas (Hirsch et al., 2019). En estudios previos se han aislado, caracterizado y evaluado dos PAM de las ES larvales de *S. magellanica*, los

cuales demostraron una potente actividad antimicrobiana. (Díaz-Roa et al., 2019, 2018). No obstante, es importante continuar estudiando las propiedades que poseen las ES larvales tanto de *S. magellanica* como de *C. vicina*, puesto que, podrían ser útiles de forma individual o sinérgica para el desarrollo de potenciales fármacos o para la producción de nuevos agentes antiinfecciosos que, entre otras funciones, tendrían aplicación terapéutica tópica en heridas crónicas, por ejemplo aquellas asociadas a úlceras diabéticas, por lo tanto, la alta purificación y la producción de péptidos en masa son la máxima prioridad para un uso amplio.

Finalmente, se ha evidenciado que además de su potente poder antimicrobiano, las ES larvales de los califóridos también tienen actividad antifúngica (Alnaimat, Wainwright, & Aladaileh, 2013; Evans, Dudley, & Nigam, 2015), antiparasitaria (Cruz-Saavedra et al., 2016; Laverde-Paz, Echeverry, Patarroyo, & Bello, 2018; Sanei-Dehkordi et al., 2016), anti - inflamatoria (M. J.A. Van Der Plas, Baldry, Van Dissel, Jukema, & Nibbering, 2009), y procoagulante (Kahl et al., 2015; Pöppel et al., 2016), lo cual aumenta positivamente el interés en estas especies de moscas.

## **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 ES<sub>n</sub> 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 ES<sub>n</sub>; 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 concentraciones; no obstante, las ES de *S. magellanica* fueron mucho más efectivas para todas las bacterias evaluadas excepto para *S. aureus* 25923

Los anteriores hallazgos sugieren que las propiedades de las ES larvales, representadas en sus componentes, derivadas 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.

### **Conflicto de intereses**

Los autores del presente artículo no tienen ningún tipo de conflicto de intereses financieros, académicos o personales, que puedan afectar la validez del estudio.

## REFERENCIAS

1. AAK, A., BIRKEMOE, T., & LEINAAS, H. P. (2011). Phenology and life history of the blowfly *Calliphora vicina* in stockfish production areas. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 139(1), 35–46.  
<https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2011.01105.x>
2. ALNAIMAT, S. M., WAINWRIGHT, M., & ALADAILEH, S. H. (2013). An Initial in Vitro Investigation into the Potential Therapeutic Use of *Lucilia Sericata* Maggot to Control Superficial Fungal Infections. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 6(2), 137–142. <https://doi.org/10.12816/0000271>
3. AMAT, E. (2009). Contribución al conocimiento de las Chrysomyinae y Toxotarsinae (Diptera: Calliphoridae) de Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 80(1926), 693–708. Retrieved from [https://www.academia.edu/342546/Contribución\\_al\\_conocimiento\\_de\\_las\\_Chrysomyinae\\_y\\_Toxotarsinae\\_Diptera\\_Calliphoridae\\_de\\_Colombia](https://www.academia.edu/342546/Contribución_al_conocimiento_de_las_Chrysomyinae_y_Toxotarsinae_Diptera_Calliphoridae_de_Colombia)
4. AMAT, E., VÉLEZ, M. C., & WOLFF, M. (2008). Illustrated key for identification to genera and species of blowflies (Diptera: Calliphoridae) of Colombia. *Caldasia*, 30(1), 231–244.
5. ARORA, S., BAPTISTA, C., & LIM, C. S. (2011). Maggot metabolites and their combinatory effects with antibiotic on *Staphylococcus aureus*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 10(1), 6.  
<https://doi.org/10.1186/1476-0711-10-6>
6. AZARIAN, T., MITCHELL, P., GEORGIEVA, M., THOMPSON, C., GHOUILA, A., POLLARD, A., ... HANAGE, W. (2018). Global emergence and population dynamics of divergent serotype 3 CC180 pneumococci. *Global Emergence*

*and Population Dynamics of Divergent Serotype 3 CC180 Pneumococci*,  
314880. <https://doi.org/10.1101/314880>

7. BARNES, K. M., GENNARD, D. E., & DIXON, R. A. (2010). An assessment of the antibacterial activity in larval excretion/secretion of four species of insects recorded in association with corpses, using *Lucilia sericata* Meigen as the marker species. *Bulletin of Entomological Research*, 100(6), 635–640. <https://doi.org/10.1017/S000748530999071X>
8. BEXFIELD, A., BOND, A. E., ROBERTS, E. C., DUDLEY, E., NIGAM, Y., THOMAS, S., ... RATCLIFFE, N. A. (2008). The antibacterial activity against MRSA strains and other bacteria of a <500 Da fraction from maggot excretions/secretions of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Microbes and Infection*, 10(4), 325–333. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2007.12.011>
9. BEXFIELD, A., NIGAM, Y., THOMAS, S., & RATCLIFFE, N. A. (2004). Detection and partial characterisation of two antibacterial factors from the excretions/secretions of the medicinal maggot *Lucilia sericata* and their activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Microbes and Infection*, 6(14), 1297–1304. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2004.08.011>
10. CAMACHO, G. (2005). Sucesión de la entomofauna cadavérica y ciclo vital de *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) como primera especie colonizadora, utilizando cerdo blanco. *Revista Colombiana de Entomología*, 35–39. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/264552135\\_Sucesion\\_de\\_la\\_entomofauna\\_cadaverica\\_a\\_partir\\_de\\_un\\_biomodelo\\_con\\_visceras\\_de\\_res](https://www.researchgate.net/publication/264552135_Sucesion_de_la_entomofauna_cadaverica_a_partir_de_un_biomodelo_con_visceras_de_res)
11. CAZANDER, G., PAWIROREDJO, J. S., VANDENBROUCKE-GRAULS, C.



- M. J. E., SCHREURS, M. W. J., & JUKEMA, G. N. (2010). Synergism between maggot excretions and antibiotics. *Wound Repair and Regeneration*, 18(6), 637–642. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2010.00625.x>
12. ČEŘOVSKÝ, V., ŽDÁREK, J., FUČÍK, V., MONINCOVÁ, L., VOBURKA, Z., & BÉM, R. (2010). Lucifensin, the long-sought antimicrobial factor of medicinal maggots of the blowfly *Lucilia sericata*. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(3), 455–466. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0194-0>
13. CHOUDHARY, V., CHOUDHARY, M., PANDEY, S., CHAUHAN, V. D., & HASNANI, J. J. (2016). Maggot debridement therapy as primary tool to treat chronic wound of animals. *Veterinary World*, 9(4), 403–409. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.403-409>
14. CRUZ-SAAVEDRA, L., DÍAZ-ROA, A., GAONA, M. A., CRUZ, M. L., AYALA, M., CORTÉS-VECINO, J. A., ... BELLO, F. J. (2016). The effect of *Lucilia sericata*- and *Sarconesiopsis magellanica*-derived larval therapy on *Leishmania panamensis*. *Acta Tropica*, (164), 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.09.020>
15. DÍAZ-ROA, A., ESPINOZA-CULUPÚ, A., TORRES-GARCÍA, O., BORGES, M. M., AVINO, I. N., ALVES, F. L., ... BELLO, F. J. (2019). Sarconesin II, a New Antimicrobial Peptide Isolated from *Sarconesiopsis magellanica* Excretions and Secretions. *Molecules*, 24(11), 1–27. <https://doi.org/10.3390/molecules24112077>
16. DÍAZ-ROA, A., GAONA, M. A., SEGURA, N. A., SUÁREZ, D., PATARROYO, M. A., & BELLO, F. J. (2014). *Sarconesiopsis magellanica* (Diptera: Calliphoridae) excretions and secretions have potent antibacterial activity.

*Acta Tropica*, 136(1), 37–43.

<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.04.018>

17. DÍAZ-ROA, A., PATARROYO, M. A., BELLO, F. J., & DA SILVA, P. I. (2018). Sarconesin: Sarconesiopsis magellanica Blowfly Larval Excretions and Secretions With Antibacterial Properties. *Frontiers in Microbiology*, 9(September), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02249>
18. ESPARZA, G. (2020). Bacterias Gram negativas resistentes a carbapenemicos en Colombia : un desafío continuo al sistema de salud. *Infectio*, 24(2), 55–56. Retrieved from <https://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/831/875>
19. EVANS, R., DUDLEY, E., & NIGAM, Y. (2015). Detection and partial characterization of antifungal bioactivity from the secretions of the medicinal maggot, *Lucilia sericata*. *Wound Repair and Regeneration*, 23(3), 361–368. <https://doi.org/10.1111/wrr.12287>
20. FISCHER, O. A., MATLOVA, L., DVORSKA, L., SVASTOVA, P., BARTL, J., WESTON, R. T., & PAVLIK, I. (2004). Blowflies *Calliphora vicina* and *Lucilia sericata* as passive vectors of *Mycobacterium avium* subsp. *avium*, M.a. paratuberculosis and M.a. *horminissuis*. *Medical and Veterinary Entomology*, 18(2), 116–122. <https://doi.org/10.1111/j.0269-283X.2004.00477.x>
21. FRANCESCONIA, F., & LUPI, O. (2012). Myiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 25, pp. 79–105. <https://doi.org/10.1128/CMR.00010-11>
22. GETACHEW, S., GEBRE-MICHAEL, T., ERKO, B., BALKEW, M., & MEDHIN, G. (2007). Non-biting cyclorrhaphan flies (Diptera) as carriers of intestinal human parasites in slum areas of Addis Ababa, Ethiopia. *Acta Tropica*, 103(3), 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.06.005>

23. GHAFAROKHI, S. H., MOSADEGH, M., AHMADI, A., POURMAND, M. R., AZARSA, M., RAHBAR, M., & NIKMANESH, B. (2020). Serotype distribution and antibiotic susceptibility of streptococcus pneumoniae isolates in Tehran, Iran: A surveillance study. *Infection and Drug Resistance*, 13, 333–340.  
<https://doi.org/10.2147/IDR.S234295>
24. GÓNGORA, J., DÍAZ-ROA, A., GAONA, M. A., CORTÉS-VECINO, J., & BELLO, F. (2015). Evaluación de la actividad antibacterial de los extractos de cuerpos grasos y hemolinfa derivados de la mosca *Sarconesiopsis magellanica* (Diptera: Calliphoridae). *Infectio*.  
<https://doi.org/10.1016/j.infect.2014.09.003>
25. HASSAN, M. I., AMER, M. S., HAMMAD, K. M., & ZIDAN, M. M. (2016). Antimicrobial activity for excretion and secretion. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 46(1), 179–184.
26. HIRSCH, R., WIESNER, J., MARKER, A., PFEIFER, Y., BAUER, A., HAMMANN, P. E., & VILCINSKAS, A. (2019). Profiling antimicrobial peptides from the medical maggot *Lucilia sericata* as potential antibiotics for MDR Gram-negative bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(1), 96–107. <https://doi.org/10.1093/jac/dky386>
27. HOROBIN, A. J., SHAKESHEFF, K. M., & PRITCHARD, D. I. (2006). Promotion of human dermal fibroblast migration, matrix remodelling and modification of fibroblast morphology within a novel 3D model by *Lucilia sericata* larval secretions. *Journal of Investigative Dermatology*.  
<https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700256>
28. JANSEN, K. U., KNIRSCH, C., & ANDERSON, A. S. (2018). The role of vaccines in preventing bacterial antimicrobial resistance. *Nature Medicine*,

- 24(1), 10–20. <https://doi.org/10.1038/nm.4465>
29. JIANG, K. CHUN, SUN, X. JUAN, WANG, W., LIU, L., CAI, Y., CHEN, Y. CHEN, ... WANG, A. PING. (2012). Excretions/Secretions from Bacteria-Pretreated Maggot Are More Effective against *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *PLoS ONE*, 7(11), 22–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049815>
30. KAHL, M., GÖKÇEN, A., FISCHER, S., BÄUMER, M., WIESNER, J., LOCHNIT, G., ... PREISSNER, K. T. (2015). Maggot excretion products from the blowfly *Lucilla sericata* contain contact phase/intrinsic pathway-like proteases with procoagulant functions. *Thrombosis and Haemostasis*, 114(2), 277–288. <https://doi.org/10.1160/TH14-06-0499>
31. KAWABATA, T., MITSUI, H., YOKOTA, K., ISHINO, K., OGUMA, K., & SANO, S. (2010). Induction of antibacterial activity in larvae of the blowfly *Lucilia sericata* by an infected environment. *Medical and Veterinary Entomology*, 24(4), 375–381. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2010.00902.x>
32. KOSMANN, C., MELLO, R. P. DE, HARTERREITEN-SOUZA, É. S., & PUJOL-LUZ, J. R. (2013). A List of Current Valid Blow Fly Names (Diptera: Calliphoridae) in the Americas South of Mexico with Key to the Brazilian Species. *EntomoBrasilis*, 6(1), 74–85. <https://doi.org/10.12741/ebrasilis.v6i1.266>
33. LAVERDE-PAZ, M. J., ECHEVERRY, M. C., PATARROYO, M. A., & BELLO, F. J. (2018). Evaluating the anti-leishmania activity of *Lucilia sericata* and *Sarconesiopsis magellanica* blowfly larval excretions/secretions in an in vitro model. *Acta Tropica*, 177(September 2017), 44–50.

<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.09.033>

34. LÓPEZ-CEPEDA, M., & FAGUA, G. (2015). Cambios en composición y abundancia de califóridos de interés forense en Bogotá. *Universitas Scientiarum*, 20(1), 17–28. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC20-1.ccac>
35. MARILUIS, J. C., & MULIERI, P. R. (2003). The distribution of the Calliphoridae in Argentina (Diptera). *Revista de La Sociedad Entomológica Argentina*, 62(1–2), 85–97. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/271215285\\_The\\_distribution\\_of\\_the\\_Calliphoridae\\_in\\_Argentina\\_Diptera/download](https://www.researchgate.net/publication/271215285_The_distribution_of_the_Calliphoridae_in_Argentina_Diptera/download)
36. MITCHELL, A. M., & MITCHELL, T. J. (2010). Streptococcus pneumoniae: Virulence factors and variation. *Clinical Microbiology and Infection*, 16(5), 411–418. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03183.x>
37. MOREJÓN GARCÍA, M. (2013). Betalactamasas de espectro extendido. *Revista Cubana de Medicina*, 52(4), 272–280. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/med/v52n4/med06413.pdf>
38. MUMCUOGLU, K. Y., MILLER, J., MUMCUOGLU, M., FRIGER, M., & TARSHIS, M. (2009). Destruction of Bacteria in the Digestive Tract of the Maggot of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, 38(2), 161–166. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.161>
39. NIGAM, Y., BEXFIELD, A., THOMAS, S., & RATCLIFFE, N. A. (2006). Maggot Therapy: The Science and Implication for CAM Part II—Maggots Combat Infection. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 303–308. <https://doi.org/10.1093/ecam/nel022>
40. PAPE, T., WOLFF, M., & AMAT, E. C. (2004). Los califóridos, éstridos, rinofóridos y sarcófágidos (Diptera: Calliphoridae, Oestridae, Rhinophoridae,

Sarcophagidae) de Colombia. *Biota Colombiana*.

41. Pastar, I., Nusbaum, A. G., Gil, J., Patel, S. B., Chen, J., Valdes, J., ... Davis, S. C. (2013). Interactions of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* USA300 and *Pseudomonas aeruginosa* in Polymicrobial Wound Infection. *PLoS ONE*, *8*(2), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056846>
42. PATARROYO, M. A. (2015). Larval therapy in wound healing | Terapia larval en la curación de heridas. *Infectio*, *19*(1), 19–20. <https://doi.org/10.1016/j.infect.2014.12.003>
43. PÖPPEL, A. K., KAHL, M., BAUMANN, A., WIESNER, J., GÖKÇEN, A., BECKERT, A., ... FRANTA, Z. (2016). A Jonah-like chymotrypsin from the therapeutic maggot *Lucilia sericata* plays a role in wound debridement and coagulation. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *70*(2016), 138–147. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2015.11.012>
44. RAMON-PARDO, P., SATI, H., & GALAS, M. (2018). “One health” approach in the actions to address antimicrobial resistance from a Latin American standpoint. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, *35*(1), 103–109. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3605>
45. RATCLIFFE, N. A., VIEIRA, C. S., MENDONÇA, P. M., CAETANO, R. L., QUEIROZ, M. M. DE C., GARCIA, E. S., ... AZAMBUJA, P. (2015). Detection and preliminary physico-chemical properties of antimicrobial components in the native excretions/secretions of three species of *Chrysomya* (Diptera, Calliphoridae) in Brazil. *Acta Tropica*. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.03.021>
46. SACSAQUISPE CONTRERAS, R. E., & VELÁSQUEZ POMAR, J. (2002). *Manual de procedimientos anual para la prueba de sensibilidad*

*antimicribiana por el método de disco difusión. Organismo Público*

*Descentralizado de Sector Salud*. Retrieved from

[http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual\\_sensibilidad\\_2.pdf](http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual_sensibilidad_2.pdf)

47. SANEI-DEHKORDI, A., KHAMESIPOUR, A., AKBARZADEH, K., AKHAVAN, A. A., MIR AMIN MOHAMMADI, A., MOHAMMADI, Y., ... RAFINEJAD, J. (2016). Anti Leishmania activity of *Lucilia sericata* and *Calliphora vicina* maggots in laboratory models. *Experimental Parasitology*.  
<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.08.007>
48. SHARMA, R., KUMAR GARG, R., & GAUR, J. R. (2015). Various methods for the estimation of the post mortem interval from Calliphoridae: A review. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 5(1), 1–12.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejfs.2013.04.002>
49. SHERMAN, R. A. (2003). Maggot therapy for treating diabetic foot ulcers unresponsive to conventional therapy. *Diabetes Care*, 26(2), 446–451.  
<https://doi.org/10.2337/diacare.26.2.446>
50. SHERMAN, R. A. (2009). Maggot therapy takes us back to the future of wound care: New and improved maggot therapy for the 21st century. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 3(2), 336–344.  
<https://doi.org/10.1177/193229680900300215>
51. SHERMAN, R. A. (2014). Mechanisms of Maggot-Induced Wound Healing: What Do We Know, and Where Do We Go from Here? *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.  
<https://doi.org/10.1155/2014/592419>
52. TZANEVA, V., MLADENOVA, I., TODOROVA, G., & PETKOV, D. (2016). Antibiotic treatment and resistance in chronic wounds of vascular origin.

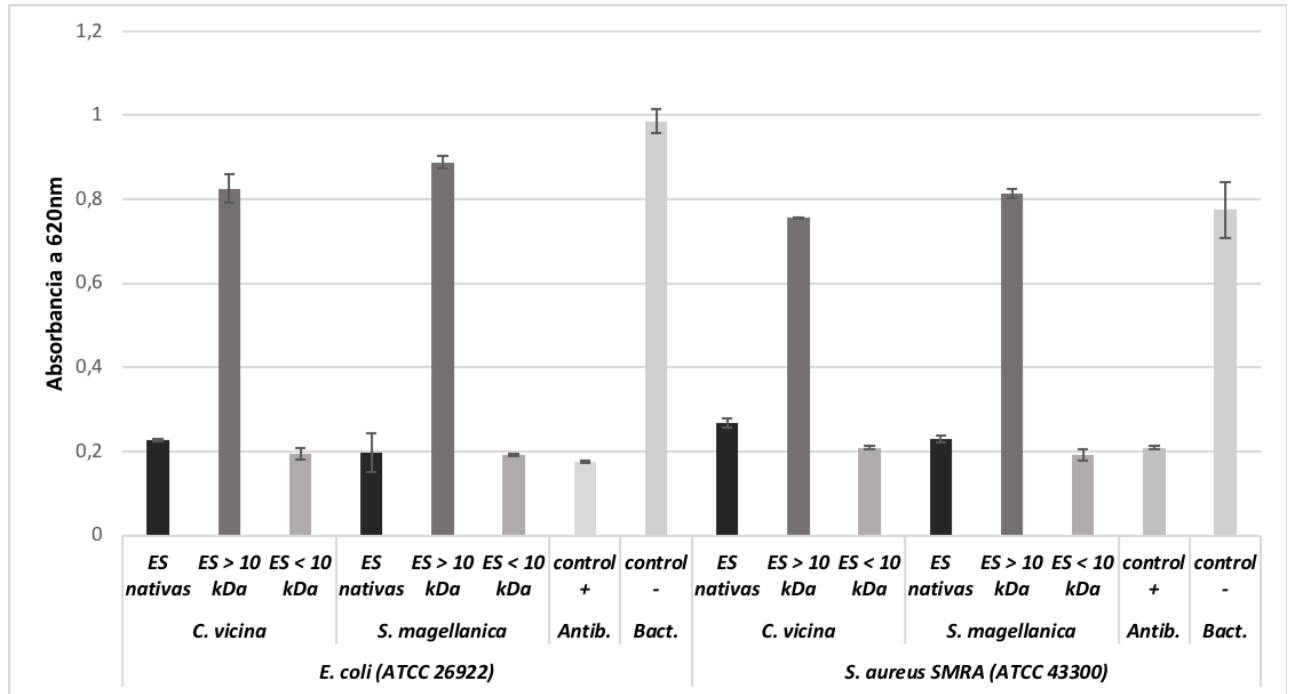
*Medicine and Pharmacy Reports*, 89(3), 365–370.

<https://doi.org/10.15386/cjmed-647>

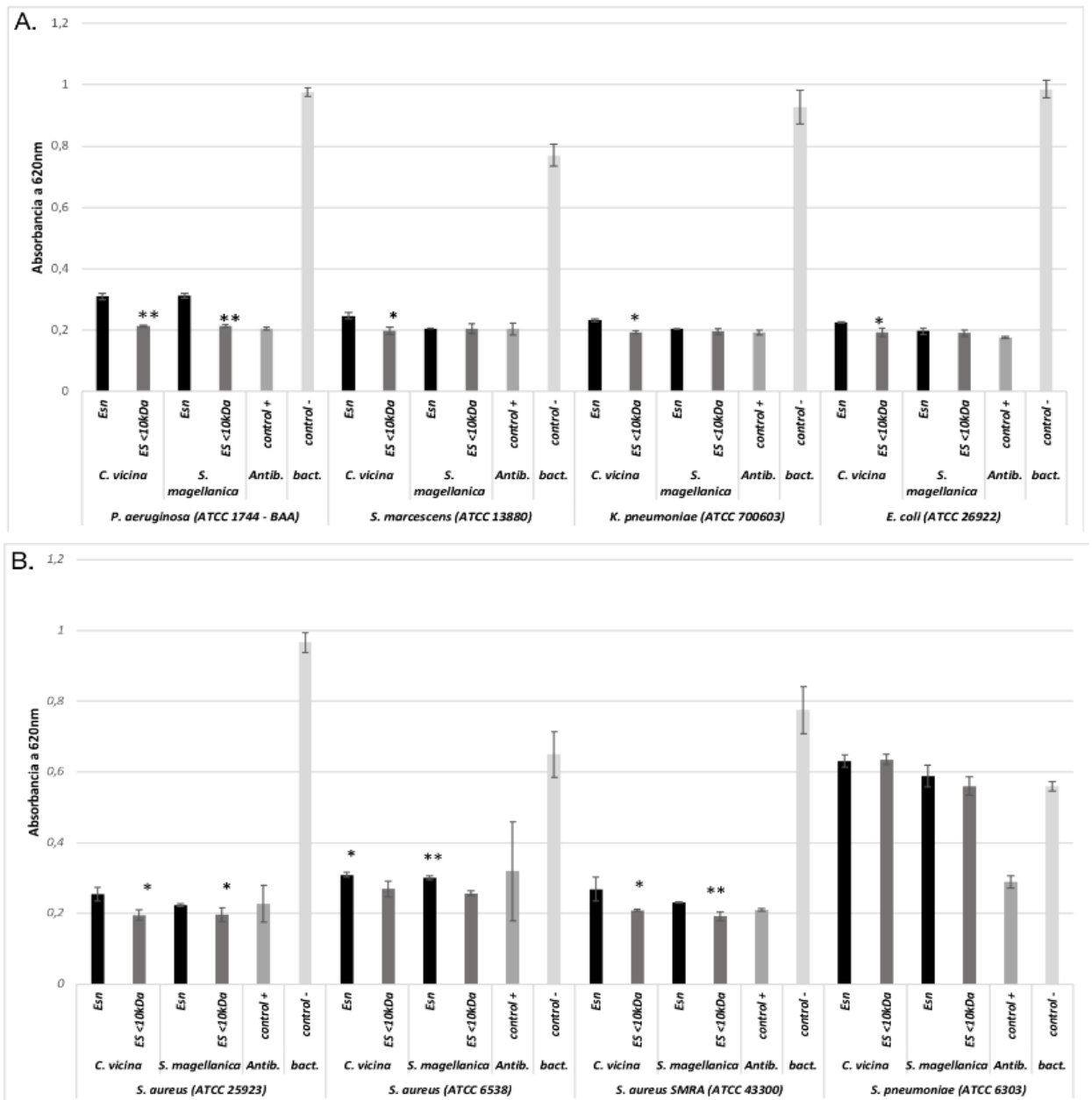
53. VAN DER PLAS, M. J.A., BALDRY, M., VAN DISSEL, J. T., JUKEMA, G. N., & NIBBERING, P. H. (2009). Maggot secretions suppress pro-inflammatory responses of human monocytes through elevation of cyclic AMP. *Diabetologia*, 52(9), 1962–1970. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1432-6>
54. VAN DER PLAS, MARIENA J.A., DAMBROT, C., DOGTEROM-BALLERING, H. C. M., KRUITHOF, S., VAN DISSEL, J. T., & NIBBERING, P. H. (2010). Combinations of maggot excretions/secretions and antibiotics are effective against *Staphylococcus aureus* biofilms and the bacteria derived therefrom. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(5), 917–923. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq042>
55. VAN DER PLAS, MARIENA J.A., JUKEMA, G. N., WAI, S. W., DOGTEROM-BALLERING, H. C. M., LAGENDIJK, E. I., VAN GULPEN, C., ... NIBBERING, P. H. (2008). Maggot excretions/secretions are differentially effective against biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61(1), 117–122. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm407>
56. WAYMAN, J., NIROJOGI, V., WALKER, A., SOWINSKI, A., & WALKER, M. A. (2000). The cost effectiveness of larval therapy in venous ulcers. *Journal of Tissue Viability*, 10(3), 91–94. [https://doi.org/10.1016/S0965-206X\(00\)80036-4](https://doi.org/10.1016/S0965-206X(00)80036-4)



## FIGURAS

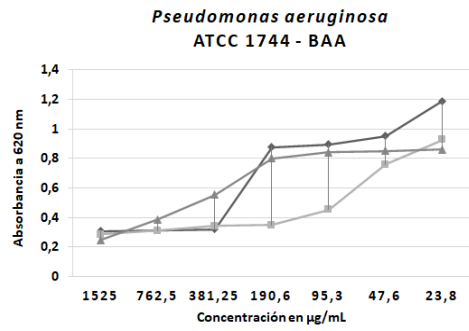
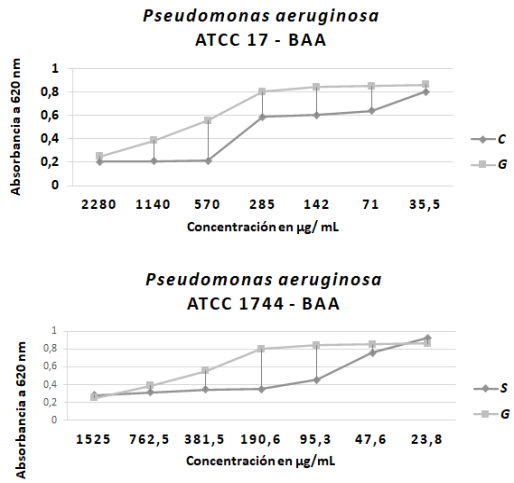


**Figura 1.** Actividad antimicrobiana de las ES nativas y de las fracciones obtenidas a través de la filtración (ES > 10 kDa y ES <10); la susceptibilidad bacteriana se evaluó mediante ensayos de turbidimetría. \* Inhibición significativa del crecimiento de *E. coli* y *S. aureus*. (p=0.0051).



**Figura 2. Actividad antimicrobiana de las ES nativas y de las ES <10kDa de *C. vicina* y *S. magellanica*.** Actividad de las ES contra bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas. La susceptibilidad bacteriana se evaluó mediante ensayos de turbidimetría. \*Diferencia significativa:  $p < 0.05$  \*\*Diferencia altamente significativa:  $p < 0.001$ .

A.



B.

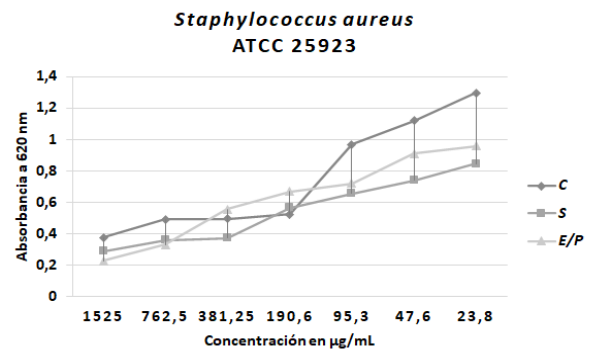
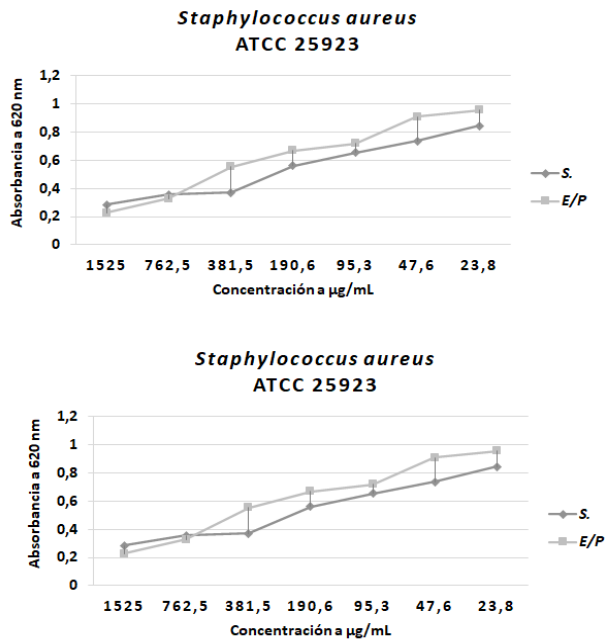


Figura 3. Ensayo de Concentración Mínima Inhibitoria en medio líquido.

CMI de la actividad antimicrobiana de las ES < 10kDa de *C. vicina* y *S. magellanica* en el modelo experimental y en el modelo matemático de A. *S. aureus* 25923 y B. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1744.

**Tabla 1.** CMI de la actividad antimicrobiana de las ES < 10kDa de *C. vicina* y *S. magellanica* en el modelo experimental y en el modelo matemático

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