

# ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA HEMOLINFA DE *Dermatobia hominis* (DIPTERA: CUTEREBRIDAE)

## Antibacterial activity of *Dermatobia hominis* hemolymph

Alfredo Coronado\*

Gonzalo Moya\*\*

Carlote Langenegger\*\*\*

\* Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado" (UCLA)  
Barquisimeto, Apdo. 400, Estado Lara, Venezuela.

\*\* Universidad Federal Rural do Río de Janeiro (UFRRJ)  
Antoga Rodavia. Río-Sao Paulo, Km. 47 CEP 23-800  
Itaguaí, Río de Janeiro, Brasil.

\*\*\* Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuarias (EMBRAPA)  
Río de Janeiro, CEP 23-512, Brasil.

### RESUMEN

Hemolinfia extraída de larvas de tercer instar de *Dermatobia hominis* mostró un efecto inhibitor sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. caprae* y *Streptococcus sp.* La actividad antibacteriana persistió en muestras de hemolinfia diluidas hasta 1:16. Estos resultados sugieren la existencia de factor(es) con actividad antibacteriana en la hemolinfia de *D. hominis* que tendrían acceso al tubo digestivo de la larva y serían excretadas durante el proceso alimenticio.

**Palabras claves:** *Dermatobia*, hemolinfia, actividad antibacteriana.

### ABSTRACT

*Dermatobia hominis* larvae hemolymph displayed an antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. caprae* and *Streptococcus sp.* This activity was even present in diluted hemolymph samples (1:16). This finding suggests the existence of some factor with remarkable bactericidal activity in *D. hominis* hemolymph, which could gain access through larvae gut and could be excreted during the feeding process.

**Key words:** *Dermatobia*, hemolymph, antibacterial activity.

### INTRODUCCIÓN

Los insectos, al igual que los organismos superiores, ocupan una amplia diversidad de nichos ecológicos, enfrentando en muchos de ellos a competidores actuales o potencialmente patogénicos. La presencia tanto de organismos infecciosos como de parásitos metazoarios en ecosistemas ocupados por insectos, ha ejercido una fuerte presión de selección en la resistencia de éstos hacia las infecciones [3]. Se impone entonces, la existencia de un sistema inmune eficiente, capaz de controlar las agresiones externas a las cuales se hallan sometidos los insectos.

La existencia de un exoesqueleto y de una membrana peritrófica que envuelve al contenido alimenticio constituyen las barreras primarias de defensa de los insectos. Aquellos organismos que logran franquear tales barreras se enfrentan a un sistema de defensa presente en la hemolinfia. Cuando no ha sido objeto de ninguna agresión externa, la hemolinfia de los insectos no exhibe ninguna actividad antibacteriana, siendo por el contrario, un medio apropiado para el crecimiento bacteriano [4]. La infección bacteriana primaria desencadena en los insectos una respuesta tanto de tipo celular como humoral [14]. Esta última consiste en la síntesis de proteínas y péptidos con marcada actividad antibacteriana [3]. Los insectos que logran sobrevivir a una infección bacteriana exhiben un estado inmunitario capaz de controlar futuras reinfecciones [2, 12].

La familia Cuterebridae engloba a un grupo de insectos cuya fase larval es estrictamente parasitaria. El parasitismo se



TABLA I

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA HEMOLINFA DE LARVAS DE *Dermatobia hominis* CONTRA BACTERIAS DE LOS GENEROS *Staphylococcus* y *Streptococcus* INCUBADAS A 37°C POR 24 HORAS**

| Bacterias                         | Hemolinfa (diluciones) |     |     |      |
|-----------------------------------|------------------------|-----|-----|------|
|                                   | 1:2                    | 1:4 | 1:8 | 1:16 |
| <i>Staphylococcus aureus</i>      | +                      | +   | +   | +    |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | +                      | +   | +   | +    |
| <i>Staphylococcus caprae</i>      | +                      | +   | +   | +    |
| <i>Streptococcus</i> sp.          | +                      | +   | +   | -    |

(+) Inhibición

(-) Crecimiento

observa en mamíferos, en los cuales produce miiasis primarias.

La fase larval de *Dermatobia hominis* ocurre en el tejido subcutáneo de bovinos y caninos, principalmente [6]. El hombre también puede resultar afectado, registrándose casos con daño cerebral y muerte en niños [8].

La miiasis primaria producida por las larvas de *D. hominis* es de tipo furunculosa, con una abertura hacia el exterior la cual permite la respiración de las larvas a través de los espiráculos posteriores. Tal abertura constituye una puerta de entrada para microorganismos normalmente presentes en la piel de los vertebrados.

En bovinos no se observa supuración ni otros signos de infección activa en el sitio de penetración y desarrollo de las larvas [7]. En roedores salvajes parasitados por *Cuterebra emasculator* tampoco se observan signos de infección, atribuyéndose tal hecho a la acción bacteriostática y/o bactericida de las secreciones o excreciones producidas por las larvas [1].

Estudios realizados con hemolinfa de varios géneros de dípteros mostró un efecto bacteriostático contra *Staphylococcus citreus* y algunas especies de *Sarcina* y *Micrococcus* [5]. Propiedades bactericidas han sido demostradas en intestino de *Gasterophilus haemorrhoidalis* [13] y en intestino y cutícula de *D. hominis* [7].

La flora bacteriana presente en la cavidad en donde se aloja la larva de *D. hominis* está constituida por *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *Bacillus subtilis* [9].

El objetivo del presente trabajo fue investigar el efecto de la hemolinfa de *D. hominis* contra *S. aureus*, *S. caprae*, *S. epidermis* y *Streptococcus* sp.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Hemolinfa:** Larvas de tercer instar de *D. hominis* fueron

colectadas de pieles de bovinos infectados. La extracción de las larvas se realizó manualmente con el auxilio de la inyección de agua oxigenada en la cavidad donde se aloja la larva [10]. Una vez extraídas, las larvas fueron lavadas con agua destilada para eliminar el exceso de agua oxigenada, colocadas en cajas de plástico que contenían aserrín humedecido y llevadas al laboratorio.

La hemolinfa fue colectada a través de una pequeña incisión practicada en la cutícula de la larva, previa desinfección con alcohol 70° y 95°, transferida a tubos Eppendorf estériles y centrifugada durante 10 minutos a 12000 rpm. El sobrenadante, libre de células, fue conservado a 10°C hasta su utilización.

**Bacterias:** Cepas de *S. aureus*, *S. caprae*, *S. epidermidis* y *Streptococcus* sp. de procedencia animal (bovinos y caprinos) fueron sembradas en agar nutritivo líquido. Posteriormente una muestra fue sembrada en placas de agar sólido utilizando hisopos estériles.

Inmediatamente después de realizada la siembra, la hemolinfa se colocó en cantidades de 10 µl con micropipetas. En cada placa fueron colocadas cinco muestras de hemolinfa (pura y en diluciones crecientes hasta 1:16). Las placas se colocaron en refrigeración (8°C por 60 minutos) para permitir la difusión de la hemolinfa. Transcurrido ese lapso, las placas fueron incubadas a 37°C por 24 horas, realizándose la lectura luego de ese tiempo basándose en el halo de inhibición alrededor de la muestra de hemolinfa aplicada.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La hemolinfa de *D. hominis*, tanto pura como diluida, mostró un efecto inhibitor en el crecimiento de *S. aureus*, *S. caprae*, *S. epidermidis* y *Streptococcus* sp (TABLA I). Estas bacterias son frecuentemente aisladas de la piel del hombre y de los animales. *S. aureus* es responsable por la contaminación de heridas a nivel de piel, siendo el microorganismo más

frecuentemente aislado de abscesos y de otros procesos bacterianos activos [11]. Así mismo, *S. aureus* y *S. epidermidis* forman parte de la flora bacteriana asociada a *D. hominis* [9].

La existencia de dos factores, que actuando juntos o por separado, pudieran explicar la ausencia de procesos bacterianos activos asociados a *D. hominis* ha sido sugerida (Sancho, E.; Boschini, C. and Torres, L. Bacterial flora wounds caused by the warble fly *Dermatobia hominis* in Costa Rican cattle. Manuscrito en preparación). El primero de ellos sería un factor inmunológico de la piel que inhibiría o controlaría el desarrollo bacteriano. El segundo factor sería algún producto de las larvas, con actividad antibacteriana [7].

Nuestros resultados, sin restar importancia a algún proceso inmunológico a nivel de piel, señalan la existencia de alguna substancia presente en la hemolinfa con demostrada actividad antibacteriana. Esa substancia, sintetizada en respuesta a la flora bacteriana asociada a *D. hominis*, tendría acceso al intestino de la larva y sería excretada durante el proceso alimenticio, inhibiendo el crecimiento bacteriano de la flora presente en la cavidad donde se aloja la larva de *D. hominis*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Bennett, G.F. Studies on *Cuterebra emasculator* and a discussion of the genus *Cephenemyia*. Can. J. Zool., 33:75-98. 1955.
- [2] Boman, H.G.; Nillson, D.; Paul, K. and Rasmuson, T. Insect Immunity. I. Characteristics of an inducible cell-free antibacterial reaction in hemolymph of *Samia cynthia pupae*. Insect Immun., 10:136-145. 1974.
- [3] Dunn, P.E. Biochemical aspects of insect immunology. Ann. Rev. Entomol., 31:321-339. 1986.
- [4] Horohov, D.W. and Dunn, P.E. Changes in the circulating hemocyte population of *Manduca sexta* larvae following injection of bacteria. J. Invertebr. Pathol., 40:327-339. 1982.
- [5] Landi, S. Bacteriostatic effect of hemolymph of larvae of various botflies. Can. J. Microbiol., 6:115-119. 1960.
- [6] Neiva, A. Algumas informações sobre o berne. Châcaras e Quintais, 2(1):3-8. 1910.
- [7] Picado, C. Sur le principe bactericide des larves des mouches. Bull. Biol. France et Belg., 69:410-438. 1935.
- [8] Rossi, M.A. and Zucoloto, S. Fatal cerebral myiasis caused by the tropical warble fly, *Dermatobia hominis*. Am. J. Vet. Hyg., 22(2):267-269. 1973.
- [9] Sancho, E.; Rodríguez, F.; Torres, L. and Bolaños, J. Flora bacteriana presente en la lesión producida por *Dermatobia hominis* en vacunos. Ciencias Veterinarias, Costa Rica, 8(1):23. 1986.
- [10] Scholl, P.J. and Barrett, C.C. Technique to extract *Hypoderma* sp. (Diptera: Oestridae) larvae from the backs of cattle. J. Econ. Entomol., 79(4):1125-1126. 1986.
- [11] Simmons, S.W. The bactericidal properties of excretions of the maggot of *Lucilia sericata*. Bull. Entomol. Res., 26:559-563. 1935.
- [12] Steves, J.M. Bactericidal activity of the blood of actively immunized wax moth larvae. Can. J. Microbiol., 8:491-499. 1962.
- [13] Vogelsang, E.G.; Gallo, P. y Mayaudon, H. Elementos bacteriostáticos en las larvas de *Gasterophilus*. Rev. Med. Vet. y Parasitol., 14(1-4):41-44. 1955.
- [14] Whitcomb, R.F.; Shapiro, M. and Granados, R.R. Insect defense mechanisms against microorganisms and parasitoids. In: *The Physiology of Insecta*, ed. M. Rockstein, N.Y., Acad. Press, 648 pp.