

CAM-ALAM 2016 – 26-30/09 ROSARIO, STA FE

MA-0310

Evaluación de nuevos péptidos antimicrobianos en *Galleria mellonella* criada de forma estandarizada en condiciones de laboratorio

M Martínez, A Polizzotto, D Faccone, L Semorile, P Maffia

Introducción: Las propiedades de los péptidos antimicrobianos (PAMs) los hacen muy atractivos para el desarrollo de nuevos fármacos¹ contra infecciones bacterianas de microorganismos multirresistentes. Los PAMs catiónicos tienen un amplio espectro de actividad, incluyendo bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. En trabajos previos² hemos desarrollado una serie de PAMs que fueron evaluados frente a un panel de 80 aislamientos clínicos. De los PAMs estudiados se seleccionaron 4 que presentaron baja hemólisis y alta actividad antimicrobiana para su posterior análisis in vivo. Las larvas de *Galleria mellonella* (GM) son un modelo animal alternativo para el estudio de infecciones microbianas que no posee las restricciones éticas que presentan los estudios en mamíferos. Actualmente, este modelo está siendo utilizado en el estudio de infecciones micóticas y bacterianas, y para la evaluación de nuevas drogas³.

Objetivo: Evaluar la actividad in vitro e in vivo (modelo de GM) de 4 nuevos PAMs diseñados en nuestro laboratorio.

Materiales y métodos: Los PAMs P1, P5, P6.2 y P8.1 fueron diseñados en el laboratorio y sintetizados por la empresa Genscript Inc. Las cepas bacterianas utilizadas fueron *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (Pae) y *Staphylococcus aureus* ATCC 27923 (Sau). La microscopía electrónica de barrido (MEB) fue realizada en el Centro de Microscopías Avanzadas, FCEyN, UBA. La cinética de muerte se realizó según los procedimientos estandarizados del CLSI. Las larvas fueron criadas en contenedores plásticos con dieta artificial y mantenidas a 20-30°C, conservando las orugas de último estadio a 10°C hasta su utilización. El inóculo bacteriano (10^5 para Pae y 10^8 para Sau) y el tratamiento con los antimicrobianos fueron administrados por inyección directa al hemocele. Se evaluó la sobrevivencia por 5 días. Resultados: Por cinética de muerte sólo P5 y P1 en Sau y Pae, y P8.1 en ambas cepas, redujeron en 3 unidades logarítmicas las UFC/ml, a concentración de CIM. Tres PAMs causaron la reducción de al menos 10^3 UFC/ml en el ensayo de cinética de muerte: P8.1 frente a ambas cepas, P5 frente a Sau y P1 sobre Pae." En estudios de MEB se observaron alteraciones en la integridad de la membrana bacteriana tal como se esperaba para esta clase PAMs. La cría de GM se adaptó al laboratorio de microbiología, obteniendo camadas homogéneas y un sistema de cría reproducible. En la evaluación en GM los PAMs no mejoraron significativamente la sobrevivencia de las larvas, a pesar de no resultar tóxicos en concentraciones de hasta 250mg/k. Como control se evaluaron los antibióticos colistina, tobramicina y vancomicina. Conclusión: Los 4 PAMs, de probada actividad antimicrobiana in vitro, no demostraron actividad en este modelo in vivo, evidenciando las diferencias existentes entre las condiciones usadas in vitro y la complejidad encontrada in vivo. Sin embargo, los resultados de la MEB y las cinéticas de muerte nos permiten considerar estas secuencias como modelos originales para el desarrollo de nuevos PAMs. Por otro lado pudimos establecer un modelo de infección exitoso para ambas cepas bacterianas. Referencias: Wiesner J, Vilcinskas A., Antimicrobial peptides: the ancient arm of the human immune system, *Virulence*. 2010 Sep-Oct;1(5):440-64 Faccone, D.; Veliz, O.; Corso, A.; Noguera, M.; Martínez, M.; Payes, C.; Semorile, L.; Maffia, Antimicrobial activity of de novo designed cationic peptides against multi-resistant clinical isolates, *P. C. Eur J Med Chem* 2014, 71, 31, Catherine Jia-Yun Tsai, Jacelyn Mei San Loh & Thomas Proft, *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing, *Virulence* 2016, 7:3, 214-229.