



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Efecto antibacteriano *in vitro* de apitoxina comercial de *Apis mellifera* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y su comparación con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.

INFORME FINAL DE TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bachiller Yarlequé Prieto, María Elena
Bachiller Wong Chagua, Juan Domingo

ASESOR

Mg. QF. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña

LIMA –PERU

2018



ACTA DE SUSTENTACIÓN

N° 007-2018-OGYT-FCS-UMA

PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

En San Juan de Lurigancho, a los 30 días del mes de octubre del año 2018 en los ambientes de la Sala de Audiencias; se reunió el Jurado de Sustentación integrado por:

Presidente : Dr. Jhonnell Samaniego Joaquin .

Integrante : Mg. Rodolfo Huguet Tapia.

Integrante : Mg. Gustavo Adolfo Sandoval Peña.

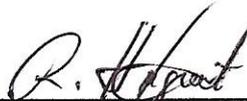
Para evaluar la Tesis:

“Efecto antibacteriano *in vitro* de apitoxina comercial de *Apis mellifera* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y su comparación con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica”; presentada por: Bach. MARIA ELENA YARLEQUE PRIETO. Participando en calidad de asesor: Mg. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña.

Los señores miembros del Jurado, después de haber atendido la sustentación, evaluar las respuestas a las preguntas formuladas y terminada la réplica; luego de debatir entre sí, reservada y libremente lo declaran..... *Aprobado*..... (Aprobado/Desaprobado) por..... *unanimidad*.....(Unanimidad/Mayoría) con el calificativo de *Mención notable*.....[Mención Sobresaliente(18-20)/ Mención Notable(16-17)/ Aprobado(11-15)/ Desaprobado], equivalente a ...*17*....., en fe de lo cual firmamos la presente Acta, siendo las ...*9:15*..... horas del mismo día, con lo que se dio por terminado el Acto de Sustentación.



Dr. Jhonnell Samaniego Joaquin
Presidente



Mg. Rodolfo Huguet Tapia
Integrante



Mg. Gustavo Adolfo Sandoval Peña
Integrante



ACTA DE SUSTENTACIÓN

N° 008-2018-OGYT-FCS-UMA

PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

En San Juan de Lurigancho, a los 30 días del mes de octubre del año 2018 en los ambientes de la Sala de Audiencias; se reunió el Jurado de Sustentación integrado por:

Presidente : Dr. Jhonnell Samaniego Joaquin .

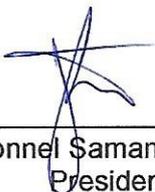
Integrante : Mg. Rodolfo Huguet Tapia.

Integrante : Mg. Gustavo Adolfo Sandoval Peña.

Para evaluar la Tesis:

“Efecto antibacteriano *in vitro* de apitoxina comercial de *Apis mellifera* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y su comparación con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica”; presentada por: Bach. JUAN DOMINGO WONG CHAGUA. Participando en calidad de asesor: Mg. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña.

Los señores miembros del Jurado, después de haber atendido la sustentación, evaluar las respuestas a las preguntas formuladas y terminada la réplica; luego de debatir entre sí, reservada y libremente lo declaran..... Aprobado..... (Aprobado/Desaprobado) por..... Unanimidad..... (Unanimidad/Mayoría) con el calificativo de..... Mención notable..... [Mención Sobresaliente(18-20)/ Mención Notable(16-17)/ Aprobado(11-15)/ Desaprobado], equivalente a 17....., en fe de lo cual firmamos la presente Acta, siendo las 7:15..... horas del mismo día, con lo que se dio por terminado el Acto de Sustentación.



Dr. Jhonnell Samaniego Joaquin
Presidente



Mg. Rodolfo Huguet Tapia
Integrante



Mg. Gustavo Adolfo Sandoval Peña
Integrante

DEDICATORIA

A mi esposo Dr. William Augusto Torres Chávez por el apoyo brindado en el desarrollo y culminación de este reto, por su ejemplo de perseverancia y deseo de superación constante.

A mi hija Grace Elena, por su dulce sonrisa, que ha sido el impulso durante toda mi carrera y el ánimo de cada día a seguir sin decaer.

A mis padres, Ceferino y Bernardina, mis hermanos Segundo, César, Luis, que desde el cielo me guían como cuando en vida a cumplir este maravilloso sueño.

A mis hermanas y hermanos por la confianza y apoyo brindado, demostrándoles que querer es poder.

María Elena Yarlequé Prieto

A Dios todopoderosos, el haberme permitido culminar con éxito esta profesión tan anhelada.

A mi madre, que siempre está conmigo en los momentos difíciles, apoyándome para poder salir adelante.

A mi hermana Saida, por su apoyo moral y anímico en la consecución de este trabajo de investigación.

A mi padre domingo, antes de su partida al cielo, fue mi compromiso culminar una carrera profesional, este logro es para ti papá.

Juan Domingo Wong Chagua

AGRADECIMIENTO

A Dios nuestro padre celestial, por darnos día a día apertura al conocimiento y el deseo de ser ciudadanos comprometidos con la humanidad mediante el ejercicio de esta noble profesión.

A nuestros docentes, por impartir sus conocimientos en la formación académica a lo largo de estos años y la orientación que conlleva nuestra profesión. El merecido agradecimiento al Dr. Carlos Bell Cortéz quien nos guió desde el primer ciclo de la carrera, con sus consejos y experiencias a poder culminar de manera satisfactoria y digna nuestra profesión.

A nuestro asesor Mg. QF. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña, por el apoyo y dedicación paso a paso en la revisión, ejecución y elaboración de esta Tesis.

A la Universidad María Auxiliadora, por la gran oportunidad y compromiso en la formación profesional de muchos habitantes de nuestro distrito.

Al Dr. Q.F. Rubén Cueva Mestanza como director de nuestra escuela profesional, en la consecución de excelentes profesionales, como nuestros docentes y revisores, en especial al Dr. Víctor Chero, Dr. Gustavo Sandoval, Dr. Q.F. Jhonnell Samaniego y al Dr. Q.F. Rodolfo Huguet Tapia.

Al Dr. Rubén Darío La Rosa Sánchez por el apoyo desinteresado, brindado en la consecución del material de investigación.

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano de la apitoxina comercial de *Apis mellifera* frente a cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y su comparación con tres antibacterianos betalactámicos sintéticos, (ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica). **Método:** Se evaluó la actividad antibacteriana utilizando el método de difusión Kirby Bauer modificado (pozo en placa), las cepas utilizadas fueron de *Staphylococcus aureus*, ATCC 25923, se utilizó apitoxina comercial al 0.1 mg/mL como grupo control, tres antibacterianos sintético (ceftriaxona, meropenem, penicilina G benzatínica) como control positivo, agua destilada como control negativo. Se realizaron cinco replicas por cinco días, el análisis estadístico fue desarrollado mediante el programa SSPS 21, aplicando el estudio descriptivo e inferencial. Se empleó para el estudio el análisis ANOVA y la prueba de Tukey, considerando además la agrupación de subconjuntos homogéneos. **Resultado:** Los halos de inhibición de la apitoxina estuvieron comprendidos entre los 15-17 mm a las 72 horas, se obtuvo un efecto antibacteriano de la ceftriaxona entre 36-56 mm, meropenem: 54-64 mm y penicilina benzatínica: 47-62.8 mm a las 72 horas respectivamente. **Conclusión:** La apitoxina comercial al 0.1 mg/mL presenta efecto antibacteriano, aunque en menor proporción al efecto antibacteriano de los compuestos sintéticos evaluados.

Palabras clave: Apitoxina, *Apis mellifera*, antibacteriano, betalactámicos, *Staphylococcus aureus*, halo inhibitorio.

ABSTRACT

Objective: To determine the antibacterial effect of the commercial apitoxin of *Apis mellifera* against strains *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and its comparison with three synthetic beta-lactam antibacterials (ceftriaxone, meropenem and benzathine penicillin). **Method:** The antibacterial activity was evaluated using the modified Kirby Bauer diffusion method (well in plate), the strains used were *Staphylococcus aureus*, ATCC 25923, commercial apitoxin was used at 0.1 mg / mL as a control group, three synthetic antibacterials (ceftriaxone , meropenem, benzathine penicillin G) as a positive control, distilled water as a negative control. Four replicates were performed for five days, the statistical analysis was developed through the SSPS 21 program, applying the descriptive and inferential study. The ANOVA analysis and the Tukey test were used for the study, considering also the grouping of homogeneous subsets. **Result:** The apitoxin inhibition halos were between 15-17 mm at 72 hours, an antibacterial effect of ceftriaxone was obtained between 36-56 mm, meropenem: 54-64 mm and benzathine penicillin: 47-62.8 mm at 72 hours respectively. **Conclusion:** Apitoxin has demonstrated bacterial inhibition capacity in a lower proportion to the antibacterial effect of the synthetic compounds evaluated.

Key words: Apitoxin, *Apis mellifera*, antibacterial, beta-lactam, *Staphylococcus aureus*, inhibitory halo.

INDICE

| | Página |
|----------------------------------|---------------|
| PORTADA | i |
| DEDICATORIA | ii |
| AGRADECIMIENTO | iii |
| RESUMEN | iv |
| ABSTRACT | v |
| ÍNDICE | vi |
| LISTA DE FIGURAS Y TABLAS | vii |

INDICE

| | |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN..... | 2 |
| 1.1. Planteamiento del problema | 2 |
| 1.2. Formulación del problema..... | 4 |
| 1.2.1. Problema General | 4 |
| 1.2.2. Problemas Específicos..... | 4 |
| 1.3. Objetivos | 5 |
| 1.3.1. Objetivo General | 5 |
| 1.3.2. Objetivo Específicos..... | 5 |
| 1.4 Justificación | 5 |
| 2. MARCO TEÓRICO | 6 |
| 2.1. Antecedentes Internacionales | 6 |
| 2.2. Base teórica | 15 |
| 2.2.1. Apitoxina (<i>Apis mellifera</i>)..... | 15 |
| 2.2.2. Componentes de la Apitoxina (<i>Apis mellifera</i>) | 16 |
| 2.2.3. Actividad biológica de la Apitoxina (<i>Apis mellifera</i>) | 17 |
| 2.2.4 . <i>Staphylococcus aureus</i> | 21 |
| 2.2.5. Epidemiología. | 22 |
| 2.2.6. Prevención | 22 |
| 2.2.7. Tratamiento | 23 |
| 2.2.8. Mecanismos de resistencia a los antibióticos | 23 |
| 2.2.9. Antibióticos betalactámicos | 24 |
| 2.2.9.1. Mecanismo de acción de los betalactámicos..... | 25 |
| 2.2.9.2. Inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana | 25 |
| 2.2.9.3. Activación del sistema autolítico endógeno bacteriano | 26 |
| 2.2.10. Penicilinas | 26 |
| 2.2.11. Farmacocinética de las Penicilinas..... | 28 |
| 2.2.12. Actividad Antimicrobiana Penicilinas Naturales: | 30 |
| 2.2.12.1. Penicilina G Cristalina (Bencilpenicilina)..... | 30 |
| 2.2.12.2. Penicilina V | 31 |
| 2.2.12.3. Penicilinas de Depósito | 31 |
| 2.2.12.4. Penicilina G benzatínica..... | 31 |
| 2.2.13. Cefalosporinas | 32 |
| 2.2.13.1. Espectro antibacteriano de las Cefalosporinas | 33 |
| 2.2.14. Ceftriaxona | 33 |

| | |
|--|----|
| 2.2.14.1.Indicaciones..... | 33 |
| 2.2.14.2. Acción Farmacológica..... | 34 |
| 2.2.14.3. Espectro antibacteriano | 34 |
| 2.2.15. Carbapenemos | 35 |
| 2.2.15.1. Meropenem..... | 35 |
| 2.2.15.2. Espectro antibacteriano | 36 |
| 2.2.15.3. Farmacocinética | 36 |
| 2.3. Definición de términos básicos | 37 |
| 2.4. Hipótesis..... | 38 |
| 2.4.1. Hipótesis General | 38 |
| 2.4.2. Hipótesis Específicas..... | 38 |
| 3. METODOLOGÍA | 39 |
| 3.1. Tipo de investigación | 39 |
| 3.2. Nivel de investigación..... | 39 |
| 3.3. Diseño de la investigación..... | 40 |
| 3.3.1. Método microbiológico | 40 |
| 3.3.2. Utilización de la apitoxina..... | 41 |
| 3.3.3. Procedimiento..... | 41 |
| 3.4. Área de estudio..... | 42 |
| 3.5. Población y muestra | 42 |
| 3.5.1. Criterios de inclusión | 42 |
| 3.5.2. Criterios de exclusión..... | 42 |
| 3.6. Variables y Operacionalización de variables | 42 |
| 3.7. Instrumentos de recolección de datos..... | 43 |
| 3.8. Validación de los instrumentos de recolección de datos..... | 43 |
| 3.9. Procedimientos de recolección de datos..... | 43 |
| 3.10. Componente ético de la investigación..... | 44 |
| 3.11. Procesamiento y análisis de datos | 44 |
| 4. RESULTADOS | 45 |
| 5. DISCUSIÓN..... | 61 |
| 6. CONCLUSIÓN | 67 |
| 7. RECOMENDACIONES | 68 |
| 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 69 |
| 9. ANEXO: Matriz de Consistencia..... | 75 |

Lista de Figuras y Tablas

Lista de Figuras

| | |
|---|----|
| 1. Aparato del aguijón y glándulas secretoras de la abeja | 18 |
| 2. Estructura química de las Penicilinas..... | 27 |
| 3. Gráfica de cajas de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 24 horas..... | 56 |
| 4. Gráfica de cajas de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 36 horas..... | 57 |
| 5. Gráfica de cajas de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 48 horas..... | 58 |
| 6. Gráfica de cajas de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 60 horas..... | 59 |
| 7. Gráfica de cajas de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 72 horas..... | 60 |

Lista de Tablas

| | |
|--|----|
| 1. Acción de los componentes de la Apitoxina..... | 16 |
| 2. Características de los componentes químicos de la Apitoxina..... | 19 |
| 3. Propiedades Fisicoquímicas de la Apitoxina..... | 20 |
| 4. Clasificación de las Penicilinas..... | 28 |
| 5. Clasificación de las Cefalosporinas..... | 32 |
| 6. Análisis descriptivo de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial respecto al empleo de Ceftriaxona 1g..... | 45 |
| 7. Análisis descriptivo de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial respecto al empleo de Meropenem 1g..... | 46 |
| 8. Análisis descriptivo de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial respecto al empleo de Penicilina Benzatínica 1 200 000 UI..... | 47 |
| 9. Análisis descriptivo de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial..... | 48 |
| 10. Análisis ANOVA de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial de 12-72 horas..... | 49 |
| 11. Análisis TUKEY de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 24 horas...51 | |
| 12. Análisis TUKEY de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 36 horas...51 | |
| 13. Análisis TUKEY de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 48 horas...52 | |
| 14. Análisis TUKEY de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 60 horas...52 | |
| 15. Análisis TUKEY de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 72 horas...53 | |
| 16. Análisis de homogeneidad de subconjuntos de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 24 horas..... | 53 |

| | |
|--|----|
| 17. Análisis de homogeneidad de subconjuntos de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 36 horas..... | 54 |
| 18. Análisis de homogeneidad de subconjuntos de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 48 horas..... | 54 |
| 19. Análisis de homogeneidad de subconjuntos de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 60 horas..... | 55 |
| 20. Análisis de homogeneidad de subconjuntos de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 72 horas..... | 55 |

INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional hoy en día es aceptada en muchas partes del mundo, tanto en países en desarrollo e industrializados, debido a la diversidad, accesibilidad y disponibilidad de recursos naturales. Un alto porcentaje de la flora vegetal, animal, mineral e insectaria, se encuentra sin explotar, los compuestos activos de valor medicinal que poseen aún no se terminan de descubrir. Con el resultado de los modernos procedimientos de aislamiento y experimentación farmacológica se obtendrán nuevos productos derivados de ellos. Su estudio suscita mucho interés sobre todo médico, un caso en particular es la Apiterapia. En la presente investigación el interés fue conocer el efecto antibacteriano de la apitoxina comercial de *Apis mellifera* sobre cepas ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus* y su comparación con tres antibióticos betalactámicos de mayor uso en nuestro país. La actividad principal de estos antibacterianos y su sitio de acción de los tres fármacos es a nivel de pared celular, por ello el interés de esta comparación y conocer si la apitoxina comercial adquirida a la cual se confiere actividad antiinflamatoria, presenta además, actividad antibacteriana, por ser un compuesto complejo conformado por polipéptidos. Esto facilitará su aplicación, así mismo, revalorará el uso de los productos naturales, como es el caso de la apitoxina, de la cual se ha comprobado en diversas investigaciones científicas poseer muchas propiedades, causando incluso menos efectos adversos, sobre todo a partir de ello, a futuro, elaborar productos farmacéuticos efectivos, seguros y de bajo costo, así su adquisición será posible incluso en la población de menores recursos económicos.

El estudio se realizó en los ambientes del laboratorio de Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora, la adquisición de la apitoxina se hizo en tres Centros de Apiterapia y distribución de productos afines. La bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se obtuvo en el laboratorio Gen Lab. Del Perú S.A.C. Ubicado en el distrito de San Isidro.

El planteamiento del problema para realizar este estudio, es la frecuente resistencia bacteriana que crece día a día, representando un grave problema de salud nacional, mundial y causa de mortalidad de muchos seres humanos según reporte publicado por la

Organización Mundial de la Salud (2018). Por ello ha sido importante incluir los antecedentes que dan el soporte científico al mismo, corroborados durante el desarrollo del experimento. Se analizaron los principales mecanismos subyacentes de la efectividad antibacteriana de la muestra problema, la misma que permitió identificar su propiedad farmacológica y la posibilidad de desarrollar nuevas formulaciones para estas enfermedades infecciosas, y su posterior aplicación de medicina alternativa a la medicina moderna.

El objetivo general del trabajo de investigación fue determinar el efecto antibacteriano de la apitoxina comercial de *Apis mellifera* frente a tres antibacterianos betalactámicos, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dada la clasificación atribuida de ser un patógeno prioritario.

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Planteamiento del problema

“El sistema mundial de vigilancia sobre resistencia a los antimicrobianos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se sustenta en un enfoque normalizado de la recopilación, el análisis e intercambio de datos entre los ciento ochenta y ocho países miembros sobre la resistencia a los antimicrobianos a nivel mundial, para orientar la adopción de decisiones e impulsar la acción local, nacional, regional y mundial”¹.

El 5 de Febrero del 2018 la OMS publicó, una nota descriptiva sobre la Resistencia a los Antibióticos, según la información obtenida de todos los países miembros, la causa principal es el uso inadecuado de la terapia antibiótica, por tanto constituye un problema de salud mundial común y supone una amenaza que puede afectar a cualquier persona, independientemente de la edad, sexo, raza, o procedencia. Las enfermedades que se suponía controladas, recrudecen y complican su control, prolongan las estancias hospitalarias, elevando el gasto económico y el índice de mortalidad¹.

Se hace necesaria la prevención para el control de estas infecciones, el uso adecuado de los fármacos, buenas condiciones higiénicas, lavado de manos y

sanitarias, evitar el contacto con personas enfermas, protección durante la actividad sexual, cumplir con el calendario de vacunación, protección y conservación adecuada de los alimentos¹.

A nivel profesional es necesario prescribir e informar a los pacientes el uso correcto de los productos farmacéuticos, a nivel gubernamental se requiere invertir en la investigación de nuevos fármacos, entre ellos antibióticos, vacunas, y otros. A nivel agrícola dar seguridad biológica y asegurar el bienestar de los animales¹.

El 15 de Febrero del 2018 según datos y cifras de la OMS, se hace evidente el riesgo de contraer enfermedades por reacciones adversas a los medicamentos, se hace necesaria la intervención de todos los sectores del gobierno y de la sociedad. Estas reacciones pueden deberse a nuevos mecanismos de mutación de los microorganismos².

Se considera un listado de bacterias, clasificada por niveles de categoría y prioridad. El *Staphylococcus aureus* está en la categoría y prioridad alta ya que representa el 64 % de mortalidad, por ello se hace necesario promover la investigación y el desarrollo de actividades para contrarrestar este creciente problema de salud mundial, se mencionan a cincuenta nuevos antibióticos y biofármacos que se podrían usarse en el tratamiento de dichas infecciones².

La OMS, además de ofrecer asistencia técnica a las instituciones públicas y privadas, colabora con otras organizaciones como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) en un enfoque “una salud” y fomentar prácticas óptimas frente a las reacciones adversas medicamentosas, se espera el año 2023 proporcionar nuevos medicamentos para solucionar el problema de resistencia de los microorganismos. Esto representa la respuesta del país ante a esta creciente amenaza².

“El sistema mundial de vigilancia de resistencia a los antimicrobianos se sustenta en un enfoque normalizado de la recopilación, análisis e intercambio

de datos sobre la resistencia a los antimicrobianos a nivel mundial para orientar la adopción de decisiones e impulsar la acción local, nacional y regional”².

En el Perú, a través del ministerio de salud en coordinación con la Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria (DIGESA), la Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID) se han desarrollado acciones para la elaboración del “Plan Nacional” para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos, con la finalidad de articular e integrar una respuesta multisectorial a la amenaza, que representa el uso inadecuado de los antimicrobianos y sus repercusiones en la salud humana y animal, puesto que el sistema de vigilancia, sigue notificando presencia de infecciones asociadas a la atención de salud (IAAS) a nivel primario³.

1.2. Formulación del problema

1.2.1 Problema General

- ¿Se puede determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de la apitoxina comercial de *Apis mellifera* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y este efecto es comparable con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica?

1.2.2 Problemas Específicos

- ¿Se puede evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de apitoxina comercial de *Apis mellifera* a la concentración del 0.1 mg/mL frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
- ¿Se puede comparar el efecto de apitoxina comercial con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica?
- ¿Cuál es la diferencia del efecto antibacteriano *in vitro* entre la apitoxina comercial de *Apis mellifera* a la concentración del 0.1 mg/mL frente a ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

- Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de apitoxina comercial de *Apis mellifera* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y su comparación con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.

1.3.2. Objetivo Específicos

- Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de apitoxina comercial de *Apis mellifera* a la concentración del 0.1 mg/mL frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Comparar el efecto de apitoxina comercial con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.
- Evaluar la diferencia del efecto antibacteriano *in vitro* entre apitoxina comercial de *Apis mellifera* a la concentración del 0.1 mg/mL frente a ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.

1.4. Justificación

- Justificación Teórica

La resistencia antibacteriana es un problema de salud actual y constante, que se propaga a nivel local, nacional y mundial, la preocupación de los especialistas en el área de salud conlleva a utilizar terapias alternativas que coadyuven en las terapias convencionales científicamente comprobadas.

La resistencia antibacteriana es un problema que pone en peligro la salud de los individuos que requieren tratamiento especializado como en el caso de infecciones producidas por el *Staphylococcus aureus*, entre ellas, que a futuro conllevan a problemas mayores como discapacidad e inclusive la muerte del paciente, es por ello los profesionales de la Salud, entre ellos el Químico Farmacéuticos debieran orientar a los pacientes, tomar conciencia del uso

racional de medicamentos, especialmente antimicrobianos, y evitar la automedicación.

Los productos naturales como la apitoxina con evidencia científica serían una alternativa terapéutica siempre y cuando reúnan las condiciones y concentraciones óptimas para uso humano.

- Justificación Práctica

Con el uso de apitoxina comercial de *Apis mellifera* se podría iniciar tratamiento a los pacientes que adquirieron este tipo de infección e ir rescatando los beneficios del uso de recursos naturales de origen animal que no atentan contra la salud, que sean cien por ciento naturales y que presenten menos efectos adversos en comparación con la medicina convencional. Así mismo, respetando las normas de conservación y preservación de la especie insectaria.

Esta investigación permitirá que el costo sea accesible en personas de bajos recursos económicos, en comparación con los productos farmacéuticos. La nueva formulación farmacéutica estaría concatenado con grandes ventajas terapéuticas y complementarias, estarán diseñadas para disminuir la incidencia de infecciones microbianas desde la atención primaria en salud.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes Internacionales

En el año 2017, el investigador Arciniega, J. et al, realizaron un trabajo experimental sobre “*Acción in vitro de la apitoxina en enterobacterias de mayor prevalencia patógena procedente de cobayos*”. El objetivo fue evaluar la acción inhibitoria de la apitoxina a diferentes concentraciones sobre el crecimiento bacteriano de enterobacterias de mayor prevalencia patogénica en cobayos. El método utilizado fue de difusión en disco. En la ejecución de los antibiogramas se utilizó dosis diferentes, D1: 0.55, D2: 0.60 Y D3: 0.65 miligramos de apitoxina por mililitro de agua destilada y como testigo positivo 0.15 miligramos de tetraciclina (T) por mililitro de agua destilada. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: las colonias de *Escherichia coli* T=

0.97 mm, D2=0.91 mm y D3=0.97 mm, *Salmonella sp* T=0.95 mm, la D2=0.93 mm y la D3=0.97 mm y *Yersinia sp.* T=1.0 mm, la D2=0.7 mm y la D3=0.7 mm. Los autores indicaron que todas las diluciones de apitoxina obtuvieron una función similar a la tetraciclina, pero algunas tuvieron índices más altos de acción bacteriostática sobre la población bacteriana en comparación con el antibiótico tetraciclina como control positivo de todas las bacterias obtenidas en este estudio⁴.

En el año 2017 Picoli T. et al, realizaron una investigación sobre “*Melitina y su potencial en la destrucción e inhibición de la formación de biopelículas por Staphylococcus aureus, Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa aisladas de leche bovina*”. El objetivo fue evaluar la actividad antibacteriana de la melitina y antibiopelícula de *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* de cepas de microorganismos aislados de la leche bovina. El método utilizado fue microdilución en caldo para hallar la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima bactericida (MBC). Las biopelículas se formaron en placas de 96 pocillos y se añadió melitina en estas colonias a diferentes concentraciones y tiempos. Las bacterias previamente expuestas a la melitina se evaluaron para la inhibición de la producción de biopelículas. El resultado que se obtuvo para el MIC y MBC: *S. aureus* (6-7 y 32-64), *E. coli* (40-42.5 y 64-128) y *P. aeruginosa* (65-70 y 64-128) respectivamente expresados en µg/mL. En conclusión, los autores indican que la melitina presenta los efectos deseables en la lucha contra los microorganismos estudiados, tanto su disposición, destrucción de la biopelícula y la inhibición de la formación, así mismo permitirá utilizar en futuros estudios de nuevas estrategias para combatir las infecciones causadas por estos patógenos⁵.

En el año 2017, Sang MH et al, realizaron una investigación sobre “*Actividad antibacteriana in vitro del veneno de abeja purificada recopilada de abeja (Apis mellifera L.) frente a Helicobacter pylori en trabajadores*”. El objetivo fue evaluar el efecto antimicrobiano del veneno de abeja purificada (PBV) contra *Helicobacter pylori*, que se sabe causa úlcera gástrica y cáncer de estómago. El método utilizado por el autor fue Difusión en disco, la actividad

antimicrobiana se evaluó mediante la MIC y MBC y el ensayo de tiempo-muerte de PBV contra *H. pylori*. Como resultado no hubo diferencias significativas en la actividad antibacteriana entre amoxicilina (control positivo) y PBV que tienen una MIC de 0.13 ± 0.036 ug/mL además se encontró que el tratamiento con PBV inhibe significativamente el crecimiento de *H. pylori* después de 4 horas. Se observó la morfología de dicha bacteria mediante microscopio electrónico de barrido (SEM). En conclusión, los autores indican que el *H. pylori* tratado con PBV también mostró que la pared celular y la membrana celular se destruyeron por completo, y todos los componentes celulares se filtraron, lo que provocó la desaparición de la forma bacteriana. Dichos resultados sugieren que el PBV tiene efectos inhibidores significativos sobre *H. pylori* y, por lo tanto, puede ser un candidato potencial contra *H. pylori*⁶.

En el año 2016, Zolfagharian H. et al, realizaron una investigación sobre “*El veneno de abeja (Apis mellifera), una alternativa de potencial eficaz a la gentamicina para cepas de bacterias específicas*”. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la actividad antibacteriana del veneno de abeja (BV) contra cepas bacterianas Grampositivas y Gramnegativas seleccionadas, de importancia médica. El método utilizado fue difusión en disco, utilizado para evaluar la actividad antibacteriana contra seis tipos de bacterias positivas y negativas, incluyendo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia mallei* y *Burkholderia pseudomallei*. Se probaron tres concentraciones de discos de VB bruto: 25, 35 y 45 ug/mL y antibiótico estándar (gentamicina) como control positivo. En los resultados se encontró que el veneno de abeja tiene un efecto antibacteriano significativo a las tres concentraciones probadas. La concentración de veneno de 45 µg de apitoxina natural mostró la zona de inhibición más alta contra *Escherichia coli* (32.46 ± 0.67), *Staphylococcus aureus* (15.51 ± 1.077) y *Salmonella typhimorium* ($15/88 \pm 0/73$), sin embargo el veneno de abeja no tuvo efecto notable contra las otras bacterias. En conclusión los autores indican que el veneno de abeja inhibe el crecimiento y la supervivencia de cepas bacterianas y que este puede usarse como agente antimicrobiano complementario contra bacterias patógenas⁷.

En el 2016, Sang MH et al, realizaron una investigación sobre “*Actividad antibacteriana y efectos potenciadores de antibióticos del veneno de abeja mellifera contra Staphylococcus aureus resistente a meticilina*”. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad *in vitro* del veneno de abeja (BV), solo o en combinación con ampicilina, penicilina, gentamicina o vancomicina, sobre el crecimiento de cepas de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (MRSA). El método que utilizaron fue microdilución en caldo, se midió la MIC, MBC y un ensayo de eliminación en el tiempo. Estas sirvieron para medir la actividad antimicrobiana del BV. Los resultados obtenidos en la presente investigación correspondieron a la MIC de BV fueron 0.085 ug/mL y 0.11 ug/mL contra MRSA 3366 y MRSA 3708 respectivamente. El MBC de BV contra MRSA 3366 fue de 0.106 ug/mL y el MRSA 3708 fue de 0.14 ug/mL. La actividad bactericida de BV correspondió a una disminución de al menos 3 log CFU/g células. La combinación de BV con ampicilina ó penicilina produjo una MIC que oscila entre 0.631 y 1.002 ug/mL lo que indica que un efecto sinérgico parcial e indiferente, en comparación con la ampicilina ó penicilina, ambas cepas de MRSA fueron más susceptibles a la combinación de BV con gentamicina o vancomicina. En conclusión los autores indican que estos resultados sugieren que el BV exhibía actividad antibacteriana y efectos potenciadores de antibióticos contra cepas de MRSA. El gen ALT se incrementó en MRSA expuestos a BV que dice que la división celular se interrumpió. El BV garantiza una mayor investigación como agente antimicrobiano natural y sinérgico de la actividad antibiótica⁸.

En el año 2015 Choi J. et al, realizaron una investigación sobre “*Melitina, un péptido derivado de veneno de abeja mellifera, puede dirigirse a Staphylococcus aureus resistente a la meticilina*”. El objetivo fue evaluar el veneno de abeja y su principal componente activo, la melitina, en términos de sus actividades antibacterianas y la protección *in vivo* contra infecciones por *Staphylococcus aureus* *meticilino resistente*. El método utilizado para esta investigación fue microdilución en caldo. Para evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del veneno de abeja primero se halló la MIC, se indujo la infección a ratones CD1 mediante inoculación subcutánea volúmenes de suspensión USA

300 (10^6 CFU/mL) en agar PBS, posteriormente, el veneno de abeja, la melitina (purificado o sintético; 100 μ g en 80 μ L PBS), o PBS estéril se aplicó una vez al día a cada lesión superficie. La progresión de la lesión se monitorizó a intervalos de 24 horas durante 10 días midiendo las dimensiones de la lesión con pinzas. Los resultados obtenidos indican que los ratones infectados ó inducidos con MRSA y que fueron tratados con veneno de abeja ó melitina, exhibieron recuperación de heridas de la piel infectadas. En conclusión los autores demuestran por primera vez, que la melitina puede usarse como un agente antimicrobiano prometedor para mejorar la curación de las heridas inducidas por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente⁹.

En el año 2015 Al-Aní l et al, realizaron una investigación sobre la “*Sinergia Farmacológica de veneno de abeja y melitina con antibióticos y metabolitos secundarios de plantas contra patógenos microbianos resistentes a múltiples fármacos*”. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad de veneno de abeja y su componente principal, la melitina, sola o en combinación de dos fármacos y tres fármacos con antibióticos (vancomicina, oxacilina y amikacina) ó metabolitos secundarios de plantas antimicrobianas (carvacrol, isotiocianato de bencilo, los alcaloides sanguinaria y berberina) contra patógenos microbianos sensibles a los medicamentos y resistentes a los antibióticos. El método utilizado fue microdilución en caldo y consistió en hallar la MIC y MBC, mientras que las interacciones sinérgicas ó aditivas se evaluaron por el método de dilución en tablero de ajedrez y ensayo de curva de tiempo-matar. Los resultados indican que el veneno de abeja y la melitina exhibieron un amplio espectro de actividad antibacteriana contra 51 cepas de bacterias Gram positivas y Gram negativas con fuerte actividad anti-MRSA y anti-VRE (valores de MIC entre 6 y 800 μ g/mL). Carvacrol mostró actividad bactericida, mientras que Isotiocianato de Bencilo (BITC) exhibió actividad bacteriostática contra todas las cepas de MRSA y *Enterococcus faecalis* (VRE) probadas (cepas de referencia y aislados clínicos). El ADN alcaloide intercalante sanguinaria mostró actividad bactericida contra MRSA NCTC 10442 (MBC 20 μ g/mL), mientras que berberina exhibió actividad bacteriostática contra MRSA NCTC 10442 (MIC 40 μ g/mL). Las pruebas de dilución en tablero de ajedrez revelaron sobre todo sinergismo de

combinaciones de dos fármacos contra todos los microorganismos evaluados con índices de concentración inhibitoria fraccional (FIC) entre 0,24 y 0,50. En los ensayos de eliminación del tiempo, las tres combinaciones de fármacos exhibieron un potente efecto sinérgico bactericida contra *MRSA* NCTC 10442, *VRE* ATCC 51299 y *Escherichia coli* ATCC 25922 con una reducción de más de 3 log¹⁰ en el recuento de colonias después de 24 horas. En conclusión los autores indican que el Veneno de Abeja y la melitina mejoran sinérgicamente el efecto bactericida de varios agentes antimicrobianos cuando se aplican en combinación, especialmente cuando los fármacos afectan a varios objetivos moleculares diferentes. Estos resultados podrían conducir al desarrollo de fármacos antibacterianos novedosos y complementarios contra patógenos MDR¹⁰.

En el año 2015, Leandro F.L et al, realizaron una investigación sobre la “*Actividad antimicrobiana de la Apitoxina, Melitina y Fosfolipasa A₂ del veneno de la abeja (Apis mellifera) contra patógenos orales*”. El objetivo fue evaluar el potencial antibacteriano de la apitoxina (*Apis mellifera*) y de los componentes principales de esta, como la fosfolipasa A₂, melitina, solos y en combinación; frente a los causantes de caries dental. El método utilizado fue microdilución en caldo y consistió en hallar la concentración mínima inhibitoria (MIC) de apitoxina en forma natural y en la forma comercialmente disponible. Se probaron las siguientes bacterias: *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus Sobrinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus anguinis*, *Lactobacilos casei* y *Enterococcus faecalis*. Los resultados obtenidos de la MIC para la apitoxina comercialmente disponible y para la apitoxina natural fueron entre 20 y 40 µg/mL, lo cual indicó una buena actividad antibacteriana. La melitina fue el componente más activo en la apitoxina; mostró valores MIC muy prometedores, de 4 a 40 µg/mL. La fosfolipasa A₂ presentó valores superiores a 400 µg/mL. La asociación de melitina con fosfolipasa A₂ arrojó valores que oscilaron entre 6 y 80 µg/mL. En conclusión, los autores indican que teniendo en cuenta la caries dental con la salud de las personas, la apitoxina y sus componentes tienen un potencial de aplicación contra patógenos orales¹¹.

En el año 2014, Lee WR et al realizaron una investigación sobre “*Los efectos protectores de la melitina sobre las respuestas inflamatorias inducidas por Propionobacterium acnes in vitro e in vivo*”. El objetivo fue evaluar el efecto antimicrobiano de la melitina (péptido antimicrobiano derivado del veneno de abeja de *Apis mellifera*) en la producción de citosinas inflamatorias en células HaCaT inducidas por *P. acnes* muertas por calor. La metodología utilizada para este estudio fue de tipo experimental *in vivo*, para lo cual se utilizaron ratones. Los resultados obtenidos fueron que los queratinocitos tratados con *P. acnes* matados por calor aumentaron la expresión de citosinas proinflamatorias y el receptor tipo 2 toll. Sin embargo con melitina suprimió significativamente la expresión de estas citosinas mediante la regulación de las rutas de señalización NF-Kb y MAPK. Posteriormente, los *P. acnes* vivos (1×10^7 UFC) se inyectaron intradérmicamente en la oreja de los ratones. Las orejas inyectadas por *P. acnes* vivas mostraron eritema cutáneo, tumefacción y respuesta granulomatosa a las 24 horas después de la inyección. Sin embargo, las orejas tratadas con melitina mostraron una hinchazón notablemente reducida y respuestas granulomatosas en comparación con las orejas inyectadas con solo *P. acnes* vivos. En conclusión los autores indican que estos resultados demuestran la viabilidad de aplicar melitina para la prevención de enfermedades inflamatorias de la piel inducidas por *P. acnes*¹².

En el año 2013, Han S.M et al realizaron una investigación sobre “*Efectos de los cosméticos que contienen veneno de abeja melífera purificada (Apis mellifera L) en el acné vulgar*”. El objetivo fue evaluar el efecto antibacteriano del veneno de abeja purificado y acceder a la eficacia de los cosméticos que contienen PBV en sujetos con acné vulgar. La metodología utilizada para este estudio se basó en trabajarlo directamente sobre pacientes (*in vivo*), un total de 12 sujetos se aleatorizaron en una prueba control a doble ciego para recibir los cosméticos que contenían PBV ó cosméticos sin PBV durante dos semanas. Las evaluaciones incluyeron recuento de lesiones y microorganismos cutáneos. La bacteria *Propionobacterium acnes* se incubó con veneno de abeja purificado (PBV) a diversas concentraciones y se evaluó el crecimiento bacteriano usando el ensayo de la unidad de formación de colonias (UFC). El mecanismo de PBV empleado para matar *P. acnes* se examinó mediante microscopía electrónica de

barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Los resultados que se obtuvieron fueron que el PBV exhibió actividad antimicrobiana de una manera dependiente disminuyendo el número de CFU de *P. acnes*. Cuando la concentración de PBV acnés era superior a 1.0 mg, no se observaron colonias de *P. acnes* en un agar. En términos de disminución promedio de microorganismos de la piel, los sujetos que recibieron cosméticos que contenían PBV experimentaron una disminución significativa del 57.5 % de los niveles de adenosina trifosfato, mientras que los participantes que recibieron cosméticos sin PBV experimentaron una disminución significativa del 4.7 %. En conclusión los autores indican que los resultados muestran que las acciones *in vitro* de la actividad antimicrobiana de PBV se tradujeron *in vivo*. Los cosméticos que contienen PBV proporcionan un cierto grado de eficacia en términos de recuentos de lesiones y concentración de microorganismos de la piel en comparación con los cosméticos sin PBV en sujetos con acné vulgar. PBV puede ser un buen compuesto candidato para desarrollar un medicamento terapéutico para el tratamiento del acné vulgar¹³.

En el 2012, Dosler S. y Gerceker realizaron una investigación sobre “*Actividades in vitro de péptidos catiónicos antimicrobianos; Melittin y Nisin, solo o en combinación con antibióticos, contra bacterias Gram positivas*“. El objetivo fue evaluar las actividades *in vitro* de dos péptidos antimicrobianos, melitina, solo ó en combinación con antibióticos de uso frecuente (daptomicina, vancomicina, linezolid, ampicilina y eritromicina) la nisina, se evaluaron frente a aislados clínicos y de sensibles a la meticilina de *Staphylococcus aureus resistente a la meticilina* y *Enterococcus faecalis*. Utilizaron el método de microdilución en caldo que consistió en hallar la MIC. Los resultados obtenidos para la MIC de melitina y nicina contra todas las cepas fueron 2-8 ug/mL y 2-32 ug/mL respectivamente. En estudios combinados realizados con el método del tablero de ajedrez de microdilución usando un índice de concentración inhibitoria fraccional menor o igual a 0.5 como límite, las interacciones sinérgicas ocurrieron con mayor frecuencia con la combinación nisina-ampicilina contra MSSA y la combinación de nisina-daptomicina contra cepas de *E. faecalis*. En conclusión los autores demuestran la actividad bactericida dependiente de la concentración de nisina y esa

sinergia temprana se detectó en la mayoría de las cepas cuando se usó nisina ó melitina¹⁴.

En el 2010, San Mi H. et al, realizaron estudios acerca de los “*Efectos antibacterianos y antiinflamatorios del veneno de la abeja (Apis mellifera) contra bacterias inductoras del acné*”. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la propiedad antimicrobiana del veneno de abeja (BV) de *Apis mellifera L.* contra agentes etiológicos del acné vulgaris. El método fue microdilución en caldo y consistió en hallar el efecto antimicrobiano utilizando la concentración mínima inhibitoria (MIC), incubación de las bacterias de la piel *P. acnes*, *P. acnes* resistente a clindamicina, *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus pyrogenes*. Los resultados que se obtuvieron fueron; valores de la MIC de BV de 0.086 ug/mL, 0.067 ug/mL, 0.104 ug/mL y 0.121 ug/mL contra *P. acnes*, *P. acnes* resistente a clindamicina, *S. epidermidis*, *S. pyrogenes*, respectivamente. En los estudios de tiempo muerte, BV fue de acción bacteriostática en acción. El BV exhibió baja toxicidad a 10 ug/mL en queratinocitos y monocitos epidérmicos humanos. También se exhibió efectos antiinflamatorios por reducción de la secreción de *P. acnés* de IL-8 y TNF-alfa en células THP-1. En conclusión los autores indican que el BV tiene actividad antimicrobiana y antiinflamatoria contra *P. acnes*, y sugiere su uso como tratamiento alternativo en la terapia con antibióticos del acné vulgar¹⁵.

En el 2010, Téllez G. et al realizaron estudios acerca de los “*Péptidos antimicrobianos*” (componentes del veneno de la abeja). El objetivo de este estudio fue encontrar péptidos antimicrobianos alternativos frente a la resistencia de los microorganismos de los antibióticos convencionales. El entendimiento de este tipo de sustancias enseña una fuente prácticamente inagotable de péptidos antimicrobianos en la naturaleza, para ser evaluados en busca de potenciales medicamentos y contrarrestar la resistencia microbiana a los antibióticos actuales. El método utilizado consistió en la búsqueda de información en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCIB) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) con el descriptor principal: péptido catiónico antimicrobiano de acuerdo con el MeSH (Medical Subject Headings). Los resultados que se obtuvieron en los últimos

cinco años son 4.746 referencias, de las cuales se hizo una selección de acuerdo con la lectura de los resúmenes. Se escogieron los que mejor cubrían los aspectos de los mecanismos de acción, producción y uso clínico, se obtuvieron los artículos completos de éstos. En conclusión, los autores indican que las propiedades antimicrobianas, físicas y el éxito evolutivo, hacen de los Péptidos Catiónicos, sustancias ideales para el desarrollo de futuras aplicaciones terapéuticas. Sin embargo, a pesar de la gran cantidad de conocimientos adquiridos en la descripción de los péptidos, existen muchas áreas que permanecen controversiales.

2.2. Base teórica

2.2.1. Apitoxina (*Apis mellifera*)

“La apitoxina, es una mezcla compleja de compuestos químicos, conocida como veneno de abejas, es secretada por las obreras de varias especies de abejas, utilizada como medio de defensa contra predadores y en el combate entre ellas mismas, mediante un ovopositor modificado, conocido como aguijón barbado de 2 mm de largo, puntiagudo y 0.1 mm de diámetro, en el estilete existen varios dientes de 0.03 mm de longitud. En estado líquido, recién extraído, tiene naturaleza ácida y alcalina⁴³.

Cuando el aguijón es introducido en la piel, la abeja inyecta 0.3 mg de veneno líquido aproximadamente por cada aguijoneada, en cambio cuando lo cosechamos en trampas especiales, una parte se solidifica (0.1 mg) y las dos terceras partes de agua, se evaporan (0.2 mg)⁴³.

La Hialuronidasa presente aumenta la permeabilidad, disminuye el ritmo cardíaco y la presión arterial, por ello se le considera una neurotoxina⁴².

La fracción MCD (Péptidos de granulador de mastocitos) tiene acción antiinflamatoria, su estructura es similar a la apamina, interviene en la liberación de histamina, incrementa la permeabilidad capilar. La presencia de heparina bloquea la acción tóxica del péptido, además, libera ciclooxigenasa y participa en la síntesis de prostaglandinas⁴².

“la apitoxina no forma anticuerpos en el cuerpo humano”.

También se le confieren otros componentes a la apitoxina como se muestra en la siguiente tabla.

2.2.2. Componentes de la Apitoxina

Tabla 1: Acción de los componentes de la Apitoxina

| | |
|--|---|
| Apamina | Polipéptido básico de acción neurotóxica. En el veneno entero actúa como vasomotor, incrementando discretamente la permeabilidad de los vasos. |
| Melitina | Polipéptido de acción hemolítica, en el veneno entero, solo ejerce acción vasomotora, moderada acción antibacteriana y antifúngica. |
| Hialuronidasa | Enzima que participa en la hidrólisis del ácido hialurónico de los tejidos. Confiere permeabilidad a los vasos "abriendo camino a los demás componentes del veneno". |
| Histamina | Participa como vasodilatador de los vasos sanguíneos. |
| Fosfolipasa A2 | Enzima de acción citolítica en cantidades apropiadas, por ataque a los fosfolípidos de las membranas celulares, con producción de liso fosfolípidos. Posee actividad antibacteriana y antivírica. |
| Fosfolipasa B | Acción similar al anterior |
| Péptido MCD (Mast Cell Degranulation) | Son péptidos de los mastocitos ó de granulador de mastocitos, selectivamente incrementa la permeabilidad capilar. |
| Minimina | Péptido básico de acción similar a la Fosfolipasa. |

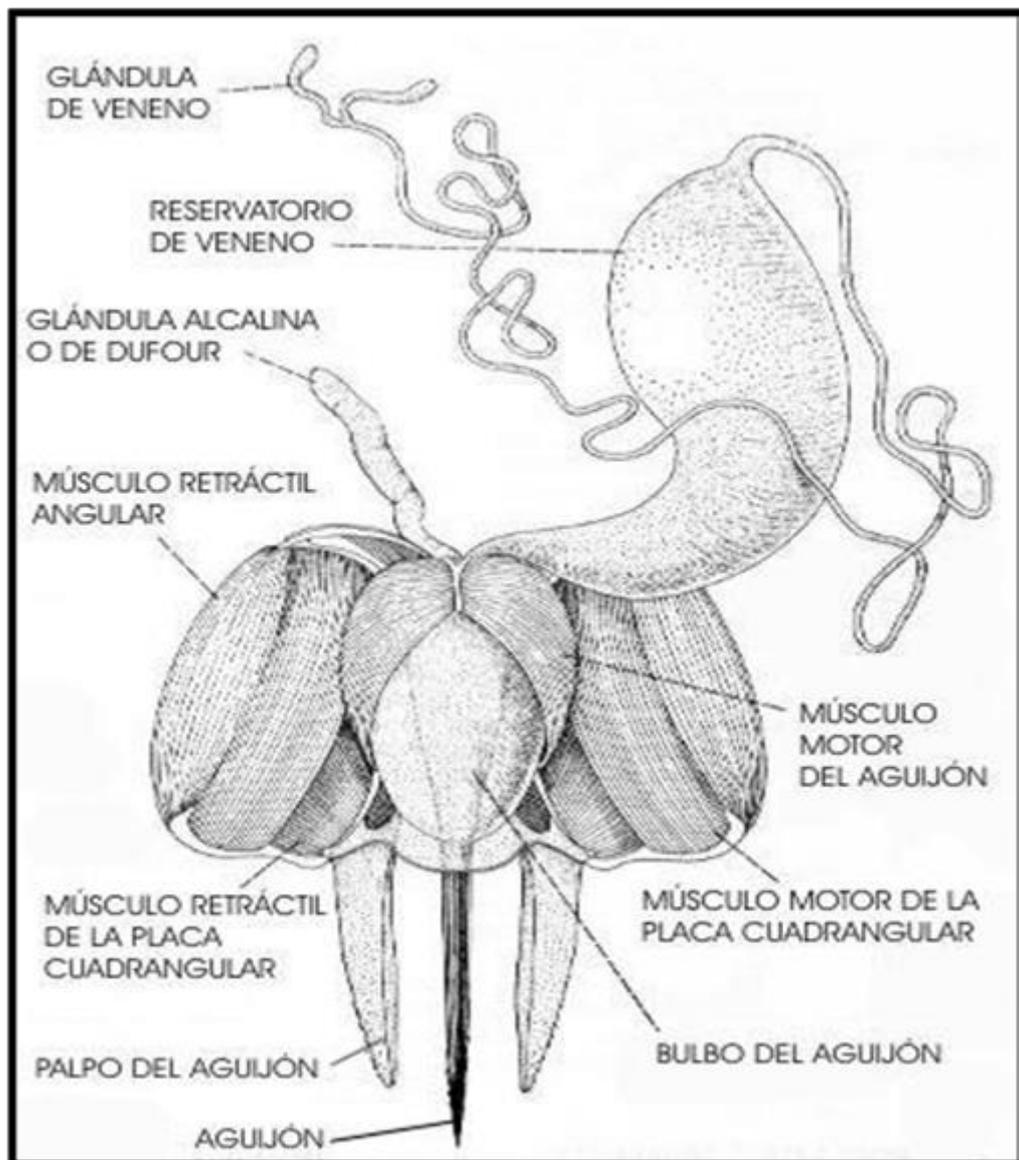
2.2.3. Actividad biológica de la Apitoxina (*Apis mellifera*)

Las propiedades terapéuticas del veneno de abeja, son el resultado de la suma de propiedades de las fracciones que la componen, de la interacción de todas y cada una de ellas, y del equilibrio biomolecular que existe entre sus componentes

La apitoxina posee, según los estudios realizados, varias acciones terapéuticas:

1. Antiinflamatoria
2. Analgésica
3. Antiarrítmica
4. Cardiotónica
5. Vasomotora
6. Hipotensora
7. Fibrinolítica
8. Antiagregante plaquetario
9. Eritropoyética
10. Inmunoactivante
11. Radioprotector
12. Antibiótica
13. Antiviral
14. Antitumoral⁴².

Figura 1: Aparato del aguijón y glándulas secretoras de la Abeja.



Fuente: De Felice LJ. PJ. Apitoxina. In 01, editor. Preparados, especificaciones y farmacología. Buenos Aires: Ediciones Argentinas y Americanas; 2012. p.26

Tabla 2: Características de los componentes químicos de la Apitoxina

| Componente | Observaciones |
|-------------------------------|---|
| Melitina | Fracción F1, integrada por 13 aminoácidos: Leucina, Glicina, Alanina, Isoleucina, Treonina, Lisina, Arginina, Acido glutámico, y otros. La fracción F1 tiene efecto hemolítico. |
| Fosfolipasa A e hialuronidasa | Fracción F2, integrada por 18 aminoácidos, principalmente lisina y arginina. La fracción F2 tiene un efecto Hemolítico indirecto. |
| Proteínas | Adolapina, Apamina, Catecolamina, Histamina |
| | Histidina, Noradrenalina, péptido 401, Péptido MCD, Secrapina, Tetrapina |
| Otros autores | Histamina, dopamina, serotonina, oligopéptido (Melitina) y proteninas con actividad enzimática (Fosfolipasa).* |

Fuente: De Felice LJ. PJ. Apitoxina. In 01, editor, preparados, especificaciones y farmacología. Buenos Aires: Ediciones Argentinas y Americanas; 2012. p.44

*Revisado por Foreman-Wykert et al., 1999; Leandro et al., 2015.

Tabla 3: Propiedades fisicoquímicas de la Apitoxina

| Parámetro | Característica |
|-------------------------|--|
| Gravedad específica | 1.1316 |
| pH | Reacción ácida |
| Solubilidad | -En agua. -Insoluble en alcohol. -Soluciones acuosas inestables de marcada descomposición bacteriana. -Se ha probado su estabilidad en glicerina. |
| Efectos Térmicos | -Unidades de rápido secamiento a la temperatura ambiente. Soporta 100°C durante 1 hora o Unidades durante 10 días sin perder su poder. |
| Estabilidad Química | -Presenta Unidades de actividad reductora frente al permanganato de potasio, bicromato de potasio, bromo, cloro y peróxido de hidrogeno. Desnaturalizada por amoniacó, ácido pícrico y dicromato de potasio. |
| Estabilidad Enzimática | Las pepsinas, pancreatina, renina y vegetales papaína, papayotina reducen su actividad. |
| Unidades Convencionales | Una abeja soporta en la aguijoneada unos 0.0010 mg de Apitoxina seco (0.25-0.35 Apitoxina líquida). A esto se le llama unidad convencional. |

Fuente: De Felice LJ. PJ. Apitoxina. In 01, editor. Preparados, especificaciones y farmacología. Buenos Aires: Ediciones Argentinas y Americanas; 2012. P.44-45

2.2.4. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus, fue descubierto a inicios del año 1880 en Escocia, por el cirujano Alexander Ogston, es una bacteria reconocida como agente patógeno, causa principal de varias infecciones a nivel comunitario y hospitalario. El interés actual del estudio de esta bacteria es la resistencia a la meticilina. El ambiente da origen a este tipo de infecciones, así como los mecanismos de resistencias por las cepas bacterianas al cloranfenicol, tetraciclina, macrólidos, lincosaminas, aminoglucósidos, incluso quinolonas. Se reconoce brotes de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina pero sensibles a los glucopeptidos¹⁷.

La enfermedad estafilocócica origina enterotoxinas termoestables, como consecuencia, intoxicaciones alimentarias, generalmente se dan brotes en verano, es transmitida a través de los alimentos preparados en condiciones no óptimas donde se encuentra la mayor contaminación bacteriana. Es una bacteria anaerobia facultativa, se forma en colonias, de color amarillo dorado, microscópica, tiene forma de cocos en racimos, es Gram positiva, en su composición contiene Guanina más Citosina en su ADN de 30 a 40 % respectivamente. Por lo general, son cepas productoras de coagulasa y termonucleasa positiva, cuando se cultivan en placas de agar sangre presentan hemólisis. El ser humano es portador entre un 20 y un 40%, no presenta síntomas, porque forma parte de la flora normal de muchos sitios del organismo como la piel, tracto gastrointestinal y nasofaringe.

Según la clasificación existen cerca de 38 especies, solo 18 de ellas han sido reportadas en alimentos, otras en la piel, por el contacto con el pus específicamente, a la producción de hialuronidasa que destruye los tejidos, así mismo por el contacto con objetos como toallas, sábanas, ropa o material deportivo utilizado por una persona infectada. Las infecciones pueden ser graves y poner riesgo la vida del ser humano, en particular, la artritis séptica, endocarditis (infección de las válvulas del corazón) y la neumonía. Otras cepas de *Staphylococcus aureus* producen endotoxinas que originan gastroenteritis. Los síntomas presentes son náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal.

Es uno de los agentes patógenos que causa la “Mastitis” y puede ser causa de muerte en vacas lecheras. Esta cepa desprotege el sistema inmunológico de este animal¹⁹.

Se le clasifica según la secreción de toxinas, en tres grupos:

- Toxina pirogénica.**- se complica con el síndrome del shock tóxico (TSS).
- Toxinas Exfoliativas.**- relacionadas a enfermedades de piel como las escaldaduras.
- **Otras toxinas.**- comprende la toxina alfa, beta, delta y otras las cuales se relacionan con infecciones severas²⁰.

2.2.5. Epidemiología

El *Staphylococcus aureus* es una bacteria resistente y con tiempo de vida larga, puede permanecer viable en el ambiente de donde llega al ser humano y desde ahí transmitirse a otros individuos¹⁷.

Ciertos condicionantes predisponen al portador a desarrollar la enfermedad, entre ellos, uso de agujas contaminadas, padecer diabetes, alergias, necesitar hemodiálisis, ser consumidor de estupefacientes, enfermedades crónicas de la piel (psoriasis, eczemas ó dermatitis atópica). La infección compromete zonas vulnerables debido a la alteración de la barrera mucocutánea a causa de lesiones de diversa naturaleza¹⁷.

2.2.6. Prevención

Se prioriza:

- Lavado de manos.
- Uso de delantales, gorros y mascarillas.
- Uso de guantes desechables del personal de salud y manipuladores de alimentos.

Además es necesario el uso de desinfectantes tópicos eficaces como el alcohol, amonio cuaternario y la combinación de ambos para aumentar la duración de la acción desinfectante, incluir lavados antisépticos con champús que contengan

clorhexidina y la aplicación de ungüentos tópicos con antibióticos como mupirocina o neomicina en orificios nasales.

-Uso de indumentaria adecuada y correcta por parte del personal hospitalario, así mismo de los manipuladores de alimentos disminuirá la transmisión de esta infección bacteriana.

-Mejoramiento en el saneamiento de los centros nosocomiales incluyendo la limpieza de rutina y del traslado correcto de residuos¹⁷.

2.2.7. Tratamiento

El tiempo que dura el tratamiento dependerá de la gravedad y el sitio de infección, sin embargo la elección de antibióticos para infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* comprende a las Penicilinas, aunque en varios países la penicilina resistente es muy común, debido a que la mayoría de cepas de dicha bacteria producen betalactamasas que inhiben su acción y requieren antibióticos como cefalosporinas y carbapenemos, así mismo, considerar que las cepas de *Staphylococcus aureus* son resistentes a los aminoglucósidos (gentamicina), lincosaminas (clindamicina) y macrólidos (eritromicina)¹⁷.

Dichos antibióticos no deben prescribirse solos porque se vuelven resistentes, pueden ser de utilidad si se asocian a vancomicina, tanto para infecciones osteoarticulares, endocarditis o meningitis, debido a su mejor distribución tisular¹⁷.

2.2.8. Mecanismos de resistencia a los antibióticos

1. Inactivación del antibiótico.
2. Alteración del sitio blanco del antibiótico.
3. Barreras de permeabilidad

Estos tres mecanismos pueden darse simultáneamente.

Desde un comienzo fueron creadas nuevas sustancias capaces de controlar estas bacterias, posteriormente aparecieron los aminoglucósidos, macrólidos y glicopéptidos, etc. Hoy en día es insuficiente porque aparecen mecanismos que no son fáciles de controlar por estos fármacos.

Los microorganismos patógenos resistentes a los antibióticos es mucho mayor y el desarrollo de nuevos antibióticos que combatan estos mecanismos es muy lento.

Principales mecanismos de resistencia a aminoglucósidos:

- La modificación de enzimas aminoglucósidos.
- Las mutaciones ribosomales.
- La expulsión activa de la droga por la bacteria.

La resistencia a los glucopéptidos está mediada por la adquisición del gen van A en infecciones hospitalarias y de la comunidad causadas por *Staphylococcus aureus*, se tratan con antibióticos no betalactámicos como la clindamicina y cotrimoxazol o sulfametoxazol/Trimetoprim.

También es utilizado debido a su disponibilidad por ser de administración oral el Linezolid. En la actualidad las infecciones por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente son tratados con antibióticos de primera línea que son los glicopéptidos como la vancomicina y teicoplanina. Existen inconvenientes con estos antibióticos debido a que solo existen por vía intravenosa y que los pacientes tienen que controlarse con regularidad mediante exámenes de sangre. Los glucopéptidos no deben utilizarse para infecciones del cerebro: meningitis y endocarditis, es una preocupación ya que no penetran muy bien a los tejidos infectados¹⁷.

2.2.9. Antibióticos betalactámicos

Los antibióticos betalactámicos son productos de uso frecuente, tienen una estructura y mecanismo de acción en común, farmacológicamente su acción es inhibir la síntesis de la pared de peptidoglucano de la bacteria. Tenemos a las penicilinas G y V, muy activas contra cocos Gram positivos sensibles, penicilinas resistentes a penicilinasas, como la nafcilina, con efectos contra *Staphylococcus aureus* productores de penicilinasas; ampicilina²¹.

Las cefalosporinas se clasifican por “Generaciones”; la primera generación incluyó compuestos con actividad contra microorganismos Gram positivos, pero moderada contra Gram negativos; la segunda generación comprendió

productos con actividad un poco mayor contra Gram negativos y algunos medicamentos con efectos contra anaerobios; la tercera generación tiene compuestos con menor actividad contra Gram positivos y posee acción mucho más intensa contra *Enterobacteriaceae*²¹.

Los inhibidores de betalactamasa como el clavulanato, se utilizan para ampliar el espectro de las penicilinas contra microorganismos productores de dicha enzima. Los carbapenemos poseen el espectro antimicrobiano más amplio entre todos estos antibióticos, en tanto que los monobactámicos tienen un espectro contra Gram negativos que se asemejan al de los aminoglucósidos.

La resistencia bacteriana a los betalactámicos sigue en aumento con un ritmo impresionante²¹.

2.2.9.1. Mecanismo de acción de los betalactámicos

El efecto bactericida de las penicilinas, cefalosporinas y compuestos relacionados incluyen dos procesos:

- Inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana

Las bacterias sintetizan los peptidoglicanos mediante mecanismos muy complejos que involucran unas 30 reacciones enzimáticas; estas pueden resumirse en 3 etapas:

*I Etapa: síntesis de UDP-acetil –muramil-pentapeptido, se lleva a cabo en el citoplasma bacteriano.

*II Etapa: síntesis de cadenas lineales de penta péptido glicano, se lleva a cabo en la superficie interna de la membrana citoplasmática.

*III Etapa: Transpeptidación. Formación de enlaces transversales cruzados entre las cadenas de peptidoglicano. El peptidoglicano es “lanzado” a través de la membrana celular hacia el punto de crecimiento de la pared de la bacteria, donde se desarrolla la transpeptidación (Etapa final de la síntesis de la pared celular).

- Activación del sistema autolítico endógeno bacteriano

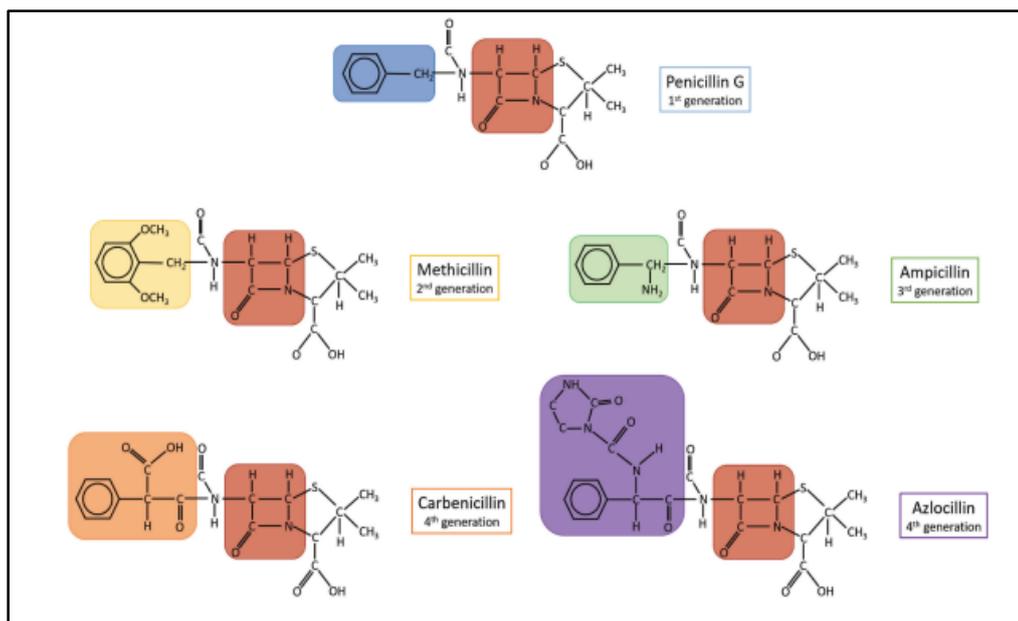
Actualmente se ha teorizado que el efecto bactericida de los betalactámicos en estos gérmenes dependerá, en última instancia, de la existencia de autolisinas en las bacterias susceptibles.

Esto parte de la observación que estos antibióticos solo inhiben el crecimiento de las bacterias que carecen de autolisinas, pero no la destruyen, por tanto, la bacteria permanece viable, éste fenómeno es conocido como “Tolerancia Bacteriana”, con ello se puede explicar la reaparición de una infección después de terminar un tratamiento eficaz.

2.2.10. Penicilinas

Las penicilinas son antibióticos que constituyen uno de los grupos de mayor importancia. Han surgido otros antimicrobianos, pero sigue siendo uno de los más importantes y de mayor uso, se siguen sintetizando nuevos derivados del núcleo penicilínico básico. Muchas de estas penicilinas tienen ventajas peculiares, y que por tal motivo estos fármacos son los más indicados para diferentes tipos de infecciones²¹.

Figura 2. Estructuras químicas de las Penicilinas



fuente: Lobanovska, M. et al (2017). Yale j. Biol.Med. 90(1): 135-145. Descubrimiento de la penicilina y resistencia a los antibióticos: ¿lecciones para el futuro? Biblioteca Nacional de medicina de Estados Unidos.

Las penicilinas tienen un núcleo químico común que viene a ser el ácido 6-amino penicilínico (6-APA o núcleo PENAN), constituido por 3 componentes: Un anillo de tiazolidina, un anillo betalactámico y una cadena lateral.

Se requiere que el anillo betalactámico permanezca íntegro para que el agente antimicrobiano mantenga sus propiedades. Por tanto, cualquier afección a dicha estructura afectará la capacidad del medicamento. Es esencial para que el agente conserve su actividad. Cualquier alteración a este nivel determina la pérdida de toda actividad antibacteriana significativa.

Las alteraciones en la cadena lateral pueden afectar el espectro antibacteriano, la resistencia a las enzimas producidas por los microorganismos (betalactamasas) y las características farmacocinéticas del antibiótico.

Existen diversas clasificaciones, pero la convencional establece la relación entre el origen de los betalactámicos con su estructura química, propiedades farmacocinéticas y espectro antibacteriano²².

Tabla4: Clasificación de las Penicilinas

| | Oral | Parenteral |
|---|---|--|
| Penicilinas Naturales (1 era Generación) | Penicilina Acido Resistente: -Fenoximetilpenicilina (penicilina V). -Fenoxietilpenicilina (feneticilina). | Penicilinas Ácido Sensibles: -De acción rápida: Penicilina G cristalina (acuosa), dentro de esta hay la Penicilina G Sódica y la Penicilina G Benzatínica -De acción Lenta: Penicilina G procaínica, Penicilina G clemizol, y Penicilina G Benzatínica. |
| Penicilinas Resistentes a la Penicilinas (2da Generación) | -Meticilina -Nafcilina -Isoxazolil penicilina (cloxacilina, dicloxacilina, flucoxacilina, oxacilina). | |
| Penicilinas de Espectro Ampliado | Aminopenicilinas (ampicilina, amoxicilina, bacampicilina, ciclacilina, epicilina, hepicilina, Pivampicilina, talampicilina) Penicilinas antipseudomonas -Carboxipenicilinas (de cuarta generación), (carbenicilina, indanilcarbenicilina, ticarcilina, temocilina (en investigación)). -Ureidopenicilina (de quinta generación).- (azlocilina, mezlocilina, piperacilina, apalcilina (en investigación)). -Amidinopenicilinas (de sexta generación).- (amdinocilina, pivamdinocilina, foramdinocilina (en investigación)). | |
| Penicilinas + Inhibidores de Betalactamasas | -Ampicilina + Sulbactam. -Amoxicilina + Ácido Clavulánico -Ticarcilina + Ácido Clavulánico -Piperacilina + Tazobactam | |

2.2.11. Farmacocinética de las Penicilinas

- a) **Vía de administración.-** Está determinada por la estabilidad de cada penicilina a la acidez gástrica, la tolerancia del paciente a la vía oral (VO) y la severidad de la infección. Muchas penicilinas son destruidas por el ácido gástrico y, por lo tanto son inapropiadas para uso oral, debiendo administrarse por vía parenteral.
- b) **Absorción.-** Muchas de las penicilinas que se administran por vía oral son incompletamente absorbidas del tracto gastrointestinal, la presencia de alimentos dificulta aún más la absorción.
- c) **Distribución.-** Las penicilinas alcanzan niveles séricos pico 1 o 2 horas luego de su ingestión.

No obstante por su escasa liposolubilidad, solo alcanza niveles mínimos en las secreciones, prostáticos, cerebro y líquido intraocular. Tampoco penetran en grado significativo en las células fagocíticas vivas.

Las penicilinas atraviesan escasamente la barrera hematoencefálica pero, cuando las meninges están inflamadas (meningitis), pueden alcanzar concentraciones terapéuticas en el líquido cefalorraquídeo. La inflamación altera las barreras orgánicas y favorece la entrada de las penicilinas pero, más importante es su acción interferente con la bomba aniónica que elimina las penicilinas del LCF (componente de fijación).

Todas las penicilinas atraviesan la barrera placentaria, pero ninguna parece poseer efecto teratogénico. Las penicilinas con baja ligazón proteica alcanzan niveles séricos fetales, equivalentes a los maternos luego de 30 a 60 minutos de inyección. Por el contrario, las penicilinas semisintéticas con alta fijación a las proteínas séricas alcanzan menores concentraciones, tanto en el líquido amniótico como en el suero fetal.

d) Metabolismo y Excreción

Las penicilinas son mínimamente metabolizadas ó biotransformadas en el organismo, se eliminan con rapidez por vía renal, en particular mediante filtración glomerular y secreción tubular. Esto explica la elevada concentración urinaria que alcanzan, y su corto tiempo de vida media que es unos 30 minutos para la Penicilina G y de unos 60 minutos para las penicilinas de espectro amplio, como excepción tenemos a la Temocilina, cuyo tiempo de vida media es de cuatro horas.

Esto también explica porque el tiempo de vida media aumenta en pacientes con insuficiencia renal, en quienes es necesario corregir la dosis para prevenir que se alcancen niveles séricos excesivos y toxicidad subsecuente.

En los neonatos la excreción renal de todas las penicilinas es menor que en los niños de mayor edad, ya que la función tubular renal aún no está totalmente desarrollada. En consecuencia las dosis de penicilina deben corregirse en neonatos y lactantes de bajo peso.

El probenecid bloquea la secreción tubular renal de las penicilinas, por lo tanto, incrementa sus niveles séricos y tiempo de vida media. El probenecid también

compite por sitios de unión con la albumina; en consecuencia, existe mayor proporción del antibiótico libre en presencia de probenecid.

e) Excreción hepática

La cantidad excretada por el hígado es mínima, dado que el sistema de transporte biliar es saturable, los niveles biliares no se elevan de forma significativa cuando aumenta en forma pronunciada la concentración sérica²².

2.2.12. Actividad Antimicrobiana Penicilinas Naturales

2.2.12.1. Penicilina G Cristalina (Bencilpenicilina)

La penicilina G es un antibiótico de espectro reducido de efecto bactericida, activo contra gran cantidad de Gram positivos y contra algunos Gram negativos.

Cocos Gram positivos: La Penicilina G es activa contra la mayoría de estreptococos, excepto los *enterococos* (*Streptococcus faecalis*).

-Son muy susceptibles: el *Streptococcus Viridans* (alfa hemolítico, principal causa de endocarditis infecciosa), y los *estreptococcus*, *Peptococcus*).

-Son muy resistentes el *Streptococcus faecalis* (enterococo) y más del 90% de cepas de *Staphylococcus aureus* (cepas productoras de penicilinas).

Cocos Gram negativos.- Es muy susceptible la *Neisseria meningitidis* (meningococo) y, actualmente en menor grado, la *Neisseria Gonorrhoeae* (gonococo) debido a la aparición de cepas productoras de penicilinas.

Bacilos Gram positivos.- Son muy susceptibles el *Corynebacterium diphtheriae* (bacilo de Loeffler), *Clostridium perfringes* (gangrena gaseosa). *Clostridium Tetani*, *Erisipelothrix rhseopathiae* (erisipeloide), *Bacillus anthracis* (carbunco), y *Listeria Monocytogenes*.

Bacilos Gram negativos.- *Leptotrichia buccalis*, *Fubacterium*, *Pasteurella multocida*, *Streptobacillus moniliformis* y algunas especies de Bacteroides.

Otros gérmenes.- Entre las espiroquetas susceptibles se encuentran el *treponema pallidum* (sífilis), el *Treponema pertenue* (pian), la *Leptospira* (enfermedad de Weil).

La Penicilina G también es activa contra *Actinomyces israelii* (un actinomiceto) y contra muchos anaerobios que forman parte de la flora oral (*Peptostreptococcus*, *Bacteroides melaninogenicus* y *Peptococcus*)²².

2.2.12.2. Penicilina V

El efecto de la Penicilina V contra cocos y bacilos Gram positivos es casi idéntico al de la Penicilina G pero, en cambio es mucho menos eficaz frente a gonococos y meningococos, lo cual reduce su aplicación.

2.2.12.3. Penicilinas de Depósito

Uno de los principales problemas con el uso de la Penicilina G cristalina es la necesidad de repetir la inyección cada 4-6 horas, lo que origina grandes molestias para el paciente.

Para subsanar este inconveniente se fabricaron las “Penicilinas de depósito” ó “de acción prolongada”, obtenidas al formar sales poco solubles con la Penicilina G: Penicilina G procaínica, Penicilina G clemizol y Penicilina G benzatínica. Entre las que se destacan:

a) Penicilina G benzatínica

Es un producto de la unión de dos moles de Penicilina G con una mol de dibenziletilendiamina. Constituye la penicilina de depósito de efectos más prolongados pues proporciona niveles séricos detectables hasta por 3 ó 4 semanas.

La indicación primaria de la Penicilina G benzatínica es para el tratamiento de las etapas tempranas o latentes de sífilis, terapia para celulitis o faringitis por estreptococo, profilaxis primaria de la fiebre reumática (en caso de faringitis o celulitis estreptocócica recurrente) y profilaxis secundaria (prevención de nuevos ataques de fiebre reumática cardiopatía ó glomerulonefritis aguda.

Profilaxis fiebre reumática: 1'200.000 UI cada 3-4 semanas vía intramuscular²³.

Farmacocinética:

Se libera lentamente, hidrolizándose a bencilpenicilina. Alcanza concentraciones inferiores pero más prolongadas que cualquiera de las otras penicilinas. Concentraciones séricas se alcanzan entre 12 a 24 horas y son detectadas hasta las 4 semanas siguientes a la administración. Penetran en el líquido cefalorraquídeo. Dosis mayores producen concentraciones más sostenidas, pero no más elevadas²³.

2.2.13. Cefalosporinas

Las cefalosporinas son una familia de antibióticos betalactámicos, derivados semisintéticos de la cefalosporina C, la cual es producida por el hongo *Cephalosporium acremonium* (origen fúngico). Son antibióticos de amplio espectro y poco tóxicos, pero deben ser cuidadosamente seleccionados para prevenir el desarrollo de resistencia por los microorganismos.

Tabla 5: Clasificación de las Cefalosporinas

| | Vía oral | Vía Intramuscular ó Endovenoso |
|---------------------------|--|--|
| Primera Generación | Cefalexina, cefradina, cefadroxilo | cefazolina, cefalotina, cefapirina, cefradina, cefaloridina |
| Segunda Generación | cefaclor, cefuroxima-axetil, cefarozil, cefatrizina | cefaclor, cefuroxima-axetil, cefarozil, cefatrizina |
| Tercera Generación | Cefixima, cefprozil, cefpodoxima, cefpodoxima, ceftributen, cefetamet-pivoxil, cefdimir. | Cefoperazona, cefotaxima, ceftazidima, ceftizoxima, ceftriaxona, moxalatan, cefodizima, cefpiramida, cefzulodin. |
| Cuarta Generación | | cefpiroma, cefepima, cefaclidina, cefquinona |

2.2.13.1. Espectro antibacteriano de las Cefalosporinas

Las sucesivas generaciones de cefalosporinas tienden a poseer una acción cada vez mayor contra los bacilos Gram negativos, generalmente en detrimento de su cobertura contra Gram positivos especialmente estafilococo.

En general, las cefalosporinas de primera generación y la de segunda generación son más activas contra algunos cocos Gram positivos (estafilococos y estreptococos), y las de tercera generación son más activas contra Enterobacterias y Pseudomonas.

En todo caso, es importante recordar que ninguna cefalosporina está indicada para el tratamiento de las infecciones por *Streptococcus faecalis* (enterococo), *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina, *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, *Staphylococcus epidermidis* resistente a Meticilina, *Listeria monocytogenes*, *Legionella micdadei*, *Clostridium difficile* (agente causal de la colitis pseudomembranosa), *Pseudomonas maltophilia*, *Pseudomonas putida*, *Campilobacter jejuni* y *Acinetobacter*²⁴.

2.2.14. Ceftriaxona

Ceftriaxona es un antibiótico cefalosporínico semisintético de tercera generación. Contiene una cadena lateral acetilaminotiazolil con un grupo metoxiimino en la posición 7 del núcleo cefalosporínico. Esta cadena lateral aumenta la actividad antibacteriana, particularmente contra enterobacterias, y el grupo metoxiimino le imparte estabilidad frente a la hidrólisis que produce varias betalactamasas. Se presenta como sal disódica.

2.2.14.1. Indicaciones

- En infecciones óseas y de articulaciones causadas por organismos sensibles.
- En el tratamiento de gonorrea endocervical y uretral no complicada.
- Infecciones intraabdominales.

- Otitis media.
- Meningitis.
- Infecciones pélvicas femeninas.
- Profilaxis de infecciones perioperatorias.
- Neumonía bacteriana.
- Septicemia bacteriana.
- Infecciones de la piel y tejidos blandos.
- Infecciones bacterianas del tracto urinario.

2.2.14.2. Acción Farmacológica

La actividad bactericida de ceftriaxona se relaciona a la desintegración de la pared celular bacteriana, evitando la formación de enlaces cruzados entre las cadenas de peptidoglicano. Es de utilidad para el tratamiento de infecciones por bacterias Gram negativa intra hospitalarias: Meningitis y otras infecciones del Sistema Nervioso Central, Septicemia, Infecciones tracto respiratorio, urinario y cutáneo (Chancroide, gonorrea) y abdominales (tifoidea y salmonela), además de enfermedad inflamatoria pélvica.

2.2.14.3. Espectro antibacteriano

-Gram negativos: *Neisseria gonorrhoeae, meningitidis, Moraxella catarrhalis, haemophilus influenzae, Escherichia coli, Klebsiella sp, Enterobacter sp, Serratia sp, Salmonella sp, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Providencia sp, Morganella sp, C. diversus, Citobacter sp, Aeromonas sp, Acinetobacter, Yersinia enterocolitica, Pasteurella multocida, Haemophilus ducreyi*, puede ser resistente: *Pseudomonas aeruginosa*.

-Gram positivos: *Streptococcus grupo A, B, C, G, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus viridans, Staphylococcus aureus* meticilino sensibles; pueden ser resistentes: *Staphylococcus epidermidis*. Otras Infecciones causadas por: *Actinomyces, Clostridium* (no *difficile*), *Peptostreptococcus sp*, pueden ser resistentes: *Prevotella melaninogenica*.

Farmacocinética

Ceftriaxona se distribuye en todo el organismo y sus concentraciones terapéuticas llegan en la mayoría de tejidos y fluidos corporales incluso el líquido sinovial, pericárdico pleural y peritoneal, también en la bilis, esputo y orina.

Se distribuye en huesos, miocardio, vesícula, piel, tejidos blandos y líquido cefalorraquídeo. Cruza la placenta e ingresa a la leche materna en concentraciones reducidas.

Después de la administración intravenosa, la vida media en función renal es de 4.3 a 4.6 horas en pacientes pediátricos con meningitis cuando la dosis es 50 a 75 mg/kg. La concentración sérica máxima se obtiene al finalizar la infusión.

A diferencia de las demás cefalosporinas la vida media de la ceftriaxona es más corta en infantes que en adultos.

Ceftriaxona se une en 83-96 % a las proteínas plasmáticas y desplaza a la bilirrubina de la albumina sérica. Se excreta de 33 a 67 % del fármaco inalterado por vía renal en 24 horas. No se elimina por hemodiálisis o diálisis peritoneal²⁴.

2.2.15. Carbapenemos

2.2.15.1. Meropenem

El meropenem es un antibiótico empleado por vía parenteral y pertenece a la familia de los carbapenemos, siendo estable y debido a esto no necesita inhibidores de la dehidropetidasa-1 humana (DHP-1) y que, por lo tanto, no requiere la adición de un inhibidor de la DHP-1 como la Cilastatina. Ejerce su acción bactericida afectando la síntesis de la pared celular bacteriana. Su amplio espectro contra bacterias aerobias y anaerobias se debe a la facilidad para atravesar la pared celular bacteriana, además a su gran estabilidad frente a las enzimas de los microorganismos (betalactamasas), y finalmente a la afinidad por las proteínas que se unen a la penicilina (PBP), explican la potente acción bactericida

del meropenem contra un amplio espectro de bacterias aerobias y anaerobias.

2.2.15.2. Espectro antibacteriano

Estudios *in vitro* han demostrado la efectividad del meropenem frente a la mayor parte de cepas bacterianas importantes como:

-Gram positivos: *Streptococcus* grupo A, B, C, G, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus milleri*, *Staphylococcus aureus* *meticillin sensible*, *Staphylococcus epidermidis*. *Monocytogenes*.

-Gram negativos: *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Enterobacter sp*, *Serratia sp*, *Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia sp*, *Morganella sp*, *Citrobacter sp*, *Aeromonas sp*, *Acinetobacter sp*, *Ps aeruginosa*, *B. (Ps) cepacia*. Aerobios: *Bacteroides fragilis*, *Prevotella melaninogenica*, *Clostridium defficile*, *Clostridium no defficile*, *Peptostreptococcus sp*. Pueden ser sensibles: *Enterococcus faecalis*.

2.2.15.3. Farmacocinética

Administración intravenosa. Se distribuye en los tejidos y fluidos corporales, incluyendo líquido cefalorraquídeo. Se fija a proteínas plasmáticas solo el 2%, se metaboliza a nivel hepático. Su tiempo de vida media en adultos con función renal normal y niños mayores de 2 años de edad es aproximadamente 1 hora y en niños entre 3 meses y 2 años es 1.5 horas. Se excreta aproximadamente un 25 % como metabolitos inactivos. En el embarazo no se han descrito problemas hasta la fecha, en lactantes no se conoce si la droga se distribuye en la leche materna, usar con precaución²⁵.

2.3. Definición de términos básicos

- a) **Amplio Espectro.-** Capacidad para inhibir una gran cantidad de microorganismos sean estas Gram positivos y Gram negativos por ejemplo; rickettsias y espiroquetas, abarcando un gran número de especies de los mismos (tetraciclinas, cloranfenicol, macrólidos, etc)²⁶.
- b) **Antibiótico.-** Según el concepto de Wasman, se definen como “sustancias químicas derivadas o producidas por microorganismos (bacterias, hongos, actinomicetos que tienen la capacidad, a bajas concentraciones, de inhibir el desarrollo o destruir bacterias”²⁶.
- c) **Antibacteriano.-** Sustancia que deriva de bacterias ó de hongos, aunque a menudo se la usa como sinónimo de medicamento antibacteriano³⁷.
- d) **Apitoxina.-** Es el veneno secretado por las abejas obreras, como medio de defensa ante sus depredadores²⁷.
- e) ***Apis mellifera*.-** Es una especie de abeja domestica de tonalidad amarilla de mayor distribución en el mundo³⁹.
- f) **Bactericida.-** Producto farmacéutico que ocasiona la lisis de las bacterias²⁶.
- g) **Bacteriostático.-** Producto farmacéutico que inhiben el crecimiento bacteriano, predisponiendo su posterior destrucción por el sistema inmunológico²⁶.
- h) **Betalactámicos.-** Es un medicamento conformado por una estructura principal que incluye un anillo betalactámico²⁷.
- i) **Enterotoxinas.-** Son toxinas termoestables y resistentes a la acción de las enzimas intestinales. Se produce cuando *Staphylococcus aureus* se desarrolla en alimentos que contienen hidratos de carbono y proteínas²⁸.

- j) Espectro Ampliado.-** Agentes eficaces contra Gram positivos. Por ejemplo, la Ampicilina, que es efectiva contra los mismos microorganismos que la Penicilina y que, además, es activa contra algunos Gram negativos²⁷.
- j) Halo de inhibición.-** Demarcación de una zona en la cual no se produce crecimiento bacteriano³⁸.
- k) *Staphylococcus aureus*.-** El género *Staphylococcus* pertenece al grupo de bacterias Gram positivas; las células se ordenan como uvas en un racimo (*staphyle*). Es anaerobio facultativo, forma citocromos en condiciones aeróbicas y es relativamente resistente a la desecación²⁹.
- l) Patógeno.-** Microorganismo que puede causar una enfermedad³².
- m) Piógeno.-** Generadoras de material purulento (pus)³⁰.
- n) Piel.-** La piel es el órgano más grande del organismo humano y de animales, forma parte del sistema tegumentario. Una de las principales funciones de la piel es la protección³¹.

2.4. Hipótesis

2.4.1. Hipótesis General

-Tiene efecto antibacteriano *in vitro* la apitoxina comercial de *Apis mellifera* frente a cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y su comparación con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.

2.4.2. Hipótesis Específicas

-Tiene efecto antibacteriano *in vitro* la apitoxina comercial de *Apis mellifera* a la concentración 0.1 mg/mL frente a cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

- Se puede comparar el efecto de apitoxina comercial con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.
- Presenta diferencias antibacterianas *in vitro* la apitoxina comercial de *Apis mellifera* a la concentración 0.1 mg/mL frente a cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en comparación con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de investigación

- Analítica.**- Estudios de evaluación de presunta relación causal entre un factor y un efecto³³.
- Longitudinal.**- Estudios en los que existe un lapso de tiempo entre las distintas variables que se evalúan, de tal forma que puede establecerse una secuencia temporal entre ellas³³.
- Experimental.**- Estudios en los que el investigador asigna un factor de estudio y lo controla de forma deliberada para la realización de la investigación³³.
- Prospectiva.**- Estudios cuyo inicio es anterior a los hechos estudiados, de tal forma que los datos se recogen a medida que van sucediendo³³.

3.2. Nivel de investigación

- **Explicativo.**- Estudio que tiene por finalidad ó propósito de hallar una relación de explicación o causalidad entre las variables de estudio³⁴.

3.3. Diseño de la investigación

Esquema

| |
|-------------------|
| $G_1 : X_1 - O_1$ |
| $G_2 : X_2 - O_2$ |
| $G_3 : X_3 - O_3$ |
| $G_4 : X_4 - O_4$ |
| $G_5 : X_5 - O_5$ |

G: placa Petri de agar con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

X₁: Tratamiento control negativo con agua estéril.

X₂: Tratamiento con apitoxina 0.1 mg/mL.

X₃: Tratamiento control con ceftriaxona 1g.

X₄: Tratamiento control con meropenem 1g.

X₅: Tratamiento control con penicilina benzatínica 1 200 000 UI.

O: Observación post tratamiento de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

3.3.1. Método microbiológico

Se utilizó el método de Kirby-Bauer, recomendado por la NCCLS (Subcomité de ensayos de susceptibilidad de los EEUU) para determinar la actividad antimicrobiana (Difusión en discos) y el método modificado de difusión de pozos en placa de agar³⁵, para los cuales se depositó el inóculo y se sembró sobre la superficie del agar selectivo (Müller Hinton), para hallar no sólo la potencia, sino también la resistencia del microorganismo, (*Staphylococcus aureus*) a la apitoxina comercial y a antibióticos sintéticos, ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.

Se prepararon los pozos con un sacabocado estéril de 5 mm de diámetro, y en cada pozo se depositó 20 uL de las sustancias a evaluar, los estándares que vienen a ser control positivo, negativo y blanco por triplicado, se dejó reposar por espacio de 30 minutos (para evaporar el líquido), finalmente se incubó la placa a 35-37° C por un periodo de entre 24 a 72 horas, al cabo de las cuales se midieron los halos de inhibición

con un Vernier calibrado, registrando los mismos en el instrumento de recolección de datos, para luego realizar el procesamiento estadístico respectivo.

Se contó con cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 desde una placa madre. La apitoxina diluida al 0.1 mg/mL³⁵.

3.3.2. Utilización de la Apitoxina

- Grupo Control: Concentración al 0.1 mg / mL de apitoxina comercial.
- Control positivo: Antibacterianos betalactámicos (penicilina G benzatínica, ceftriaxona y meropenem) para *Staphylococcus aureus*.
- Control negativo con agua destilada.

3.3.3. Procedimiento

a) Preparación del Inóculo

Se tomó de 3 a 5 colonias iguales de la placa de cultivo de 18 a 24 horas y se sembró en 5 mL de un medio líquido (tripticosa soja) y se incubó en la estufa a 35 °C entre 2 a 6 horas hasta conseguir o superar del 0.5 de la escala de MacFarland³³.

b) Inoculación de las placas

Antes de que transcurrieran 15 minutos de haber ajustado el inóculo, se introdujo un hisopo estéril dentro de la suspensión, y al retirarlo se hizo rotar varias veces contra la pared del tubo, por encima del nivel del líquido con la finalidad de eliminar el exceso de inóculo. Se hizo el frotis del inóculo en las placas de Müller Hinton completamente, sin dejar ninguna zona libre. Esto se consiguió deslizando el hisopo estéril por la superficie del agar tres veces, rotando la placa unos 60° cada vez, y se pasó por último por la periferia del agar para conseguir una siembra uniforme. Se dejó secar de 3 a 5 minutos y se procedió a realizar los pozos, con un sacabocado especial cuyo diámetro fue 5 mm. En cada pozo obtenido se inocularon los antibióticos, apitoxina y agua estéril, se dejó reposar por un espacio de 30 minutos y luego se incubó en la estufa de 24 a 72 horas a una temperatura de 37 °C. Se leyeron los resultados con un Vernier calibrado, proporcionado por la universidad, se hizo el registro de los halos

en el instrumento de recolección de datos, para luego ser procesados en programa estadístico respectivo³⁶.

3.4. Área de estudio

Este trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora ubicada en el distrito de San Juan de Lurigancho.

3.5. Población y muestra

La población de trabajó: 30 mL de apitoxina comercial (3 frascos de 10 mL)

La muestra: Apitoxina comercial, se utilizó 20 uL para cada pozo y

Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

3.5.1. Criterios de inclusión

- Apitoxina purificada y liofilizada.
- Adquisición en instituciones reconocidas y exclusivas en terapias del dolor.
- Apitoxina libre de pirógenos según su etiquetado.
- Cepas adquiridas en establecimiento reconocido.

3.5.2. Criterios de exclusión

- Apitoxina no sea purificada y liofilizada.
- No se adquirió la apitoxina en establecimientos no exclusivas.
- Cepas contaminadas con pirógenos.

3.6. Variables y Operacionalización de variables

| Variable Dependiente | Variable Independiente |
|--|--|
| Antibacteriano para <i>Staphylococcus aureus</i> | Apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> |

Operacionalización de Variables

| Variable Independiente | Definición Conceptual | Dimensiones | Indicadores | Escala |
|--|---|---|------------------------------------|----------------------|
| APITOXINA | Apitoxina, es una sustancia segregada por este insecto frente a sus depredadores. | Cuantitativa (Encontrar el efecto antibacteriano) | Concentración | Intervalo 0.1 mg/mL |
| Variable Dependiente | | | | |
| EFECTO antibacteriano (<i>Staphylococcus aureus</i>) | Capacidad de inhibir el crecimiento y desarrollo de una bacteria | Halo de inhibición | Crecimiento del halo de inhibición | Intervalo (1 -10 mm) |

3.7. Instrumentos de recolección de datos

El instrumento ó ficha de recolección de datos que se utilizó, fue validado por profesionales de la Universidad María Auxiliadora. (Ver anexos)

3.8. Validación de los instrumentos de recolección de datos

El instrumento de recolección de datos corresponde al registro de observación estandarizada y validada con un grado de confianza del 99.9 %, observada y calificada por juicio de expertos en investigación, como; Dr. Q.F Rubén Cueva Mestanza, Dr. Mg. Víctor Chero Pacheco, Dr. Randall Jesús Seminario Unzueta y el Dr. Q.F. Ernesto Acaro Chuquicaña (Asesor).

3.9. Procedimientos de recolección de datos

El procedimiento para recolectar los datos estuvo basado en el tipo de observación, no participativa, ya que los investigadores solo recopilaron la investigación que observaron y tomaron notas para la construcción del procesamiento estadístico, tal como se detalla:

-Se registró la medición de halos de inhibición obtenidos con un Vernier calibrado, a fin minimizar errores, sobre el crecimiento del microorganismo alrededor del pozo.

-Se procedió a llenar los datos obtenidos en la ficha elaborada (instrumento de recolección de datos), de forma visual y manual.

3.10. Componente ético de la investigación

La presente investigación cumplió el propósito final, evitar la contaminación bacteriana, utilizando los medios aislantes necesarios para no perjudicar a las personas que trabajan y circulan en dicho ambiente ya que, se utilizaron las medidas de protección específicas de bioseguridad e indumentarias en toda la ejecución de la investigación, teniendo en cuenta que se trabajó con cepas de *Staphylococcus aureus*.

Al final se respetó los resultados que arrojó la ejecución del presente trabajo de investigación.

3.11. Procesamiento y análisis de datos

El análisis de datos utilizado para esta evaluación fue el análisis de varianza ANOVA del programa estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 21).

4. RESULTADOS

En la **Tabla 6**, De acuerdo a la media, se evidencia que no existe mucha diferencia entre los halos durante el transcurso de las horas. Recién a las 72 horas puede evidenciarse el mayor incremento.

Tabla 6: Análisis descriptivo de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial respecto al empleo de ceftriaxona 1 g

| Ceftriaxona | Halo12 | Halo24 | Halo36 | Halo48 | Halo60 | Halo72 |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Media | ,00 | 39,80 | 42,60 | 44,60 | 47,60 | 49,60 |
| Mediana | ,00 | 41,00 | 43,00 | 46,00 | 48,00 | 50,00 |
| Desv.típ. | ,000 | 2,168 | 3,912 | 5,177 | 5,727 | 6,229 |
| Rango | 0 | 5 | 10 | 14 | 14 | 16 |
| Mínimo | 0 | 36 | 36 | 36 | 38 | 40 |
| Máximo | 0 | 41 | 46 | 50 | 52 | 56 |

Así mismo, de acuerdo a la mediana se evidencia que los valores inferiores al 50 % se incrementan con el transcurso de las horas. En cuanto a la desviación típica se evidencia que la dispersión de valores ha ido en aumento respecto al valor promedio con el transcurso de las horas. También el rango permite evidenciar el incremento de los intervalos con el transcurso de las horas. Los valores mínimos y máximos permiten también evidenciar el incremento con el transcurso de las horas.

En la Tabla 7, de acuerdo a la media se evidencia que no existe mucha diferencia entre los halos durante el transcurso de las horas. A las 72 horas puede evidenciarse el mayor incremento.

Tabla 7: Análisis descriptivo de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial respecto al empleo del Meropenem 1 g

| Meropenem | Halo12 | Halo24 | Halo36 | Halo48 | Halo60 | Halo72 |
|------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Media | ,00 | 55,20 | 57,40 | 59,40 | 61,00 | 62,80 |
| Mediana | ,00 | 55,00 | 58,00 | 60,00 | 61,00 | 62,00 |
| Desv.típ. | ,000 | ,837 | ,894 | ,894 | 1,000 | 1,095 |
| Rango | 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Mínimo | 0 | 54 | 56 | 58 | 60 | 62 |
| Máximo | 0 | 56 | 58 | 60 | 62 | 64 |

En cuanto a la mediana se evidencia que los valores inferiores y superiores al 50 % se incrementan con el transcurso de las horas. En la desviación típica se evidencia que la dispersión de valores ha ido en aumento respecto al valor promedio con el transcurso de las horas. En cuanto al rango permite evidenciar que los intervalos con el transcurso de las horas han sido constantes. Los valores mínimos y máximos permiten también evidenciar su incremento con el transcurso de las horas.

En la Tabla 8, de acuerdo a la media se evidencia que existe incremento entre los halos durante el transcurso de las horas. A las 72 horas puede evidenciarse el mayor incremento.

Tabla 8: Análisis descriptivo de la antibacteriana de Apitoxina comercial respecto a empleo de Penicilina Benzatínica
1 200 000UI

| Pen.Benzat. | Halo12 | Halo24 | Halo36 | Halo48 | Halo60 | Halo72 |
|--------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Media | ,00 | 48,60 | 53,40 | 58,80 | 60,80 | 62,80 |
| Mediana | ,00 | 49,00 | 54,00 | 58,00 | 62,00 | 64,00 |
| Desv.típ. | ,000 | 1,140 | 4,336 | 1,924 | 1,643 | 2,168 |
| Rango | 0 | 3 | 11 | 5 | 3 | 5 |
| Mínimo | 0 | 47 | 49 | 57 | 59 | 60 |
| Máximo | 0 | 50 | 60 | 62 | 62 | 65 |

En cuanto a la mediana se evidencia que los valores inferiores y superiores al 50 % se incrementan con el transcurso de las horas. Así mismo en la desviación típica los valores han disminuido a partir de las 48 horas, pudiendo evidenciar cifras de 1,92 mm a las 48 horas, 1,64 mm a las 60 horas y 2,2 mm a las 72 horas. Por tanto se puede deducir que el efecto se mantiene constante debido a la cercanía con el valor promedio. De acuerdo a la variación del rango, los valores muestran una reducción a partir de las 48 horas ya que de la cifra 11 se han reducido a 5, 3 y 5; 48, 60 y 72 horas respectivamente. Lo cual pone en evidencia la semejanza de los valores al valor promedio.

En la tabla 9: De acuerdo a la media se evidencia que no existe mucha diferencia entre los halos durante el transcurso de las horas. A las 72 horas puede evidenciarse el mayor incremento.

Tabla 9: Análisis descriptivo de la actividad antibacteriana respecto al empleo de Apitoxina comercial (0.1 mg/mL)

| Apitoxina1 | Halo12 | Halo24 | Halo36 | Halo48 | Halo60 | Halo72 |
|-------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Media | ,00 | 8,80 | 9,20 | 9,40 | 9,40 | 9,40 |
| Mediana | ,00 | 14,00 | 14,00 | 15,00 | 15,00 | 15,00 |
| Desv.típ. | ,000 | 8,044 | 8,468 | 8,620 | 8,620 | 8,620 |
| Rango | 0 | 15 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| Mínimo | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Máximo | 0 | 15 | 17 | 17 | 17 | 17 |

De acuerdo a la mediana se evidencia que los valores inferiores al 50% se incrementan con el transcurso de las horas y en la desviación típica se evidencia que la dispersión de valores ha ido en aumento respecto al valor promedio con el transcurso de las horas. Por otro lado el rango permite evidenciar principalmente el mantenimiento de los intervalos con el transcurso de las horas. Lo cual es acorde a los valores mínimos y máximos.

Tabla 10: Análisis ANOVA de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial de 12-72 horas.

| | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|--------|--------------|----------------------|----|---------------------|---------|------|
| halo12 | Inter-grupos | ,000 | 4 | ,000 | . | . |
| | Intra-grupos | ,000 | 20 | ,000 | | |
| | Total | ,000 | 24 | | | |
| halo24 | Inter-grupos | 12126,640 | 4 | 3031,660 | 212,301 | ,000 |
| | Intra-grupos | 285,600 | 20 | 14,280 | | |
| | Total | 12412,240 | 24 | | | |
| halo36 | Inter-grupos | 13789,840 | 4 | 3447,460 | 161,701 | ,000 |
| | Intra-grupos | 426,400 | 20 | 21,320 | | |
| | Total | 14216,240 | 24 | | | |
| halo48 | Inter-grupos | 15663,760 | 4 | 3915,940 | 185,414 | ,000 |
| | Intra-grupos | 422,400 | 20 | 21,120 | | |
| | Total | 16086,160 | 24 | | | |
| halo60 | Inter-grupos | 16889,360 | 4 | 4222,340 | 190,539 | ,000 |
| | Intra-grupos | 443,200 | 20 | 22,160 | | |
| | Total | 17332,560 | 24 | | | |
| halo72 | Inter-grupos | 18103,840 | 4 | 4525,960 | 190,166 | ,000 |
| | Intra-grupos | 476,000 | 20 | 23,800 | | |
| | Total | 18579,840 | 24 | | | |

Análisis a las 24 horas

Hi= Existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

H0=No existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

Debido a que el valor de la significancia (,000) es menor a 0.05, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis inicial que señalan que existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

Análisis a las 36 horas

Hi= Existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

H0=No existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

Debido a que el valor de la significancia ($,000$) es menor a 0.05 , se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis inicial que señalan que existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

Análisis a las 48 horas

Hi= Existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

H0=No existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

Debido a que el valor de la significancia ($,000$) es menor a 0.05 , se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis inicial que señalan que existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestra

Análisis a las 60 horas

Hi= Existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

H0=No existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

Debido a que el valor de la significancia ($,000$) es menor a 0.05 , se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis inicial que señalan que existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

Análisis a las 72 horas

Hi= Existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

H0=No existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

Debido a que el valor de la significancia ($,000$) es menor a 0.05 , se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis inicial que señalan que existen diferencias entre los promedios de los halos en las diferentes muestras.

Tabla 11: Análisis de Tukey de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 24 horas.

| Variable dependiente | Tratamiento (I) | Tratamiento (J) | Diferencia de medias (I-J) | Significancia |
|----------------------|--------------------|-------------------------------|----------------------------|---------------|
| Halo 24 | Apitoxina 0.1mg/mL | ceftriaxona 1g | -31,000 | ,000 |
| | | meropenem 1g | -46,400 | ,000 |
| | | penicilina benzatínica 1'2 UI | -39,800 | ,000 |
| | | blanco | 8,800 | ,011 |

De acuerdo a las diferencias de medias, puede evidenciarse mayor homogeneidad entre la meropenem 1 g y la penicilina benzatínica 1 200 000 UI, en segundo lugar se considera el valor del ceftriaxona 1g y el tercer lugar evidenciando menos homogeneidad se considera la apitoxina 0.1 mg/mL.

Tabla 12: Análisis de Tukey de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 36 horas.

| Variable dependiente | Tratamiento (I) | Tratamiento (J) | Diferencia de medias (I-J) | Significancia |
|----------------------|--------------------|-------------------------------|----------------------------|---------------|
| Halo 36 | Apitoxina 0.1mg/mL | ceftriaxona 1g | -33,400* | ,011 |
| | | meropenem 1g | -48,200* | ,653 |
| | | penicilina benzatínica 1'2 UI | -44,200* | ,000 |
| | | Blanco | 9,200* | ,000 |

De acuerdo a las diferencias de medias, puede evidenciarse mayor homogeneidad entre el meropenem 1 g y la penicilina benzatínica 1 200 000 UI, en segundo lugar se considera el valor del ceftriaxona 1 g y el tercer lugar evidenciando menos homogeneidad se considera la apitoxina 0.1 mg/mL.

Tabla 13: Análisis de Tukey de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 48 horas.

| Variable dependiente | Tratamiento (I) | Tratamiento (J) | Diferencia de medias (I-J) | significancia |
|-----------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|----------------------|
| Halo 48 | Apitoxina 0.1mg/mL | ceftriaxona 1g | -35,200* | ,001 |
| | | meropenem 1g | -50,000* | 1,000 |
| | | penicilina benzatínica 1'2 UI | -49,400* | ,000 |
| | | Blanco | 9,400* | ,000 |

De acuerdo a las diferencias de medias, puede evidenciarse mayor homogeneidad entre la meropenem 1 g y la penicilina benzatínica 1 200 000 UI, en segundo lugar se considera el valor del ceftriaxona 1g y el tercer lugar evidenciando menos homogeneidad se considera la apitoxina 0.1 mg/mL.

Tabla 14: Análisis de Tukey de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 60 horas.

| Variable dependiente | Tratamiento (I) | Tratamiento (J) | Diferencia de medias (I-J) | significancia |
|-----------------------------|------------------------|------------------------------|-----------------------------------|----------------------|
| Halo 60 | Apitoxina 0.1mg/mL | ceftriaxona 1g | -38,200* | ,000 |
| | | meropenem 1g | -51,600* | ,000 |
| | | penicilina benzatínica 1'2UI | -51,400* | ,000 |
| | | Blanco | 9,400* | ,036 |

De acuerdo a las diferencias de medias, puede evidenciarse mayor homogeneidad entre la meropenem 1 g y la penicilina benzatínica 1 200 000 UI, en segundo lugar se considera el valor de la ceftriaxona 1g y el tercer lugar evidenciando menos homogeneidad se considera la apitoxina 0.1 mg/mL.

Tabla 15: Análisis de Tukey de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 72 horas.

| Variable dependiente | Tratamiento (I) | Tratamiento (J) | Diferencia de medias (I-J) | significancia |
|----------------------|--------------------|-------------------------------|----------------------------|---------------|
| Halo 72 | Apitoxina 0.1mg/mL | ceftriaxona 1g | -40,200* | ,000 |
| | | meropenem 1g | -53,400* | ,000 |
| | | penicilina benzatínica 1'2 UI | -53,400* | ,000 |
| | | Blanco | 9,400* | ,045 |

De acuerdo a las diferencias de medias, puede evidenciarse mayor homogeneidad entre el meropenem 1 g y la penicilina benzatínica 1 200 000 UI, en segundo lugar se considera el valor de la ceftriaxona 1g y el tercer lugar evidenciando menos homogeneidad se considera la apitoxina 0.1 mg/mL.

Tabla 16: Análisis de homogeneidad de subconjuntos de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 24 horas.

HSD de Tukey^a

| Tratamiento | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | |
|------------------------------|---|------------------------------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Blanco | 5 | ,00 | | | |
| apitoxina 0.1 mg/mL | 5 | | 8,80 | | |
| ceftriaxona 1 g | 5 | | | 39,80 | |
| penicilina benzatínica 1'2UI | 5 | | | | 48,60 |
| meropenem 1 g | 5 | | | | 55,20 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | ,079 |

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.000.

Existen diferencias significativas en las diferentes muestras respecto a los halos tras 24 horas, observando valores homogéneos al emplear penicilina benzatínica 1 200 000 UI y meropenem 1 g.

Tabla 17: Análisis de homogeneidad de subconjuntos de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 36 horas.

HSD de Tukey^a

| Tratamiento | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | |
|------------------------------|---|------------------------------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Blanco | 5 | ,00 | | | |
| apitoxina 0.1mg/mL | 5 | | 9,20 | | |
| ceftriaxona 1g | 5 | | | 42,60 | |
| penicilina benzatínica 1'2UI | 5 | | | | 53,40 |
| meropenem 1g | 5 | | | | 57,40 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | ,653 |

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.000.

Existen diferencias significativas en las diferentes muestras respecto a los halos tras 36 horas, observando valores homogéneos al emplear penicilina benzatínica 1 200 000 UI y meropenem 1 g.

Tabla 18: Análisis de homogeneidad de subconjuntos de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 48 horas.

HSD de Tukey^a

| Tratamiento | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | |
|-------------------------------|---|------------------------------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Blanco | 5 | ,00 | | | |
| apitoxina 0.1mg/mL | 5 | | 9,40 | | |
| ceftriaxona 1g | 5 | | | 44,60 | |
| penicilina benzatínica 1'2 UI | 5 | | | | 58,80 |
| meropenem 1g | 5 | | | | 59,40 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.000.

Existen diferencias significativas en las diferentes muestras respecto a los halos tras 48 horas, observando valores homogéneos al emplear penicilina benzatínica 1 200 000 UI y meropenem 1 g.

Tabla 19: Análisis de homogeneidad de subconjuntos de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 60 horas.

HSD de Tukey^a

| Tratamiento | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | |
|-------------------------------|---|------------------------------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Blanco | 5 | ,00 | | | |
| apitoxina 0.1mg/mL | 5 | | 9,40 | | |
| ceftriaxona 1g | 5 | | | 47,60 | |
| penicilina benzatínica 1'2 UI | 5 | | | | 60,80 |
| meropenem 1g | 5 | | | | 61,00 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.000.

Existen diferencias significativas en las diferentes muestras respecto a los halos tras 60 horas, observando valores homogéneos al emplear penicilina benzatínica 1 200 000UI y meropenem 1g.

Tabla 20: Análisis de homogeneidad de subconjuntos de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 72 horas.

HSD de Tukey^a

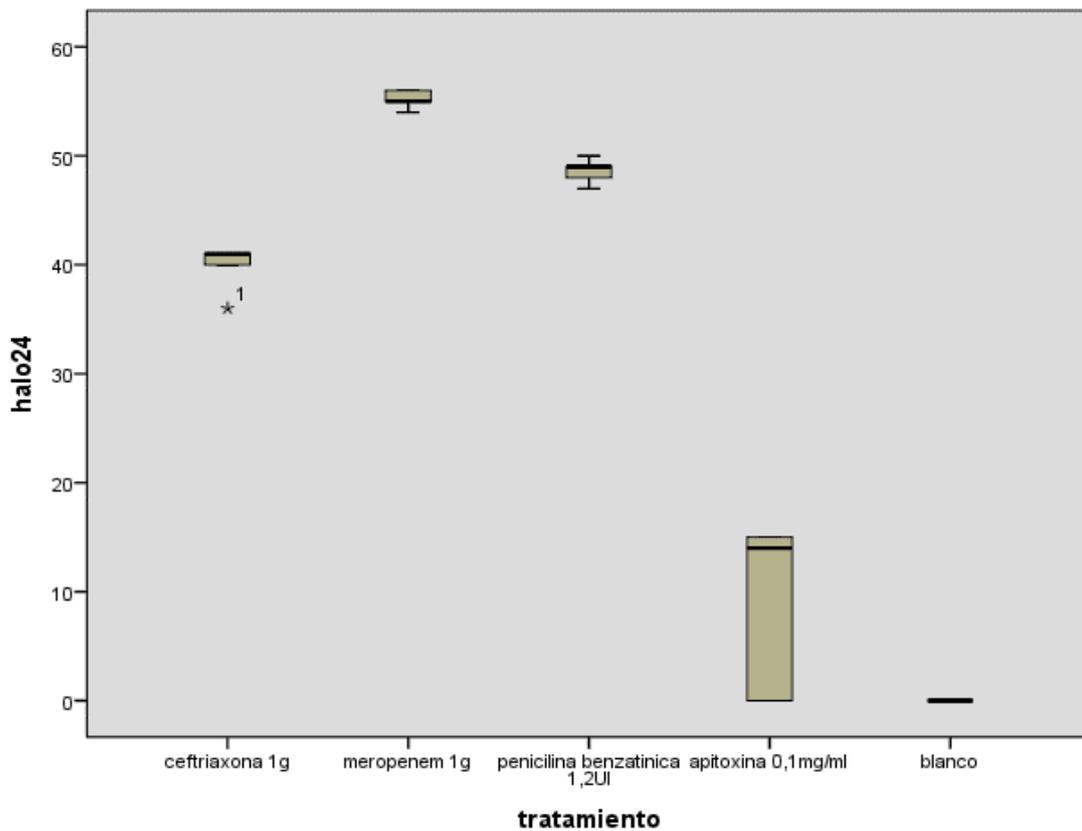
| Tratamiento | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | |
|-------------------------------|---|------------------------------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Blanco | 5 | ,00 | | | |
| apitoxina 0.1mg/mL | 5 | | 9,40 | | |
| ceftriaxona 1g | 5 | | | 49,60 | |
| meropenem 1g | 5 | | | | 62,80 |
| penicilina benzatínica 1'2 UI | 5 | | | | 62,80 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.000.

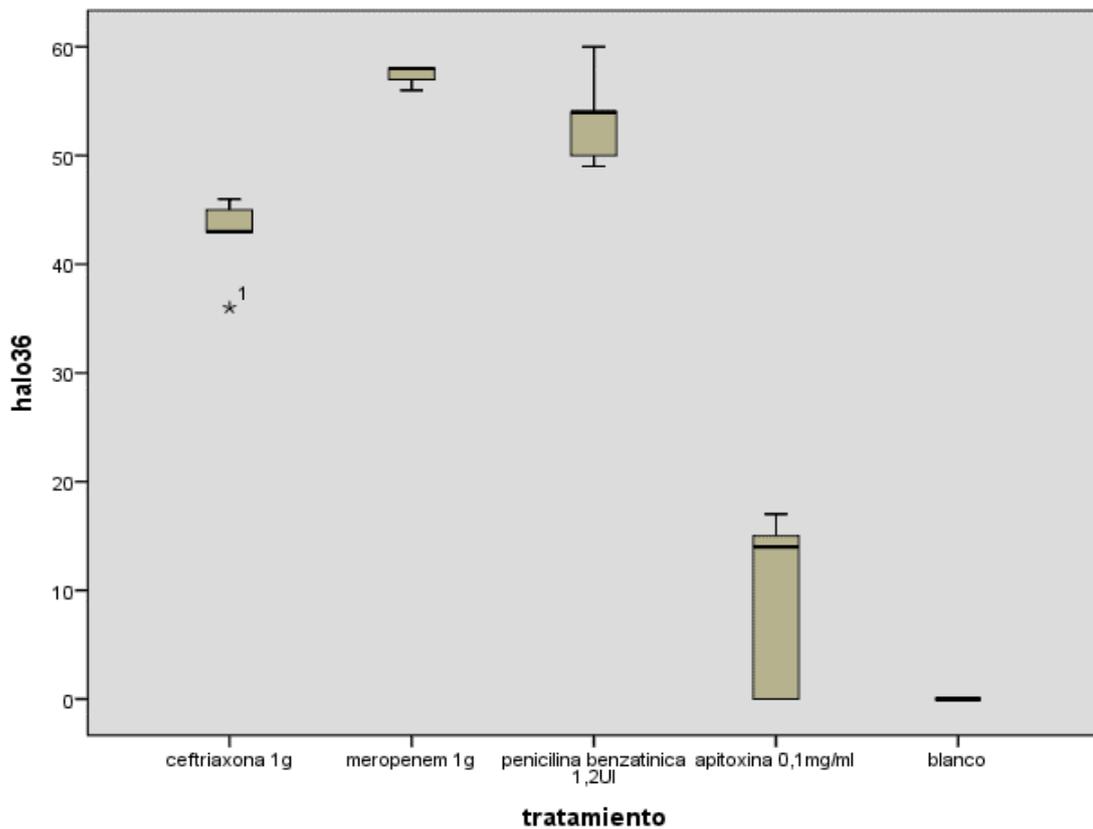
Existen diferencias significativas en las diferentes muestras respecto a los halos de inhibición tras 72 horas, observando valores homogéneos al emplear penicilina benzatínica 1 200 000 UI y meropenem 1 g.

Figura 3: Gráfica de cajas de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 24 horas.



En la Figura 3, se puede observar que la mayor inhibición bacteriana se encuentra concentrada en la parte superior y corresponde a los antibacterianos sintéticos, los valores respecto a la apitoxina se ubican en la zona inferior, lo cual indica su menor capacidad de inhibición bacteriana. Además en dicho grupo los valores inferiores al 50 % se hallan más dispersos.

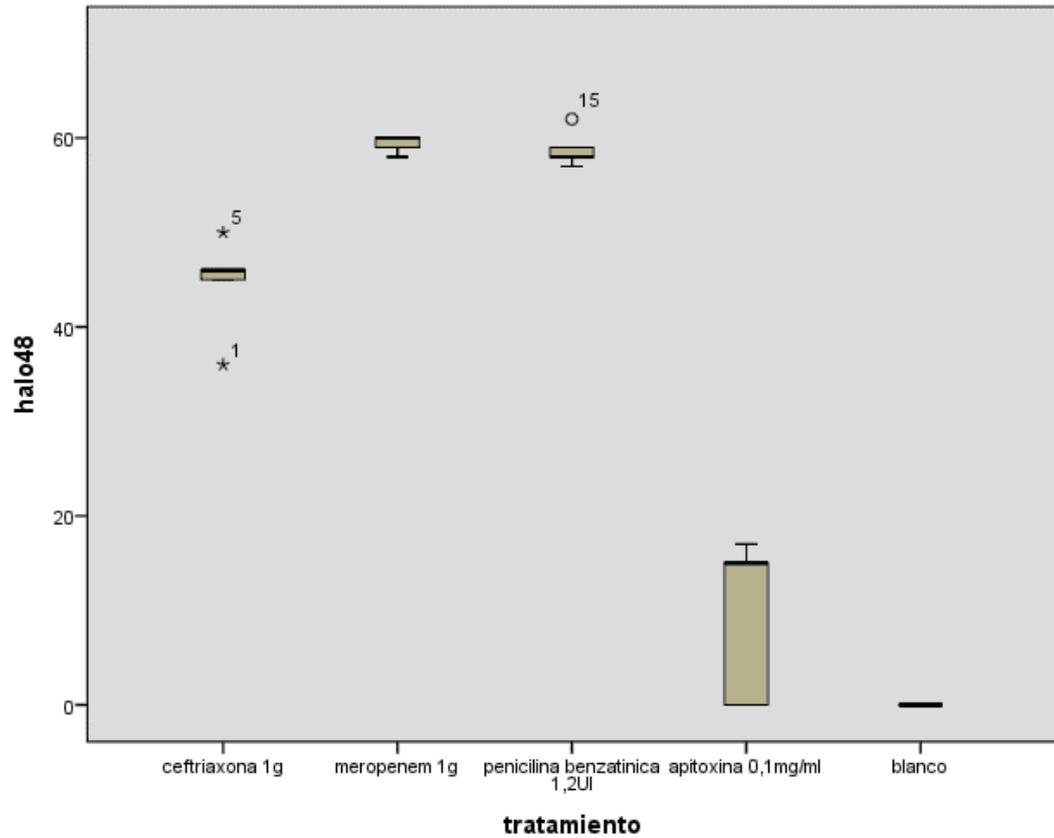
Figura 4: Gráfica de cajas de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 36 horas.



En la Figura 4, se puede observar que la mayor inhibición bacteriana se encuentra concentrada en la parte superior y corresponde a los antibacterianos sintéticos, los valores respecto a la apitoxina se ubican en la zona inferior, lo cual indica su menor capacidad de inhibición bacteriana. Además en dicho grupo los valores inferiores al 50 % se hallan más dispersos.

Se observa un valor atípico inferior en el tratamiento con ceftriaxona.

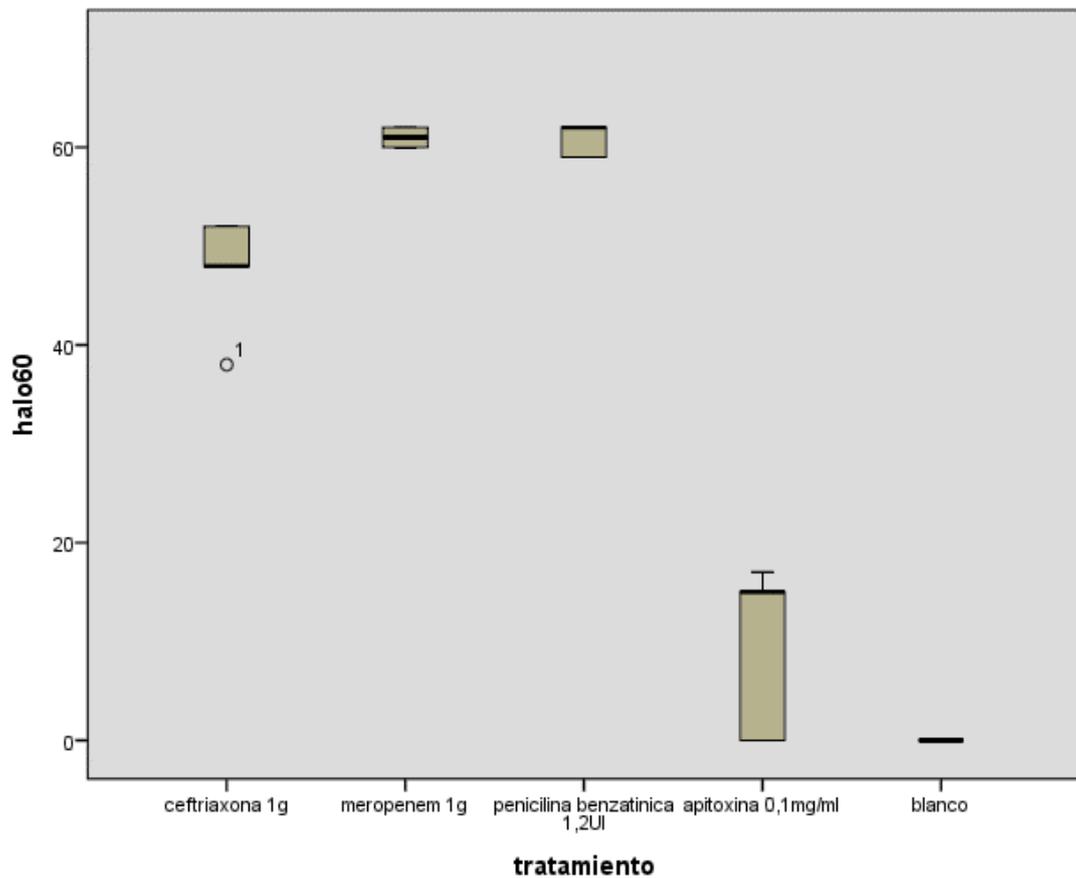
Figura 5: Gráfica de cajas de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 48 horas



En la Figura 5, se puede observar que la mayor inhibición bacteriana se encuentra concentrada en la parte superior y corresponde a los antibacterianos sintéticos, los valores respecto a la apitoxina se ubican en la zona inferior, lo cual indica su menor capacidad de inhibición bacteriana. Además en dicho grupo los valores inferiores al 50 % se hallan más dispersos.

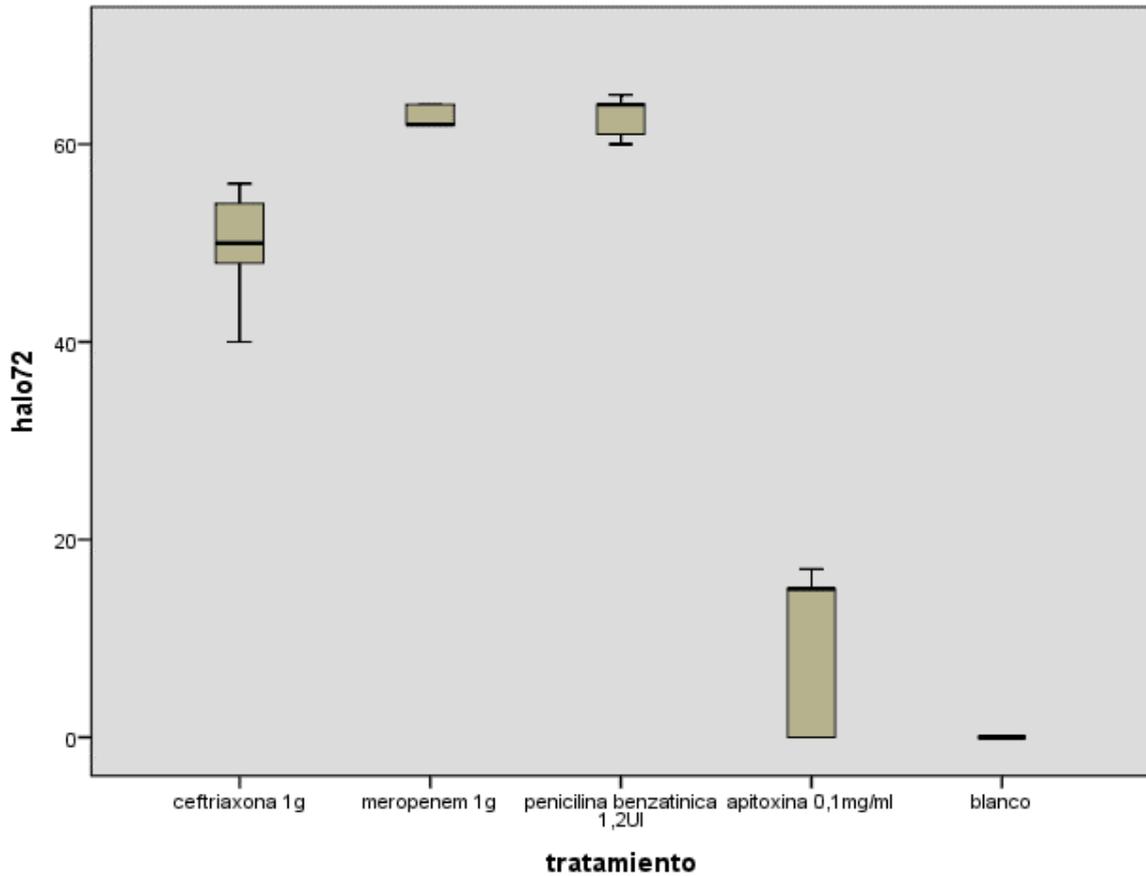
Se observan valores atípicos en el tratamiento con ceftriaxona en niveles superiores e inferiores y además valores superiores importantes en el tratamiento con penicilina benzatínica.

Figura 6: Gráfica de cajas de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 60 horas



En la figura 6, se puede observar que la mayor inhibición bacteriana se encuentra concentrada en la parte superior y corresponde a los antibacterianos sintéticos, los valores respecto a la apitoxina se ubican en la zona inferior, lo cual indica su menor capacidad de inhibición bacteriana. Además en dicho grupo los valores inferiores al 50 % se hallan más dispersos.

Figura 7: Gráfica de cajas de la actividad antibacteriana de Apitoxina comercial a las 72 horas.



En la Figura 7, se puede observar que la mayor inhibición bacteriana se encuentra concentrada en la parte superior y corresponde a los antibacterianos sintéticos, los valores respecto a la apitoxina se ubican en la zona inferior, lo cual indica su menor capacidad de inhibición bacteriana. Además en dicho grupo los valores inferiores al 50 % se hallan más dispersos.

En general la tendencia se mantiene con el transcurso de las horas, según el efecto inhibidor bacteriano, siendo los antibióticos sintéticos más efectivos.

5. DISCUSIÓN

Apitoxina y veneno son sinónimos, es la sustancia secretada por las abejas obreras a través del aguijón al introducirlo en la piel de su atacante, este proceso es causa de que la especie muera.

En estado líquido, recién extraído, es una sustancia compleja. de color claro transparente, casi incoloro, aromático, de reacción ácida- alcalina, sabor amargo. En cambio; cuando es cosechada en trampas especiales una parte se solidifica porque, el agua contenida se evapora. Este producto debe ser usado en dosis mínimas y por profesionales de la medicina con fines terapéuticos, porque una sola dosis puede causar shock anafiláctico y poner en riesgo la vida del paciente.

La cosecha de apitoxina, en la actualidad se hace mediante placas a las cuales se les transmite corriente eléctrica, que hace que las abejas suelten su veneno (apitoxina), sin dañar su ciclo de vida, permitiendo completar sus funciones⁴¹. La sustancia secretada se solidifica en las placas, lo que facilita su recolección mediante el raspado, a este proceso se le conoce como “cosecha”, es conservado a bajas temperaturas y protegido de la luz.

La purificación se hace en laboratorios especializados utilizando la metodología apropiada, así como la separación de partículas extrañas y contaminantes.

En el presente estudio, de tipo experimental, se utilizó la apitoxina comercial adquirida como producto total, es decir no se hizo la separación de sus componentes, por tanto, la descripción de relación ó verificación de resultados difieren, con los estudios realizados en los que se utilizó uno de los componentes de apitoxina.

Es importante destacar la significación estadística de los resultados, tal como se muestra en la tabla 10, del análisis ANOVA, cuyos valores de significancia de los intergrupos e intragrupos de halos a las diferentes horas de evaluación es menor a 0.05, que significa que hay diferencias entre los promedios de los grupos evaluados, y que confirma el efecto antibacteriano por parte de la apitoxina comercial 0.1 mg/mL, así mismo, en la tabla 15 del Análisis Tukey a las 72 horas de la actividad antibacteriana de la apitoxina comercial y este frente a los antibióticos betalactámicos,

mediante el método Kirby Bauer modificado, “dilución por difusión de pozos en placa de agar”, se obtuvo un resultado aceptable, es decir una respuesta positiva frente a las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, lo cual comprueba la hipótesis general del presente y que coincide con investigaciones similares como los obtenidos por:

Arciniega J. et al en el año 2017, que evaluaron la acción inhibitoria de la apitoxina a diferentes concentraciones sobre el crecimiento bacteriano de enterobacterias de mayor prevalencia patogénica en cobayos, donde aislaron cepas bacterianas por medio de hisopado rectal de cuyes, las cuales se cultivaron en caldo nutritivo por 24 horas. Realizando la medición a través de los halos de inhibición de los antibiogramas obteniéndose dosis específicas de acuerdo a la concentración de cada cepa en estudio, así mismo mediante pruebas fisicoquímicas específicas de laboratorio se manejaron cepas de bacterias, y diferentes dosis de apitoxina, y tetraciclina (antibiótico) como testigo positivo, para observar si las mismas inciden o no en el crecimiento bacteriano de las muestras obtenidas por medio de hisopado rectal de los cobayos, demostrando que producen acción inhibitoria para el crecimiento de bacterias enteropatógenas: *Salmonella typhimorium*, *Yersinia pseudotuberculosis* y *Escherichia coli* en comparación con la tetraciclina como control positivo. Si se relaciona con cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, que se usa comúnmente como cepa de control para pruebas de susceptibilidad a antibióticos, y como cepa de control de calidad para productos comerciales, se confirma que la susceptibilidad de estas cepas bacterianas frente a las soluciones de apitoxina es similar en enterobacterias. En el presente estudio la variación de la metodología fue Kirby Bauer modificado de difusión pozos en placa de agar, mientras que los autores en comparación lo ejecutaron en discos de papel estéril. A pesar de los resultados obtenidos por el autores de 0.7-1 mm y el de los presentes investigadores 15-17 mm, estos difieren, pero se puede concluir, que ambos tienen actividad antibacteriana.

Picoli T. et al en el año 2017, evaluaron la actividad antibacteriana de la melitina y antibiofilm para *Staphylococcus aureus*, microorganismos aislado a partir de la leche bovina, para ello utilizaron la técnica de microdilución para hallar la concentración mínima inhibitoria (MIC) y concentración mínima bactericida (MBC), utilizaron la técnica de microdilución en caldo, según los resultado obtenidos la melitina,

componente de la apitoxina tiene efecto deseable en la lucha contra los microorganismos estudiados, esto difiere con la metodología en el presente, que consistió en la utilización del método Kirby Bauer modificado: difusión de pozos en placa de agar y la apitoxina comercial adquirida como grupo control. A pesar que el autor en mención obtuvo resultados para la melitina valores MIC: 6-7 ug/mL y MBC: 32 -64 ug/mL y los investigadores tuvieron resultados para la apitoxina comercial de 15-17 mm para una concentración de 0.1 mg/mL, ambos estudios confirman que la melitina y la apitoxina tienen actividad antibacteriana.

En el caso de Choi J.H. et al en el año 2015, tuvieron un estudio similar, evaluaron un componente activo de apitoxina (melitina) en actividades antibacterianas y la protección *in vivo* contra las infecciones MRSA (*Staphylococcus aureus* meticilino resistente) utilizando el método de microdilución en caldo para hallar la concentración mínima inhibitoria, demostrando que la melitina puede usarse como agente prometedor para mejorar la curación de las heridas inducidas por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. Conllevando a una alternativa de solución en caso de infecciones severas ocasionadas por este género. El método utilizado para este presente estudio fue el método Kirby Bauer modificado difusión de pozos en placas de agar. En cuanto a los resultados los autores obtuvieron una MIC: 1.56 - 12.5 ug/mL y para apitoxina comercial usada por los presentes investigadores fue de 15-17 mm para una concentración de 0.1 mg/mL. Aunque los investigadores hayan utilizado la apitoxina comercial en su totalidad y los autores con el péptido antimicrobiano melitina, son coincidentes, ya que ambos estudios afirman el efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*.

De acuerdo al estudio de Leandro et al en el año 2015, los valores de la concentración mínima inhibitoria (MIC) para apitoxina comercial, apitoxina natural, melitina, fosfolipasa A2, y la asociación de melitina con fosfolipasa A2 fueron determinados por el método de microdilución en caldo en microplacas, utilizó 96 pocillos, las muestras fueron disueltas en 125 µL de caldo de tripticasa soya (TSB), para producir concentraciones de los compuestos probados entre 4 y 400 µg/mL. El inóculo fue ajustado a 625 nm para cada microorganismo en un espectrofotómetro, para obtener una concentración celular de 5×10^5 unidades formadoras de colonias (UFC/mL). En concentraciones que varían de 0.01 a 5.9 µg/mL fue empleado como el control

positivo. Las microplacas se incubaron a 37 ° C durante 24 h. Los resultados obtenidos de la MIC para la apitoxina comercialmente disponible y para la apitoxina natural ó natural fueron entre 20 y 40 µg/mL, lo cual indicó una buena actividad antibacteriana. En esta investigación coinciden en el uso de apitoxina comercial. Esto concuerda con el presente estudio realizado, en el cual también se trabajó con apitoxina comercial pero, a la concentración 0.1 mg/mL, el método utilizado fue de Kirby Bauer modificado de pozos en placa de agar, evidenciándose la presencia de actividad antibacteriana.

Zolfagharian H.et al en el año 2016, realizaron el estudio de la actividad antibacteriana de seis bacterias, entre Gram positivas y Gram negativas, utilizaron el método de difusión en disco. Los efectos antibacterianos se probaron mediante ensayos por este método. Los cultivos puros se prepararon subcultivando. Los medios de cultivo se diluyeron y ajustaron a 0,5 estándares de McFarland que contenían $1,5 \times 10^8$ UFC / mL para que la misma dosis pueda ser inoculada en experimentos repetidos. Añadieron discos de antibiograma que incluían gentamicina (10 µg / disco) como controles positivos. Las placas se incubaron a 37° C durante 24 a 48 horas, y se midieron las zonas de inhibición. Los experimentos se realizaron al menos cinco veces. La apitoxina se ha establecido por tener efectos antibacterianos contra bacterias Gram positivas. Además, en este estudio, se determinó que la apitoxina inhibe el crecimiento y la supervivencia de cepas bacterianas específicas, pero no otras. Utilizaron; 25, 35 y 45 ug de apitoxina y obtuvo halos de inhibición de 11.46 ± 0.87 mm, 13.24 ± 0.98 mm y 15.51 ± 1.007 mm respectivamente, y los investigadores obtuvieron para una concentración 0.1 mg/mL halos de inhibición de 15 a 17 mm. Los valores obtenidos demuestran resultados casi coincidentes con lo realizado en este estudio, indicando que sí tiene actividad antibacteriana la apitoxina comercial de *Apis mellifera*. El método utilizado por los autores difiere para el presente trabajo, ya que se utilizó el método kirby Bauer modificado de pozos en agar.

En cuanto a la evaluación de la diferencia antibacteriana, en la Tabla 20 de subconjuntos homogéneos a las 72 horas, se confirma resultados superiores por parte de los antibacterianos betalactámicos en estudio, así mismo este resultado es corroborado en la Figura 7 referente al gráfico de cajas de la actividad antibacteriana de apitoxina comercial a las 72 horas, estos resultados son coincidentes con los

estudios resultados obtenidos por: Sang MH et al, en año 2016, evaluaron el efecto potenciador de apitoxina asociado a otros antibacterianos entre ellos; ampicilina, vancomicina y gentamicina, fue necesario encontrar la concentración mínima inhibitoria (MIC) de la apitoxina, y en el presente estudio se utilizó la solución de apitoxina comercial adquirida y la finalidad fue encontrar el efecto antibacteriano contra cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, así mismos, comparar con los antibióticos betalactámicos (ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica). En cuanto a la diferencia de metodología de investigación, los autores utilizaron, el método de microdilución en caldo y el presente estudio se realizó mediante la Dilución por Difusión en pozos de agar. (modificación del método de difusión de discos en agar). Sang MH. et al obtuvieron resultados para la MIC 0.085 ug/mL y 0.11 ug/mL para *Staphylococcus aureus* MRSA (3366 y 3708 respectivamente) y los presentes investigadores, obtuvieron resultados finales de halos de inhibición entre 15–17 mm para una concentración de apitoxina comercial de 0.1 mg/mL. A pesar de las diferencias en la concentración, los resultados tanto de los autores y los presentes investigadores coinciden, por tanto se demuestra que la apitoxina de presentación natural y comercial tienen efecto antibacteriano y además esta puede ser utilizado para potenciar un tratamiento farmacológico.

Mientras que Hegazi et al, en el año 2015, determinaron la actividad antibacteriana de la apitoxina recolectada de *Apis mellifera* aplicando dos Métodos de Recolección: En látex y láminas de fibra para *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, bacterias seleccionadas por la importancia médica. La apitoxina exhibió actividad antibacteriana contra las cinco cepas bacterianas. Estos resultados indican que la apitoxina inhibe el crecimiento y la supervivencia de cepas bacterianas y que el veneno de abeja puede ser un agente antimicrobiano complementario útil contra bacterias patógenas, incluso si el veneno de abeja se recoge por diferentes métodos, tal como se demuestra en el resultado de esta investigación⁴⁰.

La existencia de varios métodos de aplicación para realizar el estudio del efecto antibacteriano, no excluye a otras, por el contrario resaltan otras como lo describe Al Ani L et al en el año 2015, evaluaron la actividad antibacteriana del veneno de abeja contra 51 cepas de bacterias Gam positivas y Gram negativas, cuyo resultado

bactericida de la apitoxina corrobora la hipótesis general, es decir la apitoxina comercial tiene efecto antibacteriano aplicando el método Kirby Bauer modificado de pozos en placa de agar.

En cuanto a la capacidad de inhibición de bacterias patógenas, aún los parámetros están diseñados para ciertos microorganismos, de acuerdo a la sensibilidad frente a determinado antibiótico de amplio espectro, San Mi H. et al en el año 2010, evaluaron la actividad antimicrobiana de *Apis mellifera* contra el acné vulgaris, primero se determinaron la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la incubación de las bacterias, como resultado se obtuvo efecto antimicrobiano contra *propionobacterium acnés*, mientras que Tellez G. et al en el año 2010, realizaron el estudio de los péptidos antimicrobianos (componentes del veneno de abeja), cuyo objetivo fue encontrar péptidos antimicrobianos alternativos, frente a microorganismo resistentes a los antibióticos convencionales. La recopilación de datos de estos autores indican que las propiedades antibacterianas hacen de los péptidos catiónicos sustancias ideales para el desarrollo de aplicaciones terapéuticas. En cuanto a estos dos autores en mención coinciden en obtener la actividad antibacteriana deseada.

Por lo analizado se puede afirmar que el uso de apitoxina , en la práctica tradicional popular no ha logrado la posibilidad de desarrollar una alternativa terapéutica en enfermedades bacterianas y con los resultados obtenidos fortalece su perfil antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus*, existiendo la posibilidad en estudios a futuro poder desarrollar nuevas formulaciones farmacéuticas, con sustentos basados en estudios farmacológicos y su posterior aplicación frente a diversos procesos infecciosos.

6. CONCLUSIONES

- La Apitoxina comercial al 0,1 mg/mL tiene efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Si se puede comparar el efecto antibacteriano entre la apitoxina comercial, ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.
- El efecto antibacteriano de la apitoxina comercial es menor en comparación a los antibióticos betalactámicos utilizados.
- Consideramos que tanto la metodología y el patógeno en estudio son de importancia clínica, por lo que es necesaria su inclusión en futuras investigaciones.

7. RECOMENDACIONES

- 1) La investigación sobre apitoxina bien puede conducir al diseño futuro de nuevos productos farmacéuticos, por ello se recomienda mayores estudios experimentales con apitoxina de presentación comercial y natural.

- 2) Es necesaria la difusión del uso de nuestros recursos naturales y sus propiedades terapéuticas en beneficio de la población, dar prioridad en todos los sectores, sobre todo los de bajos recursos económicos, mediante la educación sanitaria y prevención de enfermedades.

- 3) Priorizar la accesibilidad del recurso natural (apitoxina) para desarrollar estudios de sus componentes activos y su aplicación a futuras investigaciones.

- 4) Deben realizarse nuevos estudios basados en enfoque químico, farmacológico y clínico, porque la apitoxina como tal ha demostrado ser efectiva contra cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1.-Organización Mundial de la Salud. Informe Mundial sobre la Resistencia a los Antibióticos. [Online] [Monografías en Internet]. 2018 [citado el 07 de setiembre del 2018]. Disponible en:

<http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos>

2.-Organización Mundial de la Salud. Informe Mundial sobre la Resistencia a los Antimicrobianos. [Online] [Monografías en Internet]. 2018 [citado el 07 de setiembre del 2018]. Disponible en:

<http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antimicrobianos>

3.-Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID). Plan Nacional para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos. [Internet]. 2018 [citado el 07 de setiembre del 2018]. Disponible en:

www.digemid.minsa.gob.pe/.../Antimicrobianos/PlanNacionalATM-2017-2021.pdf

4.-Arciniega J. et al. Acción *in vitro* de la Apitoxina en entero bacterias de mayor prevalencia patógena procedente de cobayos. Revista Veterinaria Redvet, 18(9), 2017. [citado el 26 de abril del 2018]. Disponible en:

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

5.-Picoli T, Peter CM, Zani JL, Waller SB, Lopes MG, Boesche KN, Vargas GDÁ, Hübner SO, Fischer G (2017) Melittin y su potencial en la destrucción e inhibición de la formación de biofilm por *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* aislada de leche bovina. MicrobPathog 112: 57-62. [PubMed]. [citado el 26 de abril del 2018]. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Melittin+and+its+potential+in+the+destruction+and+inhibition+of+biofilm+formation+by+Staphylococcus+aureus%2C+Escherichia+coli+and+Pseudomonas+aeruginosa+isolated+from+bovine+milk>

6.- Sam Mi Han, In Pyo Hong, Soon Ok Woo, Se Gun Kim, Hye Ri Jang. Actividad antibacteriana *in vitro* del veneno de abeja purificada recopilada de abeja (*Apis mellifera* L.) frente a *Helicobacter pylori* en trabajadores. Universidad Católica de Corea. 2017. 61(6): 350-354 [Pubmed]. [citado el 26 de abril del 2018]. Disponible en: http://www.yakhak.org/journal/view.html?uid=3019&page=&sort=&scale=10&all_k=&s_t=apis+mellifera+helicobacter+pylori&s_a=&s_k=&s_v=&s_n=&spage=&pn=search&year=&vmd=Full

7.-Zolfagharian H, Mohammad M, Babaie M. El veneno de abeja (*Apis mellifera*) una alternativa de potencial eficaz a la gentamicina para cepas de bacterias específicas. 2016 julio; 1(1). [Pubmed]. [citado el 26 de abril del 2018]. Disponible en: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Bee+venom+\(Apis+mellifera\)+an+effective+potential+alternative+to+gentamicin+for+strains+of+specific+bacteria](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Bee+venom+(Apis+mellifera)+an+effective+potential+alternative+to+gentamicin+for+strains+of+specific+bacteria)

8.-Mi Han S, Min King J, Pyo Hong E. Actividad antibacteriana y efectos potenciadores de antibióticos del veneno de abeja melífera contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. [Pubmed]. 2016 Enero; 21(1). [citado el 29 de abril del 2018]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/21/1/79/htm>

9.-Choi JH, Jang AY, Lin S, Lim S, Kim D, Park K, Han SM, Yeo JH, Seo HS (2015). Melittin, un péptido antimicrobiano derivado de veneno de abeja melífera, puede dirigirse a *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. Mol Med Rep 12 (5): 6483-6490 [PubMed]. [citado el 29 de abril del 2018]. Disponible en: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2015.4275>

10.-Al-Ani I, Zimmermann S, Reichling J, Wink M. Sinergia farmacológica de veneno de abeja y Melitina con antibióticos y metabolitos secundarios de plantas contra patógenos microbianos resistentes a múltiples fármacos. Fitomedicina. 2015; 22: 245-255. [PubMed][Referencia cruzada]. [citado el 02 de junio del 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25765829>

11.-Leandro LF, Méndez CA, Casemiro LA, Vinholis AH, Cunha WR, De Almeida R, et al. Actividad antimicrobiana de la apitoxina, melitina y fosfolipasa A₂ del veneno de la abeja (*Apis mellifera*) contra los patógenos orales. Anais de la Academia Brasileira de Ciencias, Marzo; 87(01), 2015. [citado 02 de junio del 2018].

Disponible en:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652015000100147&lng=en&tlng=en

12.- Lee WR, Kim KH, An HJ, Kim JY, Chang YC, Chung H, Park YY, Lee ML, Park KK. Los efectos protectores de la melitina sobre las respuestas inflamatorias inducidas por *Propionibacterium acnes* *in vitro* e *in vivo*. Corea. Julio 2014. 134(7): 1922-1930. [PubMed]. [citado el 02 de junio del 2018]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X15368883>

13.- Han SM, Lee KG, Pak SC. Efectos de los cosméticos que contienen veneno de abeja purificada (*Apis mellifera* L.) purificado sobre el acné vulgar. J Integr Med. Septiembre 2013; 11 (5): 320-6. [PubMed]. [citado el 03 de junio del 2018]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2095496414601345>

14.- Dosler S, Gerceker AA. Actividades *in vitro* de péptidos antimicrobianos; melittin y nisin, solo o en combinación con antibióticos contra bacterias Gram positivas. Junio 2013; 24(3): 127-43. [PubMed]. [citado el 03 de junio del 2018]. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22759757>

15.-Han, SM; Lee, KG; Yeo, JH; Baek, HJ; Park, KK. Efectos antibacterianos y antiinflamatorios del veneno de la abeja melífera (*Apis mellifera*) contra las bacterias inductoras de acné 1. J. Med. Plant Res. 2010, 4, 459-464. [Google Scholar]. [citado el 05 de junio del 2018]. Disponible en:

<http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/44848/capitulo14.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- 16.-Téllez GA, Castaño JC. Péptidos antimicrobianos. Revista colombiana Scielo. 2010 enero; 14(01). [citado el 05 de junio del 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922010000100007
- 17.-Camarena Juan J, Sánchez Roberto. Infección por *Staphylococcus aureus* Resistencia a Meticilina [Internet]. Valencia: Departamento de microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset. [citado el 11 de febrero del 2018]. Disponible en: <http://www.seimc.org/control/revisiones/bacteriologia/sarm.pdf>
- 18.-De Colsa Ranero Agustín: *Staphylococcus aureus*: De la genómica a la clínica. Enfermedades infecciosas en pediatría [Revista en Internet]. [citado el 5 de febrero del 2018]; 24(95). Disponible en: <http://www.enfermedadesinfecciosas.com/files/num95/microbiologia95.pdf>
- 19.-Newsmedical [Internet]. [citado el 07 de febrero del 2018]. Disponible en: <http://www.news-medical.net/health/Staphylococcus-Aureus-and-Disease.aspx>
- 20.-Newsmedical [Internet]. [citado el 08 de febrero del 2018]. Disponible en: <http://www.news-medical.net/health/Staphylococcus-Aureus-Virulence-Factors.aspx>
- 21.-Goodman Gilman, A. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 12º Ed. México: McGraw-Hill Interamericana Editores S.A.; 2012.
- 22.-Alvarado J.C. Antibióticos y Quimioterápicos. Ediciones de Apuntes Médicos del Perú. Edición 3. 2015 p.62-14
- 23.- Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (Digemid) [Internet]. Lima. Ficha técnica. [citado el 12 de Febrero del 2018]. Disponible en: www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Benzatina_Bencilpenicilina.pdf

- 24.-Ramos P. PLM. Colegio Médico del Perú. In Ramirez GU, editor. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. Lima: Thomson; 2017. p. 322.
- 25.-Ramos P. PLM. Colegio Médico del Perú. In Ramirez GU, editor. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. Lima: Thomson; 2017. p. 1094
- 26.- Alvarado J.C. Antibióticos y Quimioterápicos. Ediciones de Apuntes Médicos del Perú. Edición 3. 2015 p.9-13
- 27.-Nuñez Betancourt, A. Revista de Medicina Interna y Medicina Crítica Medicrit. 2006. 3 (6).
- 28.-Jawets, Melnik, Adelberg. Microbiología Médica. 25 Ed. México D.F. Editorial McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. 2011.
- 29.-Günter Schlegel H. Microbiología General. Nueva Edición ed. Stuttgart GTVd, editor. Barcelona: Omega S.A. Allgemeine Mikrobiologie; 1997. Pag.114
- 30.-Castro A.M. Bacteriología médica basados en problemas. 2 Ed. El Manual Moderno S.A.; 2014: México D.F.
- 31.-Medlineplus [internet]. 2017 [citado el 12 de Febrero del 2018].
Disponible en:
https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/19679.htm
- 32.- Flores J. Farmacología Humana. 3 Ed. Barcelona: Masson S.A.; 1997
- 33.-Gómez Gonzáles W., Gonzáles Santos E., Rosales Rojas R. Metodología de la Investigación. 1 Ed. Lima: Cym Innova Publicidad; 2015.
- 34.-Hernández Sampieri R. Metodología de la Investigación. 6 Ed. McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. México D.F.; 2014.

35.-Sánchez García E., Castillo Hernández, S.L., García Palencia. Investigación en plantas de importancia Médica. Barcelona, España: OmniaScience. 77-100.

36.-Picazo J. Procedimientos en Microbiología Clínica. Ediciones de autores. Edición 11.2000 p.54.

37.-Schlecht H.P. et al. Manual MSD. Introducción a los fármacos infecciosos. Enfermedades infecciosas. Ediciones de autores. 2018. p.24.

38.-Scientist-site [internet] 2018. [citado el 02 de julio del 2018]. Microbiología.

Disponible en:

www.labdemicrobiología.wixsite.com/scientist-site/blank-ch2nw

39.-*Apis mellifera*. [Internet].2018 [citado el 02 de julio del 2018].

Disponible en:

www.mielarlanza.com/es/contenido/?iddoc=122

40.- Hegazi A, Feel E, Abdel-Rahman E, Abed Al-Fattah A. Antibacterial Activity of Bee Venom Collected from *Apis mellifera* Carniolan Pure and Hybrid Races by Two Collection Methods. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci [Internet] 2015 [citado el 14 de setiembre del 2018] 4(4): 141-149. Disponible en:

<https://www.ijcmas.com/vol-4-4/Ahmed%20G.%20Hegazi,%20et%20al.pdf>

41.- Apitoxina, una excelente opción terapéutica. [Internet].2009.[citado el 19 de Setiembre del 2018]. Disponible en:

www.farmeco.com.uy/apitoxina-una-excelente-opcion-terapeutica/homeopatia

42.- De Felice LJ.PJ. Apitoxina. In 01. Editor. Preparados, especificaciones y Farmacología. Buenos Aires. Ediciones Argentinas; 201

43.- Apitoxina, Apiterapia. . [Internet].2018.[citado el 19 de Setiembre del 2018]

Disponible en:

<https://apiterapia.com.ec/portal/apiterapia/apitoxina>

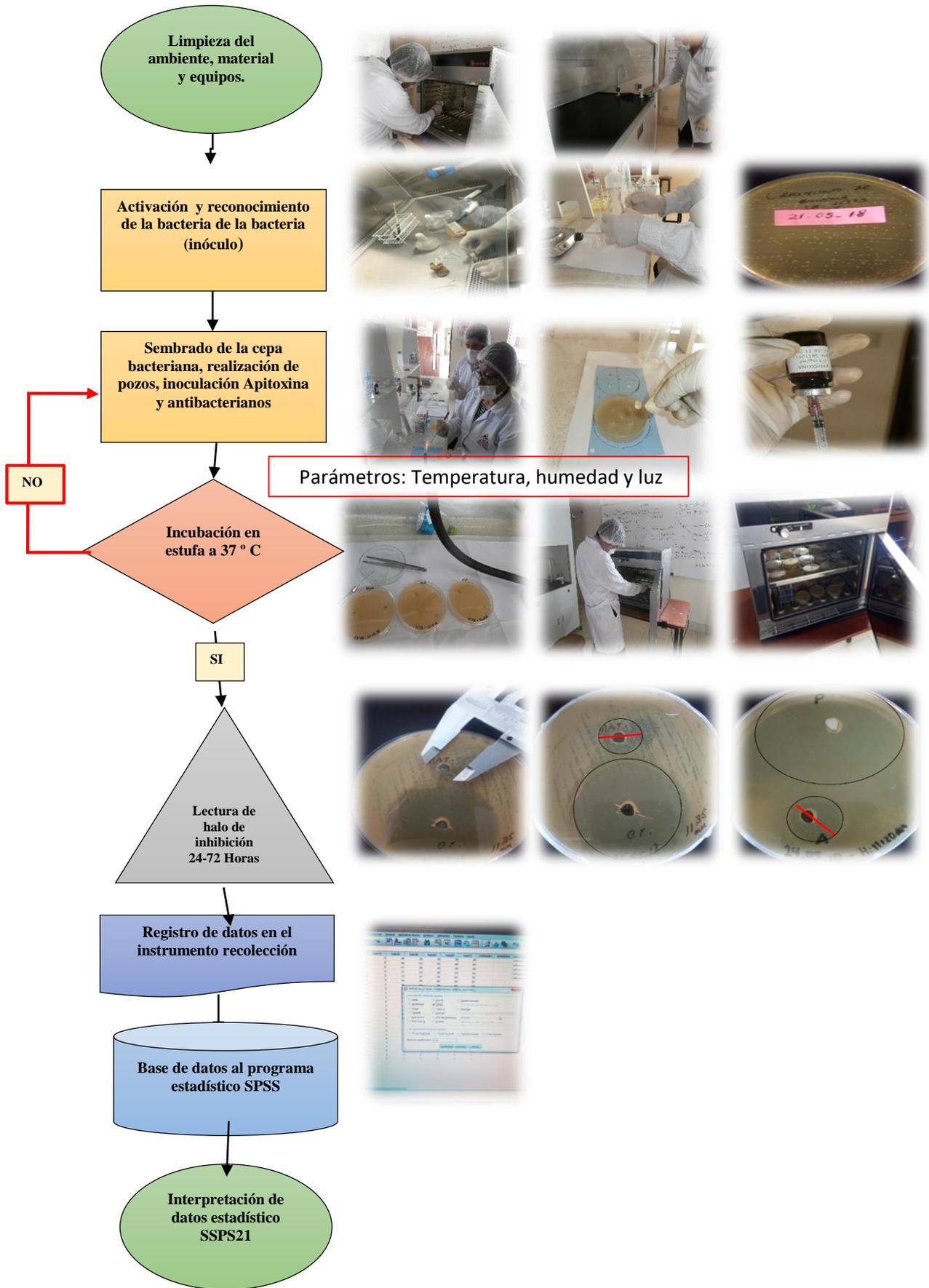
9. ANEXO: 9.1. Matriz de Consistencia

| | | | | | | |
|--|---|---|--|---|---|---|
| <p>FORMULACIÓN DEL PROBLEMA</p> | <p>1. Problema General. -¿Se puede determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> la apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y este efecto es comparable con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica?</p> <p>2. Problemas Específicos -¿Se puede evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> la apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> a la concentración del 0.1 mg/mL frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923? -¿Se puede comparar el efecto de apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica? -¿Cuál es la diferencia del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> entre la apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> a la concentración del 0.1 mg/mL frente a ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica?</p> | | | | | |
| <p>OBJETIVOS</p> | | <p>HIPÓTESIS</p> | | | | |
| <p>2.-Objetivo General -Determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y su comparación con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.</p> <p>3.-Objetivos Específicos -Evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de la apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> a la concentración del 0.1 mg/mL frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. -Comparar el efecto de la apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica. -Evaluar la diferencia del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> entre la apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> a concentración del 0.1 mg/mL frente a ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.</p> | | <p>4.1Hipótesis General -Tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> la apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 , y su comparación con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.</p> <p>4.2Hipótesis Específica -Tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> la apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> a la concentración del 0.1 mg/mL frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. -Se puede comparar el efecto de la apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica. -Presenta diferencias antibacterianas <i>in vitro</i> la apitoxina comercial de <i>Apis mellifera</i> a la concentración del 0.1 mg/mL frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en comparación con ceftriaxona, meropenem y penicilina benzatínica.</p> | | | | |
| <p>5.-METODOLOGÍA</p> | <p>5.1. Tipo de investigación -Analítico, Experimental, Longitudinal y Prospectivo.</p> | <p>5.2.Nivelde Investigación -Explicativo</p> | <p>5.3.DiseñodeInvestigación -Apitoxina comercial -Ceftriaxona 1g -Meropenem 1g -Penicilina G benzatínica 1 200 000 UI</p> | <p>5.4.Población y muestra -Apitoxina comercial. -<i>Staphylococcus aureus</i></p> | <p>5.5.VariabledeEstudio -Independiente: Apitoxina comercial. -Dependiente: Efecto Antibacteriano.</p> | <p>5.6.Instrumentos de Recolección de Datos -ficha recolección de datos</p> <p>5.7.Método de investigación - Método modificado de difusión en pozos de agar (Kirby Bauer)</p> |

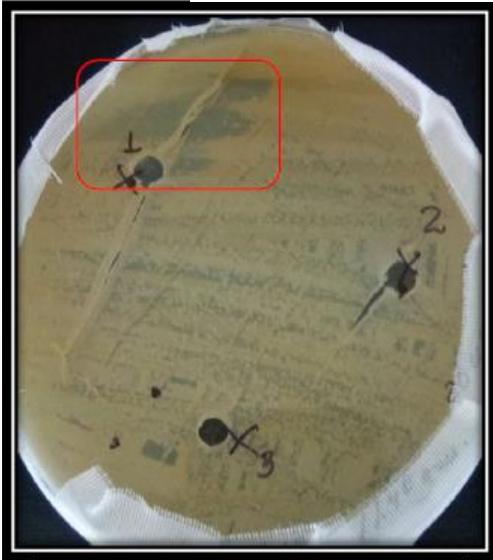
9.2. Instrumento de recolección de datos

| | Apitoxina | | | | | | | Ceftriaxona | | | | | | | Meropenem | | | | | | | Penicilina Benzatínica | | | | | | | Blanco |
|---------|-----------|----|----|----|----|----|-----|-------------|----|----|----|----|----|-----|-----------|----|----|----|----|----|-----|------------------------|----|----|----|----|----|-----|---------|
| Hora | 12 | 24 | 36 | 48 | 60 | 72 | Obs | 12 | 24 | 36 | 48 | 60 | 72 | Obs | 12 | 24 | 36 | 48 | 60 | 72 | Obs | 12 | 24 | 36 | 48 | 60 | 72 | Obs | <12-72> |
| Placa 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 | 36 | 36 | 36 | 38 | 40 | | 0 | 54 | 56 | 60 | 60 | 62 | | 0 | 48 | 54 | 59 | 59 | 61 | | 0 |
| Placa 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 | 40 | 43 | 45 | 48 | 50 | | 0 | 55 | 57 | 59 | 61 | 62 | | 0 | 49 | 54 | 58 | 59 | 60 | | 0 |
| Placa 3 | 0 | 15 | 17 | 17 | 17 | 17 | | 0 | 41 | 46 | 46 | 48 | 48 | | 0 | 56 | 58 | 58 | 60 | 62 | | 0 | 47 | 49 | 58 | 62 | 64 | | 0 |
| Placa 4 | 0 | 14 | 14 | 15 | 15 | 15 | | 0 | 41 | 43 | 46 | 52 | 54 | | 0 | 56 | 58 | 60 | 62 | 64 | | 0 | 49 | 50 | 57 | 62 | 64 | | 0 |
| Placa 5 | 0 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | | 0 | 41 | 45 | 50 | 52 | 56 | | 0 | 55 | 58 | 60 | 62 | 64 | | 0 | 50 | 60 | 62 | 62 | 65 | | 0 |

Diagrama de Flujo del proceso



Resultados



23-05-2018
Mancha irregular a las 72 horas de
Apitoxina comercial de *Apis mellifera*
Mancha irregular



24-05-2018
Halo de inhibición a las 72 horas de
Apitoxina comercial de *Apis mellifera*.
17 mm



25-05-2018
Halo de inhibición a las 72 horas de
Apitoxina comercial de *Apis mellifera*.
15 mm

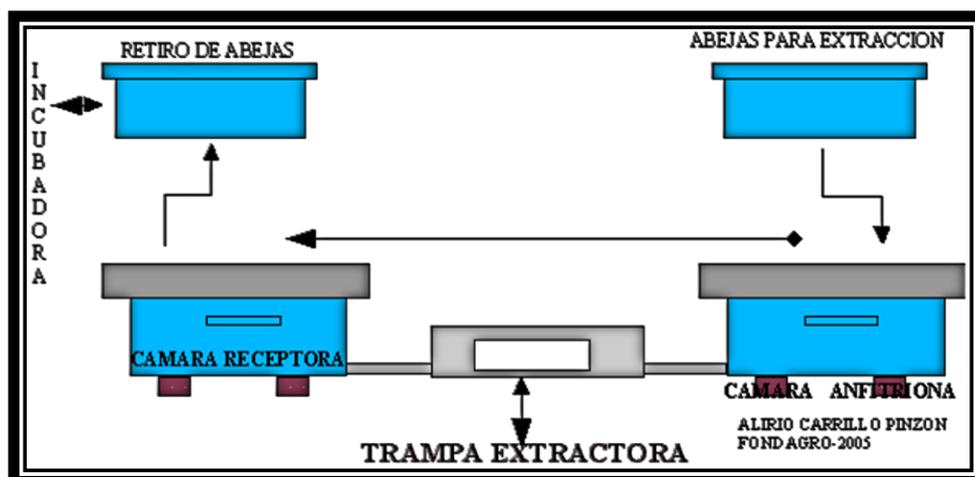


26-05-2018
Halo de inhibición a las 72 horas de
Apitoxina comercial de *Apis mellifera*.
15 mm

Adquisición de la Apitoxina comercial de *Apis mellifera*



Trampa Extractora de Apitoxina



Raspado de Apitoxina Seca



El período de cosecha se extiende desde Septiembre hasta Marzo, cuando las abejas están en pleno desarrollo y trabajando en la temporada de miel.

Un dato importante es que se necesitan aproximadamente unas setenta colmenas para producir un gramo de Apitoxina, el cual se comercializa a valores de 100 a 200 dólares, mientras que en otros países como Rusia se habla de 40 dólares el gramo.

Las colmenas deben ser fuertes y presentar excelentes condiciones sanitarias.