



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DE DOS
MUESTRAS DE MIEL DE *Apis mellifera* FRENTE A CEPAS DE
Staphylococcus aureus ATCC 25923

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES:

Bach. HUANCARI MONTES, LISBETH MARIBEL

<https://orcid.org/0009-0007-1949-4222>

Bach. SAMANIEGO ROJAS, AMERICA ESTELA

<https://orcid.org/0009-0004-3046-230X>

ASESOR

Mg. TOVAR TICSE, ROSMERY DIONICIA

<https://orcid.org/0000-0001-9520-5372>

Lima – Perú

2023

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **HUANCARI MONTES, LISBETH MARIBEL**, con DNI **73930443** en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el **TITULO PROFESIONAL** (grado o título profesional que corresponda) de título **COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DE DOS MUESTRAS DE MIEL DE *Apis mellifera* FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N° 30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documentos es ORIGINAL con un porcentaje de similitud 20% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 26 de Enero de 2024.



HUANCARI MONTES LISBETH MARIBEL
DNI: 73930443



DRA. TOVAR TICSE ROSMERY DIONICIA
DNI: 76967427

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **SAMANIEGO ROJAS, AMERICA ESTELA**, con DNI **75398785** en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el **TITULO PROFESIONAL** (grado o título profesional que corresponda) de título **COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DE DOS MUESTRAS DE MIEL DE *Apis mellifera* FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N° 30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documentos es ORIGINAL con un porcentaje de similitud 20% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 26 de Enero 2024.



SAMANIEGO ROJAS AMERICA ESTELA
DNI: 75398785



DRA. TOVAR TICSE ROSMERY DIONICIA
DNI: 76967427

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

Bach. HUANCARI MONTES, LISBETH MARIBEL Bach.
SAMANIEGO ROJAS, AMERICA ESTELA

INFORME DE ORIGINALIDAD

20%

INDICE DE SIMILITUD

21%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

9%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	12%
2	Submitted to Universidad Maria Auxiliadora SAC Trabajo del estudiante	3%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
4	repositorio.uss.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	doaj.org Fuente de Internet	1%
6	repositorio.uoosevelt.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	www.mdpi.com Fuente de Internet	1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi luz, mi guía permitiéndome tener vida y salud, a mi madre Aquila Montes P. pues sin ella no lo habría logrado, por su bendición a diario a lo largo de mi vida, su amor, paciencia y su apoyo incondicional; a mi padre Aurelio Huancari Q. que día a día con sus consejos de superación y protección cuidaron de mí; a mis hermanos menores porque ellos fueron mi motivación para seguir superándome profesionalmente y ser parte del orgullo familiar y a mi novio por confiar siempre en mí para poder realizar uno más de mis propósitos.

Lisbeth Maribel Huancari Montes

A Dios por ser mi fuente principal de vida y sabiduría, a mis padres por sus buenos deseos, cariño y apoyo incondicional, en especial a mi hermana Sunny Valeria Samaniego Rojas por ser uno de mis pilares en mi vida, mi ejemplo de superación, fuerza y de su amor incondicional, por acompañarme en esta etapa universitaria.

America Estela Samaniego Rojas

AGRADECIMIENTO

Al concluir una etapa tan maravillosa de nuestra vida quiero extender un profundo agradecimiento a Dios, por ser nuestra fortaleza y guía espiritual en todo tiempo.

A la universidad, mi inmensa gratitud por abrirnos las puertas para formarnos profesionalmente.

A nuestra asesora, Mg. Tovar Ticse, Rosmery Dionicia por su dedicación y enseñanza brindada en este proceso de la investigación.

A los apicultores Andrés Huancari Llantoy y Gordy Pizarro Ybarra por recibirnos y darnos el acceso a su campo de trabajo para la obtención de la recolección de las muestras de miel.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	8
ABSTRACT	9
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	7
II.1. Enfoque y diseño de la investigación	7
II.2. Población, muestra y muestreo	7
II.3. Variables de investigación	7
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	8
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos	8
II.6. Procesamiento del análisis estadístico	10
II.7. Aspectos éticos	10
III. RESULTADOS	11
IV. DISCUSIÓN	19
V. CONCLUSIONES	22
VI. RECOMENDACIONES	23
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
ANEXOS	32
ANEXO A. Instrumentos de recolección de datos	32
ANEXO B. Matriz de consistencia	35
ANEXO C. Operacionalización de las variables	36
ANEXO D. Informe de resultados de laboratorio	37
ANEXO E. Certificado de Agar Mueller Hinton	38
ANEXO F. Certificado de análisis de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
41	
ANEXO G. Evidencia fotográfica	43
ANEXO H. Carta de autorización	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Resultados de la prueba de solubilidad	11
Tabla 2: Resultados del tamizaje fitoquímico	11
Tabla 3: Resultados del ensayo microbiológico de sensibilidad	13
Tabla 4: Resultados del porcentaje de zona de inhibición	14
Tabla 5: Estadística descriptiva de la muestra de miel de Junín.....	15
Tabla 6: Estadística descriptiva de la muestra de miel de Ayacucho.....	15
Tabla 7: ANOVA de un factor de los grupos experimentales.....	16
Tabla 8: HSD de Tukey de los grupos experimentales	17

RESUMEN

Objetivo: Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de dos muestras de miel de *Apis mellifera* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Materiales y métodos: Estudio experimental, cuantitativo, explicativo y transversal. Las muestras de miel procedente Junín y Ayacucho se sometieron a las pruebas de solubilidad, tamizaje fitoquímico según Olga Lock, así como la prueba de difusión en pozos, a las concentraciones de 100 %, 50 % y 20 % frente a ciprofloxacino de 5 ug (control positivo) y agua destilada (control negativo).

Resultados: En la prueba de solubilidad, ambas muestras se disolvieron en solventes polares, mientras que en el tamizaje fitoquímico se identificaron alcaloides, saponinas y lactonas α , β insaturadas como principales metabolitos secundarios y azúcares como metabolitos primarios, finalmente en el ensayo microbiológico las concentraciones al 100 % presentaron una media de sus halos de inhibición de 17,468 mm \pm 0,027 mm y 20,184 mm \pm 0,011 mm, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, para las muestras de Junín y Ayacucho, respectivamente. Las técnicas estadísticas determinaron que existe diferencia significativa entre cada grupo experimental, a pesar de que ninguno de estos fue superior al control positivo.

Conclusión: Las dos muestras de miel de *A. mellifera* presentan efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, pero la muestra de Ayacucho es ligeramente superior.

Palabras clave: Efecto antibacteriano, miel de *Apis mellifera*, *Staphylococcus aureus*, tamizaje fitoquímico, *in vitro*.

ABSTRACT

Objective: To compare in vitro antibacterial effect of two *Apis mellifera* honey samples against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strains.

Materials and methods: Experimental, quantitative, explanatory and cross-sectional study. Honey samples from Junín and Ayacucho were subjected to solubility tests, phytochemical screening according to Olga Lock, as well as the diffusion test in wells, at concentrations of 100 %, 50 % and 20 % against 5 ug ciprofloxacin (positive control) and distilled water (negative control).

Results: In the solubility test, both samples were dissolved in polar solvents, while in the phytochemical screening alkaloids, saponins and α,β -unsaturated lactones were identified as main secondary metabolites and sugars as primary metabolites, Finally, in the microbiological test, the concentrations at 100 % showed an average of their inhibition halos of 17.468 mm \pm 0.027 mm and 20.184 mm \pm 0.011 mm, against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, for the samples from Junín and Ayacucho, respectively. Statistical techniques determined that there is a significant difference between each experimental group, although none of them was superior to the positive control.

Conclusion: Both samples of *A. mellifera* honey show in vitro antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strains, but the sample from Ayacucho is slightly superior.

Key word: Antibacterial effect, *Apis mellifera* honey, *Staphylococcus aureus*, phytochemical screening

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto respiratorio son patologías que afectan las vías aéreas del ser humano, estas representan un problema sanitario global por su complejidad en el tratamiento y los altos índices de morbimortalidad, los principales agentes etiológicos son microorganismos tales como virus y bacterias, principalmente (1). A pesar que los virus son la principal causa en el 80 % de los casos, las infecciones de origen bacteriano resaltan porque afectan a grupos vulnerables de la población y además producen un alto porcentaje de muertes por año (2). Entre los agentes bacterianos más comunes se encuentra *Bordetella pertussis*, así como *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* (3). Esta bacteria presenta factores de virulencia capaces de producir enfermedades como la neumonía (4), afecta principalmente a pacientes ancianos, inmunodeprimidos o que presentan enfermedades crónicas como diabetes mellitus (5). Por otro lado, aparece como una coinfección en patologías de origen viral como en el caso de la influenza, complicando más aún el tratamiento farmacológico (6). Para la (OMS) es un patógeno prioritario para la búsqueda de nuevos antibióticos (7). En cuanto a su epidemiología es responsable de causar el 9 % y 23 % de los casos de neumonía comunitaria e intrahospitalaria, respectivamente (8), en la Unión Europea representa el 23 % de los casos y en Estados Unidos es el principal agente causal de neumonía con un índice mayor al 30 % y provocó más de 9000 muertes en el 2014(9–11). En países asiáticos como Malasia su prevalencia oscila entre el 17 y 28 % (12). En el Perú, durante finales de la década de los 90, esta bacteria fue una de las principales en afectar a pacientes pediátricos (13), en el año 2021 un estudio realizado en un nosocomio de Lima, halló que de 367 muestras de secreciones en pacientes hospitalizados en más del 40 % se aisló a esta bacteria (14), mientras que en un hospital de la ciudad de Piura su prevalencia fue del 82 %, afectando también al personal de salud (15). Tal como se ha descrito, la alta prevalencia de este agente patógeno se debe principalmente a la resistencia contra los antibióticos que presenta (16), esta es una característica que causa demasiada preocupación en las autoridades de salud a nivel mundial, ya que complica la eficacia del tratamiento antibiótico en las patologías respiratorias, lo que afecta con mayor fuerza a los pacientes internados

en hospitales debido a que muchos de ellos se encuentran con ventilación mecánica y esto representa un alto riesgo de contraer neumonía, shock séptico, entre otras infecciones provocadas por *S. aureus* (17).

Ante tal situación, la OMS ha sugerido una serie de acciones coordinadas para detener el avance de la resistencia contra los antibióticos, una de ellas es la búsqueda científica de nuevas sustancias antimicrobianas, que se pueden hallar en los productos naturales (18), tales como la flora de Perú, así como otros recursos como la miel, la cual es un producto con mayor acceso a toda la población de los diferentes sectores del país.

En la presente investigación el problema general es:

- ¿Existe diferencia del efecto antibacteriano *in vitro* de las dos muestras de miel de *Apis mellifera* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

En la presente investigación cuenta con las siguientes preguntas secundarias:

- ¿Qué tipos de constituyentes químicos orgánicos son responsables del efecto antibacteriano *in vitro* de las dos muestras de miel de *Apis mellifera*?
- ¿A qué concentración las muestras de miel de *Apis mellifera* presentaran efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
- ¿Cuál será el efecto antibacteriano *in vitro* de las muestras de miel de *Apis mellifera* en comparación con ciprofloxacino 5 µg frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

La miel es un alimento viscoso elaborado por las abejas que recolectan el néctar de las flores, este producto les sirve como una fuente energética que pueden almacenar en sus panales (19). Este alimento está constituido principalmente por carbohidratos tales como fructosa, glucosa, sacarosa, maltosa, entre otros azúcares. Además, presentan en menor cantidad aminoácidos, compuestos aromáticos, vitaminas, minerales, lípidos, carotenoides y compuestos fenólicos como los flavonoides (20,21). Por otro lado, se le conoce por presentar una variedad de propiedades farmacológicas como antibacteriano, antiinflamatorio y antioxidante (22). En Perú, según el ministerio de agricultura y riego, los

departamentos con mayor producción son Apurímac, Cajamarca, Cusco, Junín, La libertad y Lima, pero además hay otras provincias como Ayacucho que están empezando a aumentar su producción en apicultura (23). En cuanto a la capacidad antimicrobiana de la miel, este producto ha demostrado inhibir el crecimiento de microorganismos evitando su diseminación sobre heridas, esto se debería a una serie de factores como la presión osmótica, el pH ácido y los compuestos químicos que presenta como los fenoles, estos al actuar en sinergismo reducen la capacidad de que los microorganismos generen resistencia contra la miel por lo cual resultan muy eficaces como antibioticoterapia (24).

Staphylococcus aureus, es una procariota grampositiva que en los medios de cultivo presenta coloración dorada debido a la presencia de un pigmento denominado estafiloxantina el cual le brinda protección contra las células de defensa, es un microorganismo inmóvil, catalasa positiva, anaerobia facultativa y no formadora de esporas; puede crecer en óptimas condiciones a temperaturas que oscilan entre 35 y 40°C, así como en ambientes con un 25 % de sal (25). Su morfología está compuesta por una cápsula que le brinda protección de la fagocitosis, una pared celular y proteínas de superficie que le permiten colonizar tejidos, algunas de ellas son la proteína de unión a fibrinógeno, proteína A, etc. Además de contar con exotoxinas como la del síndrome de Shock tóxico, enterotoxinas y alfa toxina, los cuales a su vez son sus factores de virulencia lo que le permite producir diferentes patologías en el ser humano (26,27). Las manifestaciones más comunes que produce esta bacteria son la bacteriemia, que es la llegada de la bacteria al torrente sanguíneo, infecciones dérmicas y de tejidos blandos como el impétigo, mastitis, fascitis necrotizante, etc., infecciones osteoarticulares como la osteomielitis y la artritis séptica, endocarditis e infecciones respiratorias como la neumonía, por otro lado, esta bacteria también puede generar enfermedades mediante sus toxinas como intoxicación alimentaria, entre otras (26).

Entre los antecedentes internacionales se encuentran las investigaciones de:

Gregorio A, *et al.* (2021), en su investigación realizada en Brasil, evaluaron el potencial antibacteriano de diferentes muestras de miel de *A. mellifera* provenientes de Paraná frente a diferentes patógenos incluido *Staphylococcus*

aureus, para ello utilizaron la técnica de dilución de caldo además de análisis fitoquímico de las muestras. Como principales resultados hallaron flavonoides principalmente, en cuanto a su efecto antibacteriano *S. aureus* fue muy sensible ante todas las muestras de miel a comparación de otras bacterias. Concluyendo que todas las muestras presentan potencial antibacteriano (28).

Valle Y, Méndez G, Suarez B (2019), en su investigación realizada en Nicaragua, analizaron la propiedad antibacteriana de la miel de *A. mellifera* frente a microorganismos gramnegativos y grampositivos, como métodos utilizaron la técnica de Kirby y Bauer y concentración mínima inhibitoria (CMI). En sus resultados hallaron que *S. aureus* fue una de las bacterias más susceptibles con una CMI de 75 g/mL. Concluyendo que la miel representa un producto adecuado para enfrentar infecciones por esta bacteria (29).

Vica M, *et al.* (2021), en su investigación realizada en Rumania, evaluaron la propiedad antibacteriana de la miel de *Apis mellifera* frente a patógenos de importancia clínica en comparación con ciprofloxacino, utilizando el método de difusión en agar. Como resultado, la muestra de *S. aureus* mostró un halo de 18 mm y *P. aureginosa* uno de 17 mm. Concluyendo que la miel puede inhibir el crecimiento bacteriano (30).

Los antecedentes nacionales pertenecen a los estudios de:

Bellido M (2018), en su tesis elaborada en Lima, determinó la propiedad antibacteriana de la miel de *Apis mellifera*, frente a *S. pneumoniae*, utilizando la técnica de difusión en agar, las diluciones se prepararon a las concentraciones de 25, 50 y 75 % de miel. En los resultados halló valores de 8; 9.3 y 17.3 mm para las concentraciones de 25, 50 y 75 % respectivamente. Concluyendo que concentraciones superiores al 50 % de miel presentan efecto antibacteriano (31).

Vélez L, Zambrano J (2018), en su estudio realizado en Lambayeque, analizaron la propiedad antibacteriana de la miel de *A. mellifera* frente a *S. aureus* y *E. coli*, para ello trabajaron con concentraciones de 100 y 50 %. En sus resultados ambas bacterias fueron susceptibles para dichas concentraciones, siendo *S. aureus* el microorganismo más sensible. Confirmando así el efecto antibacteriano frente a estos dos microorganismos (32).

Silva C, Valenzuela R y Portocarrero M (2018), en su investigación realizada en Lambayeque, compararon la capacidad antibacteriana de tres muestras de miel de *A. mellifera*, provenientes de diferentes regiones del Perú sobre *Streptococcus mutans*, mediante la técnica de difusión en pozo a las concentraciones de 100, 50 y 25 %. Como resultados obtuvieron que las concentraciones al 100 y 50 % de las muestras de la sierra obtuvieron los valores más altos, concluyendo que estas muestras tienen mayor potencial a comparación de las demás regiones (33).

La justificación de la investigación será brindar conocimiento etnofarmacológico y fitoquímico sobre la miel de *A. mellifera* producida en Perú, las cuales, debido a diferencias ambientales y climáticas como el clima, humedad, radiación solar, entre otros; pueden influir en diferencias como la presencia de fitoconstituyentes los cuales son los responsables de ejercer la acción terapéutica (34), en este caso el efecto antibacteriano. Dicha información será fundamental para población que no cuenta con un adecuado acceso a los servicios médicos debido a factores socioeconómicos. Por otro lado, también se pretende hallar una nueva alternativa terapéutica de fácil acceso para el tratamiento de patologías originadas por *Staphylococcus aureus*, ya que según datos del Ministerio de Salud es un microorganismo con una prevalencia importante en el Perú (35), otra razón es disminuir la capacidad de que esta bacteria se vuelva resistente a los antibióticos, puesto que este fenómeno no solo genera graves consecuencias en el sector de la salud, sino que también afecta la economía de un país al incrementar los costos por atención médica (36). Es por estas razones que se debe seguir investigando y difundiendo información científica sobre este producto natural, del cual más adelante se podría obtener una nueva gama de moléculas con propiedades antimicrobianas. Por último, los datos de los ensayos microbiológicos y fitoquímicos se obtendrán a partir de metodologías previamente utilizadas en otros estudios, los cuales han mostrado resultados de gran impacto y confiables.

El objetivo general fue comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de dos muestras de miel de *Apis mellifera* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Los objetivos secundarios son:

- Identificar los constituyentes químicos orgánicos responsables del efecto antibacteriano *in vitro* de las dos muestras de miel de *Apis mellifera*.
- Precisar a qué concentración las muestras de miel de *Apis mellifera* presentaran efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de las muestras de miel de *Apis mellifera* con ciprofloxacino de 5 µg. frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

La hipótesis general es: Las dos muestras de miel de *Apis mellifera* tienen el mismo efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Las hipótesis secundarias serán las siguientes:

- Las dos muestras de miel de *Apis mellifera* tienen constituyentes químicos orgánicos responsables del efecto antibacteriano *in vitro*.
- Las muestras de miel de *Apis mellifera* poseen efecto antibacteriano *in vitro* a mayor concentración frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- El efecto antibacteriano *in vitro* de las muestras de miel de *Apis mellifera* es significativamente mayor comparado con ciprofloxacino 5 µg frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de la investigación

Cuantitativo porque se utilizaron técnicas estadísticas y numéricas para analizar y medir los datos (37). Experimental debido a que las investigadoras manipularon las variables propuestas, explicativo porque brindó una posible causa para los eventos observados (37,38), y además transversal porque los datos se obtuvieron en un momento único (38).

II.2. Población, muestra y muestreo

Población

La población vegetal estuvo conformada dos muestras de 1 kg de miel de *A. mellifera*. La primera muestra procede del departamento de Ayacucho, provincia de Cangallo, distrito de Tottos, con coordenadas 13°33'54"S, 74°31'22"W. La segunda muestra se recolectó en el departamento de Junín, provincia de Satipo, distrito de Rio Negro, con coordenadas 11°12'32"S 74°39'24"W.

La población microbiológica consistió en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Muestra

Ambas muestras estuvieron conformadas por 100 mg de miel.

La muestra microbiológica consistió en 10 placas petri con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Criterios de inclusión:

- Miel elaborada únicamente por la abeja de la especie *Apis mellifera*

Criterios de exclusión:

- Miel con restos de abejas o trozos de panal.

Muestreo: probabilístico aleatorio simple.

II.3. Variables de investigación

Variable Independiente: Muestras de miel de *A. mellifera*.

- **Definición conceptual:** Producto alimenticio líquido con alto contenido de azúcares y de consistencia viscosa producido a partir de abejas a partir del néctar de las flores (19).
- **Definición operacional:** Concentración de las muestras de miel de *A. mellifera*.

Variable dependiente: Efecto antibacteriano in vitro frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

- **Definición conceptual:** Es la propiedad de una sustancia química que genera lisis o detiene la multiplicación de células procariotas (39).
- **Definición operacional:** Sensibilidad bacteriana detectada ante la miel de *Apis mellifera*.

II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

La técnica que se utilizará será la observación y el instrumento será la ficha de observación (40).

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1. Recolección de la muestra vegetal

La recolección de las muestras de miel de *A. mellifera* se realizó según las indicaciones del apicultor responsable. Estas se recolectaron en los departamentos de Ayacucho y Junín. Una vez recolectadas, se almacenaron en frascos de vidrio de color ámbar y se rotularon para identificar el origen de cada muestra.

II.5.2. Prueba de solubilidad

Para este análisis se utilizó 1 mL de cada una de las muestras de miel, posteriormente se agregó 1 mL de: agua destilada, etanol de 70° y 96°, metanol, butanol, éter de petróleo, cloroformo y diclorometano (41).

II.5.3. Tamizaje fitoquímico

Se utilizó 2 mL de cada muestra de miel y 6 mL de agua destilada, la técnica se realizó según Olga Lock. Las pruebas que se realizaron

fueron: reacción de Borntrager (antraquinonas), Cloruro férrico (compuestos fenólicos), Liebermann - Burchard (terpenos y esteroides), Dragendorff, Mayer y Wagner (alcaloides), Baljet (lactonas α , β -insaturadas), Gelatina y Gelatina-sal (taninos), NaOH 10% (antocianinas), Benedict y Fehling A y B (azúcares reductores), Espuma (saponinas) y Shinoda (Flavonoides) (42,43).

II.5.4. Análisis Microbiológico

La activación de la cepa estándar se realizó utilizando el Kwik-stik, el cual permitió hidratar el producto liofilizado. Luego se usó un hisopo estéril para sumergirlo en la suspensión obtenida y sembrar en agar nutritivo la cepa de *S. aureus* ATCC 25923. Luego fue llevado a incubación a 37°C por 24 horas (43).

Posteriormente, se realizó la estandarización del inóculo comparándola visualmente con el estándar de McFarland, obteniendo una suspensión equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Al finalizar este proceso, la cepa se sembró en agar Mueller Hinton (44).

Las concentraciones de la miel se prepararon a partir de las muestras madres, las cuales al ser el producto puro están al 100 % de concentración, para la preparación al 20 % se utilizó 2 mL de miel y 8 mL de agua destilada y al 50 % se trabajó con 5 mL de miel y 5 mL de agua destilada (32).

Se utilizó la técnica de difusión en pozos (33), para lo cual se realizaron pozos de un diámetro de 6 mm en cada una de las placas, en cada uno de estos se agregó 50 μ L de cada sustancia experimental, a excepción del control positivo que venía preparado bajo la forma comercial de disco. Se utilizaron un total de 10 placas Petri.

Las sustancias experimentales fueron:

1. Muestra de miel de *A. mellifera* al 20 %.
2. Muestra de miel de *A. mellifera* al 50 %.
3. Muestra de miel de *A. mellifera* al 100 %.
4. Discos de ciprofloxacino 5 µg
5. Agua destilada

Por último, las placas se llevaron a la estufa a 37°C durante 24 a 48 horas. Con ayuda de un vernier se midió el diámetro de los halos. También se utilizó la escala de Duraffourd para medir de manera cualitativa y de manera cuantitativa por el porcentaje de zona de inhibición (43,45).

II.6. Procesamiento del análisis estadístico

El trabajo estadístico se realizará con un nivel de significancia ($p < 0,05$) y 95 % de confiabilidad, a través del software Statistical Package for Social Sciences – SPSS versión 27. Y se utilizarán las técnicas de ANOVA de una vía y el test HSD de Tukey.

II.7. Aspectos éticos

Durante la investigación no se utilizaron humanos ni animales, por lo que no existe ningún conflicto de intereses ético. Por otro lado, se siguieron todos los protocolos de bioseguridad con la finalidad de evitar accidentes que puedan poner en riesgo la integridad de los investigadores, así como los resultados de cada procedimiento.

III. RESULTADOS

III.1. Prueba de solubilidad

Tabla 1: Resultados de la prueba de solubilidad

TUBO	SOLVENTES	MIEL DE JUNÍN	MIEL DE AYACUCHO
N° 1	Éter de petróleo	-	-
N° 2	Diclorometano	-	-
N° 3	Cloroformo	-	-
N° 4	Butanol	-	-
N° 5	Etanol de 96°	++	+++
N° 6	Etanol de 70°	+++	++
N° 7	Metanol	+++	++
N° 8	Agua destilada	++	+++

(-): Insoluble; (+): Poco soluble; (++) : Medianamente soluble; (+++): Muy soluble

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 1, se aprecia que ambas muestras de miel presentan una mayor afinidad por los solventes de naturaleza polar a comparación de los de naturaleza apolar.

III.2. Tamizaje fitoquímico

Tabla 2: Resultados del tamizaje fitoquímico

TUBO	ENSAYOS	METABOLITOS	MIEL DE JUNÍN	MIEL DE AYACUCHO
Metabolitos secundarios				
N° 1	Borntrager	Antraquinonas	+	+
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	++	+
N° 3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	-	-
N° 4	Dragendorff	Alcaloides	++	+++

N° 5	Mayer	Alcaloides	+++	+++
N° 6	Wagner	Alcaloides	-	-
N° 7	Baljet	Lactonas α , β -insaturadas	+++	+++
N° 8	Gelatina	Taninos	+	+
N° 9	Gelatina-sal	Taninos	+	+
N° 10	NaOH 10 %	Antocianinas	++	+
N° 11	Shinoda	Flavonoides	-	+
N° 12	Espuma	Saponinas	++	+++
Metabolitos primarios				
N° 13	Fehling A y B	Azúcares reductores	+++	+++
N° 14	Benedict	Azúcares reductores	+++	+++

(-): Ausencia; (+): Mínima; (++): Mediana (+++): Abundante presencia

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 2, el tamizaje fitoquímico indica que ambas muestras cuentan con la abundante presencia de azúcares reductores, así como de alcaloides y lactonas α , β -insaturadas. A pesar de ello la miel de Ayacucho presenta mayor presencia de saponinas, mientras que la muestra de Junín presenta mediana presencia de antocianinas y compuestos fenólicos a comparación de la otra muestra.

III.3. Ensayo microbiológico

Tabla 3: Resultados del ensayo microbiológico de sensibilidad

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm (Miel de Junín)				
	100 %	50 %	20 %	Ciprofloxacino de 5 ug	Agua destilada
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	17,45	12,63	6	35,84	6
	17,40	12,60	6	35,85	6
	17,56	12,68	6	35,94	6
	17,49	12,58	6	35,89	6
	17,44	12,64	6	35,84	6
	Promedio	17,468	12,626	6	35,872
Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm (Miel de Ayacucho)				
	100 %	50 %	20 %	Ciprofloxacino de 5 ug	Agua destilada
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20,19	14,94	9,43	35,86	6
	20,22	14,97	9,39	35,79	6
	20,15	14,88	9,45	35,84	6
	20,18	14,93	9,43	35,89	6
	20,18	14,94	9,40	35,87	6
	Promedio	20,184	14,932	9,42	35,872

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 3, se muestran los resultados del ensayo microbiológico por cada muestra de miel utilizada.

Según la escala de Duraffourd, los valores para evaluar la sensibilidad o resistencia son los siguientes:

- Nula (-): para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad baja (+): para un diámetro entre 9 a 14 mm.
- Sensibilidad Media (++) : para un diámetro entre 14 y 20 mm.
- Sensibilidad alta (+++): para un diámetro superior a 20 mm.

De acuerdo a estos valores, ambas muestras de miel al 100 % y la muestra al 50 % procedente de Ayacucho presentan una sensibilidad media frente a las cepas de *S. aureus* ATCC 25923.

Según el porcentaje de eficacia, se realizaron los siguientes cálculos, teniendo en cuenta el valor promedio del control positivo (ciprofloxacino de 5 de ug) como el 100 %. Los resultados se plantearon en la siguiente tabla:

Tabla 4: Resultados del porcentaje de zona de inhibición

Miel de Junín					
Grupos utilizados	Muestra al 100 %	Muestra al 50 %	Muestra al 20 %	Ciprofloxacino de 5 ug	Agua destilada
Porcentaje de eficacia	49 %	35 %	17 %	100 %	17 %
Miel de Ayacucho					
Grupos utilizados	Muestra al 100 %	Muestra al 50 %	Muestra al 20 %	Ciprofloxacino de 5 ug	Agua destilada
Porcentaje de eficacia	56 %	42 %	26 %	100 %	17 %

Fuente: Elaboración propia.

La tabla 4, indica que solo la muestra de miel procedente de Ayacucho a una concentración del 100 % presentó una inhibición mayor al 50 %,

mientras que la muestra de Junín a la misma concentración solo alcanzó un 49 %.

III.4. Procesamiento del análisis estadístico

Tabla 5: Estadística descriptiva de la muestra de miel de Junín

	N estadístico	Rango estadístico	Mínimo estadístico	Máximo estadístico	Suma estadístico	Media estadística	Error estándar	Desv. Estándar
Muestra al 100 %	5	0,16	17,40	17,56	87,34	17,468	0,027	0,004
Muestra al 50 %	5	0,10	12,58	12,68	63,13	12,626	0,017	0,001
Muestra al 20 %	5	0,00	6,00	6,00	30,00	6,000	0,000	0,000
Ciprofloxacino	5	0,10	35,84	35,94	179,36	35,872	0,019	0,002
Agua destilada	5	0,00	6,00	6,00	30,00	6,000	0,000	0,000

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 27

Tabla 6: Estadística descriptiva de la muestra de miel de Ayacucho

	N estadístico	Rango estadístico	Mínimo estadístico	Máximo estadístico	Suma estadístico	Media estadística	Error estándar	Desv. Estándar
Muestra al 100 %	5	0,07	20,15	20,22	100,92	20,184	0,011	0,025
Muestra al 50 %	5	0,09	14,88	14,97	74,66	14,932	0,014	0,032
Muestra al 20 %	5	0,06	9,39	9,45	47,10	9,420	0,010	0,024
Ciprofloxacino	5	0,09	35,75	35,84	178,98	35,872	0,015	0,035
Agua destilada	5	0,00	6,00	6,00	30,000	6,000	0,000	0,000

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 27

Las tablas 5 y 6 indican de manera general, los grupos utilizados durante el ensayo de susceptibilidad microbiológica contra las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, el número de placas utilizados para cada uno de ellas y la

media estadística de las medidas de los halos de inhibición que se produjeron por muestra, así como el error estándar.

Tabla 7: ANOVA de un factor de los grupos experimentales

	SS	df	MS	F	P value
Between groups	3333	7	199,238	408706,108	0,000
Within groups	0,037	32	0,002		
Total	3333, 04	39			

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 27

H_{nula} = Las dos muestras de miel de *Apis mellifera* no tienen el mismo efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

H_{alternativa} = Las dos muestras de miel de *Apis mellifera* si tienen el mismo efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

La tabla 7 muestra el Análisis de Varianza (ANOVA), donde se aprecia principalmente el valor P o valor de significación, y siendo alfa = 0,05, cuando el valor p es mayor al valor alfa, la hipótesis es nula, indicando que no hay diferencia significativa entre las medias; cuando el valor p es menor al valor alfa, la hipótesis es alternativa, indicando que sí existe diferencia significativa entre las medias, por lo tanto, al ser el valor de significación (0,00) menor al valor alfa (0,05), la hipótesis es alternativa, corroborando la hipótesis “Las dos muestras de miel de *Apis mellifera* si tienen el mismo efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.”, que nos indica a su vez que existe diferencia significativa entre los grupos de muestras.

Tabla 8: HSD de Tukey de los grupos experimentales

Group 1	Group 2	mean	std err	P value
Ciprofloxacino	Agua	29,872	0,015264	0,000
	Muestra al 20 % (M1)	29,872	0,015264	0,000
	Muestra al 20 % (M2)	26,452	0,015264	0,000
	Muestra al 50 % (M1)	23,246	0,015,264	0,000
	Muestra al 50 % (M2)	20,94	0,015264	0,000
	Muestra al 100 % (M1)	18,404	0,015264	0,000
	Muestra al 100 % (M2)	15,688	0,015264	0,000
Agua	Muestra al 20 % (M1)	0	0,015264	0,000
	Muestra al 20 % (M2)	3,42	0,015264	0,000
	Muestra al 50 % (M1)	6,626	0,015264	0,000
	Muestra al 50 % (M2)	8,932	0,015264	0,000
	Muestra al 100 % (M1)	11,468	0,015264	0,000
	Muestra al 100 % (M2)	14,184	0,015264	0,000
Muestra al 20 % (M1)	Muestra al 20 % (M2)	3,42	0,015264	0,000
	Muestra al 50 % (M1)	6,626	0,015264	0,000
	Muestra al 50 % (M2)	8,932	0,015264	0,000
	Muestra al 100 % (M1)	11,468	0,015264	0,000
	Muestra al 100 % (M2)	14,184	0,015264	0,000
Muestra al 20 % (M2)	Muestra al 50 % (M1)	3,206	0,015264	0,000
	Muestra al 50 % (M2)	5,512	0,015264	0,000
	Muestra al 100 % (M1)	8,048	0,015264	0,000
	Muestra al 100 % (M2)	10,764	0,015264	0,000

Muestra al 50 % (M1)	Muestra al 50 % (M2)	2,306	0,015264	0,000
	Muestra al 100 % (M1)	4,842	0,015264	0,000
	Muestra al 100 % (M2)	7,558	0,015264	0,000
Muestra al 50 % (M2)	Muestra al 100 % (M1)	2,536	0,015264	0,000
	Muestra al 100 % (M2)	5,252	0,015264	0,000
Muestra al 100 % (M1)	Muestra al 100 % (M2)	2,716	0,015264	0,000

(M1): Miel de Junín; (M2): Miel de Ayacucho

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 27

En la tabla 8, se presenta el Test HSD de Tukey, el cual indica la comparación de las medias de las muestras, a través del rango de diferencia de medias, además indica una significación o valor p en todas las comparaciones de medias de 0,000 lo que nos vuelve a indicar que hay diferencia significativa entre las medias.

IV. DISCUSIÓN

En la investigación realizada, durante el ensayo de solubilidad, la miel de Junín fue muy soluble en etanol de 70° y metanol, mientras que la muestra de Ayacucho lo fue en agua destilada y etanol de 96°, esto indica su alta afinidad de ambas muestras por los solventes polares, esto se debe probablemente al alto contenido de azúcares que presentan en su composición, estas moléculas presentan grupos hidroxilos lo que les confiere polaridad suficiente para interactuar, principalmente con el agua. Por otro lado, estos resultados concuerdan con los obtenidos por **León M y Flores Y (2018)** (41) quienes hallaron que sus muestras de miel fueron solubles y muy solubles en etanol y agua destilada, respectivamente.

En el tamizaje fitoquímico cualitativo, la muestra de miel de Junín dio positivo para la presencia mediana de compuestos fenólicos, alcaloides, antocianinas y saponinas, mientras que, para la muestra de Ayacucho, se halló en abundante presencia a las saponinas, Lactonas α , β -insaturadas y alcaloides. Ambas muestras tienen en común la gran presencia de azúcares reductores, así como de alcaloides, principalmente. Nuestros resultados son compatibles con los de **León M y Flores Y (2018)** (41) quienes utilizaron el mismo método fitoquímico y hallaron la presencia notoria de alcaloides y azúcares reductores, de igual manera lo son para **Vílchez y et al. (2023)** (46) pero, por otro lado, **Gregorio A y et al. (2021)** (28) indican que son los flavonoides y compuestos fenólicos los metabolitos secundarios más abundantes de la miel, esto lo señalan de igual manera **Mokaya y et al. (2020)** (24) así como **Viteri y et al. (2021)** (47). La notable diferencia en la presencia de los fitoconstituyentes de las muestras con las de otros estudios probablemente se deba a las diferencias geográficas de cada muestra analizada, ya que como indican **Campo O e Hincapié G (2023)** (48) la miel es un producto el cual sus propiedades biológicas y fisicoquímicas pueden alterarse según la flora o las condiciones geográficas, de igual manera **Tafere D (2021)** (49) agrega que las condiciones climáticas tales como precipitaciones, humedad, calor así como las condiciones químicas del suelo pueden afectar el contenido de metabolitos secundarios y primarios en la miel.

En el análisis microbiológico, se aplicó la técnica de difusión en pozos debido a que es una técnica de elección para evaluar la capacidad antibacteriana en las muestras de la miel, tal como lo indica **Hossain M y et al. (2022)** (50) en su estudio sobre metodologías en la evaluación del efecto antibacteriano de la miel. En cuanto a los resultados, se halló que ambas muestras de miel al 100 % fueron más efectivas, así como la muestra de Ayacucho a la concentración del 50 %, mientras que ambas muestras al 20 % no tuvieron efectos relevantes frente a las cepas de *S. aureus* ATCC 25923. Este resultado discrepa con los que obtuvieron **Gregorio y et al. (2021)** (28), ya que en sus resultados sus muestras a menor concentración tuvieron un efecto más relevante frente a *S. aureus*; en cuanto al estudio realizado por **Valle Y y et al. (2019)** (29) estos indican que existe relación directamente proporcional entre la concentración de la miel y su efecto antibacteriano, este enunciado va de acuerdo a lo hallado en esta investigación; de igual manera los resultados hallados por **Vica M y et al. (2021)** (30) concuerdan con lo hallado en este análisis, ya que observaron que *S. aureus* es una de las bacterias que menor resistencia presenta frente a la miel. Además, **Vílchez y et al. (2023)** (46) declararon que la miel de *A. mellifera* en un porcentaje menor al 30 % presenta un nulo efecto antibacteriano, tal como lo muestran los resultados de las muestras utilizadas al 20 % en esta investigación.

En cuanto al análisis estadístico, las tablas 5 y 6 nos indican que los promedios de los halos de inhibición van aumentando a la vez se incrementa la concentración de cada muestra de miel, en la prueba de ANOVA de un factor, el valor de p fue de 0,00 lo que indica que existe diferencia significativa entre cada uno de los grupos experimentales. Mientras que en el test HSD de Tukey se apreció que entre grupos existe diferencia significativa, siendo el control positivo superior a comparación de los demás grupos experimentales. A pesar de ello, las concentraciones al 100 % obtuvieron promedios de halos de inhibición de $17,469 \pm 0,27$ y $20,184 \pm 0,11$ para las muestras de Junín y Ayacucho, respectivamente.

Algunos autores como **Alvia C y Olortegui A (2021)** (43) indican que los alcaloides presentan actividad antibacteriana, así como los taninos y otros compuestos fenólicos, los cuales por sí solos tienen un mecanismo de acción o también pueden actuar en sinergismo entre ellos o con otros fitoconstituyentes.

Finalmente, en el Perú se ha demostrado que los estudios fitoquímicos y de farmacología experimental de los productos naturales en estudio, como la miel, son limitados, debido a los resultados, este producto merece seguir en estudio; y con base en su potencial actividad antimicrobiana se debe proponer la separación de metabolitos secundarios, dilucidar su estructura química y establecer la relación estructura química/actividad.

V. CONCLUSIONES

- Las dos muestras de miel de *A. mellifera* presentan efecto antibacteriano in vitro frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, pero la muestra de miel de Ayacucho es ligeramente superior.
- Las dos muestras de miel de *A. mellifera* presentan fitoconstituyentes como alcaloides, saponinas, lactonas α , β -insaturadas y azúcares reductores, posibles responsables de su efecto antibacteriano.
- Las dos muestras de miel de *A. mellifera* presentan notable efecto antibacteriano in vitro a la concentración de 100 % frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- Las diferentes concentraciones de las dos muestras de miel de *A. mellifera* no fueron superiores al control positivo (Ciprofloxacino 5 μ g) frente cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

VI.RECOMENDACIONES

- Continuar con el estudio del efecto antibacteriano de la miel de *A. mellifera*, pero esta vez con muestras clínicas de bacterias en pacientes hospitalizados para evaluar su efecto frente a cepas resistentes.
- Realizar estudios fitoquímicos cuantitativos, así como la elucidación de sus principales componentes químicos mediante técnicas instrumentales, con la finalidad de aislar una molécula con actividad farmacológica y que pueda producirse bajo una determinada forma farmacéutica.
- Realizar investigaciones en donde se siga comparando los efectos farmacológicos de la miel de *A. mellifera* procedente de distintas regiones del Perú.
- Incentivar a las universidades y/o centros privados de investigación al estudio de las diferentes propiedades de la miel de *A. mellifera*.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MINSA. Boletín Epidemiológico del Perú SE 02-2020. Lima Boletín Epidemiológico del Minist salud del Perú [Internet]. 2020;29:32–59. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2020/02.pdf>
2. Córdova D, Chávez C, Bermejo E, Jara X, Santa Maria F. Prevalencia de infecciones respiratorias agudas en niños menores de 5 años en un centro materno-infantil de Lima. Horiz Médico [Internet]. 2020;20(1):54–60. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2020000100054
3. Bertrand P, Sanchez I. Pediatric Respiratory Disease [Internet]. 1 ed. Springer; 2020. 777 p. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-26961-6_28#citeas
4. Laux C, Peschel A, Krismer B. Staphylococcus aureus Colonization of the human nose and interaction with other microbiome members. Microbiol Spectr [Internet]. 2019;7(2):1–10. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31004422/>
5. Romero L, de Souza da Cunha M. Insights into the epidemiology of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus in special populations and at the community-healthcare interface. Brazilian J Infect Dis [Internet]. 2021;25(6):1–9. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1413867021001057>
6. Rowe H, Meliopoulos V, Iverson A, Bomme P, et al. Direct interactions with influenza promote bacterial adherence during respiratory infections. Nat Microbiol [Internet]. 2019;4(8):1328–36. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41564-019-0447-0#citeas>
7. Bloom D, Cadarette D. Infectious disease threats in the twenty-first century: Strengthening the global response. Front Immunol [Internet]. 2019;10:1–12. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6447676/>

8. Bassetti M, Magnasco L, Vena A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lung infection in coronavirus disease 2019: How common? *Curr Opin Infect Dis* [Internet]. 2022;35(2):149–62. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8900893/>
9. Jean S, Chang Y, Lin W, et al. Epidemiology, treatment, and prevention of nosocomial bacterial pneumonia. *J Clin Med* [Internet]. 2020;9(1):1–21. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31963877/>
10. Jackson K, Gokhale R, Nadle J, Al. E. Public Health Importance of Invasive Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* Infections: Surveillance in 8 US Counties, 2016. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2020;70(6):1021–8. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article/70/6/1021/5477381>
11. Borg M, Camilleri L. What Is Driving the Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in Europe? *Microb Drug Resist* [Internet]. 2021;27(7):889–94. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33337277/#:~:text=Results%3A>
12. Che A, Yeo C, Pua S, et al. *Staphylococcus aureus* infections in Malaysia: A review of antimicrobial resistance and characteristics of the clinical isolates, 1990–2017. *Antibiotics* [Internet]. 2019;8(3):1–29. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31454985/>
13. Morán F, Ochoa T. Prevention, diagnosis, and treatment of pediatric infections during natural disasters. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2017;34(4):723–30. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342017000400021
14. Cabrejos L, Vives C, Ingar J, Al. E. Frecuencia de *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente adquirido en la comunidad en un hospital de tercer nivel en Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2021;38(2):313–7. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342021000200313

15. Michilot K. Frecuencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina aislados en fosas nasales en el personal del hospital regional José Cayetano Heredia de la ciudad de Piura, Perú [Internet]. Universidad Nacional de Piura; 2020. Disponible en: <https://repositorio.unp.edu.pe/handle/20.500.12676/2926>
16. Tilouche L, Dhia R, Boughattas S, et al. *Staphylococcus aureus* Ventilator - Associated Pneumonia: A Study of Bacterio - Epidemiological Profile and Virulence Factors. *Curr Microbiol* [Internet]. 2021;78:2556–62. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00284-021-02512-x#citeas>
17. Chung H, Merakou C, Schaefers M, Al. E. Rapid expansion and extinction of antibiotic resistance mutations during treatment of acute bacterial respiratory infections. *Nat Commun* [Internet]. 2022;13(1):1–10. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41467-022-28188-w>
18. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2021. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
19. Silva F. Comparación del efecto antibacteriano in vitro entre muestras de miel de *Apis mellifera* producida en la costa, sierra y selva del Perú, contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Internet]. Universidad Señor de Sipán; 2018. Disponible en: <https://repositorio.uss.edu.pe/handle/20.500.12802/4734>
20. Mera L, Cuadros F, García J, et al. Efecto de miel de abeja (*Apis mellifera*) en la conservación de la pasta de macadamia (*Macadamia integrifolia*). *Manglar* [Internet]. 2022;19(1):107–15. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2414-10462022000100107&script=sci_arttext&tlng=es
21. Bicudo L, Barth O, Dietemann V, et al. Standard methods for *Apis mellifera* honey research. *J Apic Res* [Internet]. 2020;59(3):1–62. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.1080/00218839.2020.1738135?scroll=top&needAccess=true&role=tab>

22. Vílchez H, Cervantes L, Inocente M. Uso de la miel de *Apis mellifera* en agar base para diferenciar cepas bacterianas con característica oxidativa-fermentadora. *Ars Pharm* [Internet]. 2019;60(2):119–24. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2340-98942019000200119
23. Ministerio de Agricultura y Riego. Plan nacional de desarrollo apícola [Internet]. Lima; 2015. Disponible en: https://www.midagri.gob.pe/portal/download/pdf/marcolegal/normaslegales/resolucionesministeriales/2015/abril/plan_rm125-2015-minagri.pdf
24. Mokaya H, Bargul J, Irungu J, et al. Bioactive constituents , in vitro radical scavenging and antibacterial activities of selected *Apis mellifera* honey from Kenya. *Int J Food Sci Technol* [Internet]. 2020;55(3):1246–54. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33071471/>
25. Apayco N. Factores asociados a la colonización de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en fosas nasales en estudiantes del programa de microbiología de la universidad nacional de San Cristobal de Huamanga-Ayacucho, 2019 [Internet]. Universidad Nacional del Callao; 2020. Disponible en: <http://repositorio.unac.edu.pe/handle/20.500.12952/5613>
26. Verdú C. Caracterización de cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* aisladas en el Hospital Rural de Gambo (Etiopía). Efecto in vitro de compuestos dendríticos [Internet]. Universidad de Alcalá; 2019. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=283624>
27. Sempere J. *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* : enfermedad invasiva, biofilm y terapia [Internet]. Universidad Complutense de Madrid; 2022. Disponible en: <https://docta.ucm.es/entities/publication/42f8725d-afe7-4743-9dae-1879e4c3a901>
28. Gregorio A, Galhardo D, Sereia M, Al. E. Antimicrobial activity , physical-chemical and activity antioxidant of honey samples of *Apis mellifera* from different regions of Paraná , Southern Brazil. *Food Sci Technol* [Internet]. 2021;41(2):583–90. Disponible en:

<https://www.scielo.br/j/cta/a/gxmzfNTdMGWdPpjWRmrXwLM/?lang=en>

29. Valle Y, Méndez G, Suarez B. Efecto antibacteriano in vitro de la miel producida por la abeja *Apis mellifera* en microorganismos Gram + y Gram -, en los laboratorios del departamento de Bioanálisis clínico I.P.S. Marzo-Diciembre del año 2018 UNAN-MANAGUA. [Internet]. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; 2019. Disponible en: <https://repositorio.unan.edu.ni/10758/1/99977.pdf>
30. Vica M, Glevitzky M, Tit D, et al. The antimicrobial activity of honey and propolis extracts from the central region of Romania. *Food Biosci* [Internet]. 2021;41:1–10. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212429221001395>
31. Bellido M. Efecto antibacteriano in vitro de la miel *Apis mellifera* del centro apicultor Rinconada Alta del distrito de Lurin frente a la cepa de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 [Internet]. Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018. Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/2131>
32. Velez L, Zambrano J. Efecto inhibitorio in vitro de la miel de abeja sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aisladas de heridas superficiales [Internet]. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2018. Disponible en: <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/2113>
33. Silva C, Valenzuela R, Portocarrero M. Comparación del efecto antibacteriano de tres tipos de miel sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). *Av Odontostomatol* [Internet]. 2018;34(6):294–8. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852018000600003#:~:text=
34. Pauer D, Park S, Roca M, et al. Diferencias en la presencia de alcaloides y fenoles de cinco muestras de muña de expendio informal procedentes de mercados populares en Lima - Perú. *Horiz Med* [Internet]. 2018;18(3):25–9. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2018000300005

35. Quispe Z. Situación Epidemiológica de las Infecciones Asociadas a la Atención en Salud, en el Perú [Internet]. 2019. Disponible en: <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/tools/teleconferencia/2022/SE322022/03.pdf>
36. Fu P, Xu H, Jing C, et al. Bacterial Epidemiology and Antimicrobial Resistance Profiles in Children Reported by the ISPED Program in China, 2016 to 2020. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2021;9(3):e0028321. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34730410/>
37. Arispe C, Yangali J, Guerrero M, et al. *La investigación científica*. 1 ed. Universidad Internacional del Ecuador; 2020. 128 p.
38. Hernandez R, Mendoza C. *Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta*. 1 ed. Mexico: McGrawHill; 2018. 751 p.
39. Acosta J, Armas A. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Camellia sinensis* y propóleo, frente a cepas de *Streptococcus mutans* Antibacterial effect of the ethanolic extract. *Odontol Sanmarquina* [Internet]. 2022;25(2):1–11. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/21298>
40. Gallardo E. *Metodología de la investigación*. 1 ed. Huancayo: Universidad Continental; 2017. 96 p.
41. León M, Flores Y. Preparación de agar FLYM a partir de miel de abeja y propóleo de *Apis mellífera* para detectar contaminantes bacterianos [Internet]. Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018. Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/4186>
42. Yelin A, Kuntadi. Phytochemical identification of honey from several regions in Java and Sumbawa. *AIP Conf Proc* [Internet]. 2019;2120(July):1–6. Disponible en: <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2019AIPC.2120h0024Y/abstract>
43. Alvia C, Olortegui A. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de *Solanum sessiliflorum* (cocona) frente a cepas

- de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* [Internet]. Universidad Maria Auxiliadora; 2021. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/786>
44. Abdallah E, Hamed A. Screening for antibacterial activity of two jujube honey samples collected from Saudi Arabia. *J Apitherapy* [Internet]. 2019;5(1):6–9. Disponible en: <https://www.japitherapy.com/abstract/screening-for-antibacterial-activity-of-two-jujube-honey-samples-collected-from-saudi-arabia-47329.html>
45. Checalla J, Sánchez M. Actividad antibacteriana de un extracto etanólico de propóleo peruano frente a *Streptococcus mutans*. *Rev Cuba Invest Bioméd* [Internet]. 2021;40(3):1–12. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002021000400011
46. Vilchez H, Olortegui A, Chu E y Alvia C. Optimización de un medio de cultivo para *Escherichia coli* a base de miel de abeja. *Revista Cubana de Medicina Militar* [Internet]. 2023;52(3): e0230282. Disponible en: <https://revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/2821>
47. Viteri R, Zacconi F, Montenegro G, Giordano A. Bioactive compounds in *Apis mellifera* monofloral honeys. *J Food Sci* [Internet]. 2021; 86(5):1552–82. Disponible en: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1750-3841.15706>
48. Campo O e Hincapié G. Factores que determinan las propiedades fisicoquímicas de la miel de abejas: Revisión Sistemática de Literatura. *Mutis* [Internet]. 2023;13(1): 1-28. Disponible en: <https://revistas.utadeo.edu.co/index.php/mutis/article/view/Factores-determinan-propiedades-fisicoquimicas-miel-abejas-revision-sistemica-literatura>
49. Tafere D. Chemical composition and uses of Honey: A Review. *J Food Sci Nutr Res* [Internet]. 2021;04(03):194–201. Disponible en: <https://www.fortuneonline.org/articles/chemical-composition-and-uses-of-honey-a-review.html>

50. Hossain M, Lim L, Hammer K, Hettiarachchi D y Locher C. A review of commonly used methodologies for assessing the antibacterial activity of honey and honey products. *Antibiotics* [Internet].11(7): 975. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6382/11/7/975>

ANEXOS

ANEXO A. Instrumentos de recolección de datos

ENSAYO MICROBIOLÓGICO *in vitro*

Investigador (es):

Muestra:

Fecha:

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	Miel de <i>A. mellifera</i> al 20 %	Miel de <i>A. mellifera</i> al 50 %	Miel de <i>A. mellifera</i> al 100 %	Ciprofloxacino de 5 µg	Agua destilada
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923					
Promedio					

Fuente: Elaboración propia

TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE *A. mellifera*

Metabolitos Secundarios y primarios	Reactivos	Miel de Junín	Miel de Ayacucho
Antraquinonas	Borntrager		
Compuestos fenólicos	FeCl ₃		
Terpenos y Esteroides	Liebermann - Burchard		
Alcaloides	Dragendorff		
Alcaloides	Mayer		
Alcaloides	Wagner		
Lactonas α , β - insaturadas	Baljet		
Taninos	Gelatina		
Taninos	Gelatina-Sal		
Antocianinas	NaOH 10%		
Azúcares Reductores	Benedict		
Azúcares Reductores	Fehling A y B		
Saponinas	Espuma		
Flavonoides	Shinoda		

(-): Ausencia; (+): Mínima; (++) : Mediana (+++): Abundante presencia

Fuente: Elaboración propia

PRUEBA DE SOLUBILIDAD DE LAS MUESTRAS DE MIEL DE *A. mellifera*

TUBO	SOLVENTES	Miel de Junín	Miel de Ayacucho
N° 1	Éter de petróleo		
N° 2	Diclorometano		
N° 3	Cloroformo		
N° 4	Butanol		
N° 5	Etanol de 96°		
N° 6	Etanol de 70°		
N° 7	Metanol		
N° 8	Agua destilada		

(-): Insoluble; (+): Poco soluble; (++) : Medianamente soluble; (+++): Muy soluble

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO B. Matriz de consistencia

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		
			VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADORES
¿Existe diferencia del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de las dos muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de dos muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	Las dos muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> tienen el mismo efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	Muestras de miel de <i>Apis mellifera</i>	Fitoquímica	Identificación de constituyentes químicos orgánicos. Reacciones químicas de coloración, precipitación y pruebas de solubilidad.
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS			
¿Qué tipos de constituyentes químicos orgánicos son responsables del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de las dos muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> ?	Identificar los constituyentes químicos orgánicos responsables del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de las dos muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> .	Las dos muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> tienen constituyentes químicos orgánicos responsables del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> .	VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADORES
¿A qué concentración las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> presentarán efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Precisar a qué concentración las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> presentarán efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	Las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> poseen efecto antibacteriano <i>in vitro</i> a mayor concentración frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	Efecto antibacteriano frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Microbiológico	Medición del diámetro de inhibición (halos de inhibición)
¿Cuál será el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> en comparación con ciprofloxacino 5 µg frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Comparar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> con ciprofloxacino de 5 µg frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	El efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> es significativamente mayor comparado con ciprofloxacino 5 µg frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.			

ANEXO C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
VARIABLE INDEPENDIENTE Muestras de miel de <i>Apis mellifera</i>	Fitoquímica	Marcha fitoquímica	Ordinal	14	(-) Ausente (+) Leve (++) Moderado (+++) Abundante
VARIABLE DEPENDIENTE Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Microbiológico	Medición de diámetro inhibición (mm)	Razón	10	<8 mm: nulo (-) 8 – 14 mm: Sensible (+) 14 – 20 mm: Muy sensible (++) >20 mm: Sumamente sensible (+++)

ANEXO D. Informe de resultados de laboratorio



"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"

Informe de Resultados

Solicitado por: Bach. Huancari Montes, Lisbeth Maribel

Bach. Samaniego Rojas, America Estela

Muestra: Miel de *Apis mellifera*

Fecha de ensayo: 15-10-2023

Microorganismo		Diámetros de inhibición en mm				
		100%	50%	20%	ciprofloxacino	Agua
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Miel (1)	17.45	12.63	6	35.84	6
		17.40	12.60	6	35.85	6
		17.56	12.68	6	35.94	6
		17.49	12.58	6	35.89	6
		17.44	12.64	6	35.84	6
	Miel (2)	20.19	14.94	9.43	35.86	6
		20.22	14.97	9.39	35.79	6
		20.15	14.88	9.45	35.84	6
		20.18	14.93	9.43	35.89	6
		20.18	14.94	9.40	35.87	6

*Tamaño de pozo: 6mm, por lo que al reportarse 6 mm es indicativo que no existe formación halo de inhibición

*Concentración del inoculo: 1.5×10^8 UFC/mL

Lic. T.M. Walter A. Siri Rodríguez

CTMP. 10808

ANEXO E. Certificado de Agar Mueller Hinton



CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT CM0337B
MUELLER HINTON AGAR 500g

LOT NUMBER 3681362

EXPIRY DATE 2028.06.05

DATE OF MANUFACTURE 2023.06.07

Delivery/Customer information

Date Printed
 2023.06.30

Delivery No.

Customer
 Customer Order Number

Physical Characteristics	Results	Specification
Appearance	Straw powder	Straw powder
Colour on reconstitution	Straw 2-3	Straw 2-3
pH (25°C)	7.3	7.2 - 7.4
Clarity	Clear	Clear

Microbiological Performance

Antibiotic susceptibility tests are performed in accordance with, and meet the acceptance limits of, the current ISO/TS 16782. Performance is assessed using EUCAST methodology.

Staphylococcus aureus ATCC®25923 WDCM00034

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Erythromycin E15	29	22 - 30
Tetracycline TE30	27	24 - 30
Ciprofloxacin CIP5	26	22 - 30
Amoxicillin-clavulanate AMC30	34	28 - 36
Ampicillin-sulbactam SAM20	35	29 - 37
Linezolid LZD30	25	25 - 32
Cefoxitin FOX30	29	23 - 29
Gentamicin CN10	26	19 - 27
Penicillin P10	35	26 - 37

Staphylococcus aureus ATCC®29213 WDCM00131

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Penicillin P1	15	12 - 18
Cefoxitin FOX30	28	24 - 30
Ciprofloxacin CIP5	22	21 - 27
Erythromycin E15	25	23 - 29
Gentamicin CN10	22	19 - 25
Linezolid LZD10	22	21 - 27
Tetracycline TE30	26	23 - 31



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED
 Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
 oxoid@thermofisher.com www.oxoid.com

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

PRODUCT CM0337B
MUELLER HINTON AGAR 500g
LOT NUMBER 3681362

Staphylococcus aureus ATCC®43300 WDCM00211
 Incubation at 35 ± 1°C for 24 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Cefoxitin FOX30	11	<21

Staphylococcus aureus NCTC12493 WDCM00212
 Incubation at 35 ± 1°C for 24 hours in ambient air

Cefoxitin FOX30	20	14 - 20
-----------------	----	---------

Escherichia coli ATCC®25922 WDCM00013

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Ampicillin AMP10	16	15 - 22
Chloramphenicol C30	24	21 - 27
Gentamicin CN10	20	19 - 26
Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	29	23 - 29
Amoxicillin-clavulanate AMC30	20	18 - 24
Ciprofloxacin CIP5	33	30 - 40
Sulfisoxazole SF300	21	15 - 23
Tetracycline TE30	22	18 - 25
Cefotaxime CTX5	28	25 - 31
Tigecycline TGC15	22	20 - 27

Escherichia coli ATCC®35218

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Amoxicillin-clavulanate AMC30	20	17 - 22
-------------------------------	----	---------

Pseudomonas aeruginosa ATCC®27853 WDCM00025

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Gentamicin CN10	19	16 - 21
Imipenem IPM10	22	20 - 28
Aztreonam ATM30	24	23 - 29
Ciprofloxacin CIP5	25	25 - 33
Tobramycin TOB10	23	19 - 25
Ceftazidime CAZ10	24	21 - 27
Piperacillin-tazobactam TZP36	25	23 - 29

Enterococcus faecalis ATCC®33186 WDCM00210

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	25	20 -
-------------------------------------	----	------

Enterococcus faecalis ATCC®29212 WDCM00087

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Ampicillin AMP2	18	15 - 21
Imipenem IPM10	26	24 - 30
Linezolid LZD10	22	19 - 25
Nitrofurantoin F100	22	18 - 24



Tested by the Quality Control Laboratory
 OXOID LIMITED

Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
 oxoid@thermofisher.com www.oxoid.com

FDA Reg No. 8010095

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

PRODUCT CM0337B
MUELLER HINTON AGAR 500g
LOT NUMBER 3681362

Trimethoprim W5	30	24 - 32
Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	31	26 - 34
Vancomycin VA5	13	10 - 16

Streptococcus pneumoniae ATCC®49619
 Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD
 Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO₂

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Vancomycin VA5	21	<23

Haemophilus influenzae ATCC®49247
 Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD
 Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO₂

Ampicillin AMP2	10	6 - 12
-----------------	----	--------

Haemophilus influenzae ATCC®49766
 Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD
 Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO₂

Cefixime CFM5	31	29 - 35
---------------	----	---------

Control Medium: Mueller-Hinton Agar

Refer to product specification for full details.

The information given is believed to be correct, all results reported in this certificate relate only to the product and lot stated in this certificate of analysis. However, both the information and the product are offered without warranty for any application other than that specified in the current Oxoid Manual. This certificate shall not be reproduced except in full, without written approval of the Quality Control Laboratory, Oxoid Limited, Basingstoke.

The results reported were obtained at the time of release.

Lot Accepted. 2023.06.16

Carissa Courtney

.....
 Carissa Courtney
 Director Quality, EMEA

ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection.
 NCTC and National Collection of Type Cultures are registered trade marks of the Health Protection Agency.



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED
 Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
 oxoid@thermofisher.com www.oxoid.com

FDA Reg No. 8010096

Certificate No. FM 00914

**ANEXO F. Certificado de análisis de la cepa de *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-551** Reference Number: ATCC® 25923™* Passage from Reference: 3 (7) Mean Assay Value (MAV): 8.0E+04 CFU per pellet</p>	<p>Expiration Date: 2023/11/30 Release Information: Quality Control Technologist: Kalina E Larsen Release Date: 2021/12/20</p>
--	---

Performance	
<p>Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic</p> <p>Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters</p>	<p>Medium: SBAP</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.</p>	
 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE	

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.

(7) The Mean Assay Value (MAV) stated above may deviate from the end-user's MAV based on variables inherent to each laboratory environment, such as methods, media type, equipment, pipettes, and individual technician technique.

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2021-12-14T15:55:29.913 kel
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
B10 (+++) (A)	360-551	Staphylococcus aureus	2.60

Comments:

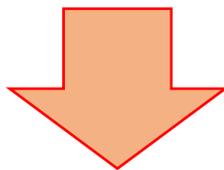
n/a

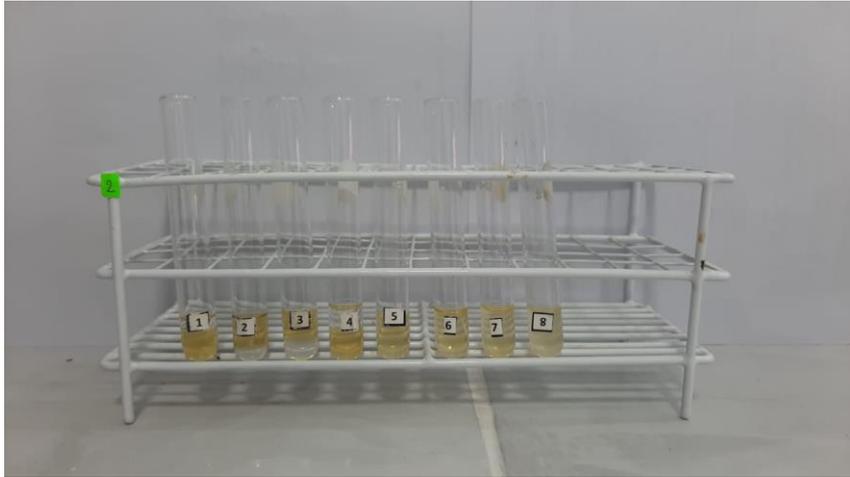
ANEXO G. Evidencia fotográfica

Recolección de las muestras de miel de *A. mellifera*



Prueba de Solubilidad

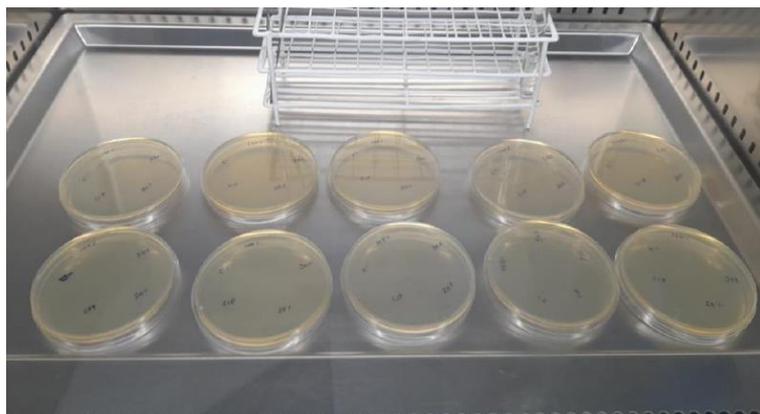
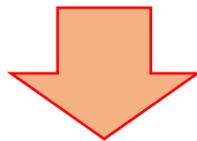
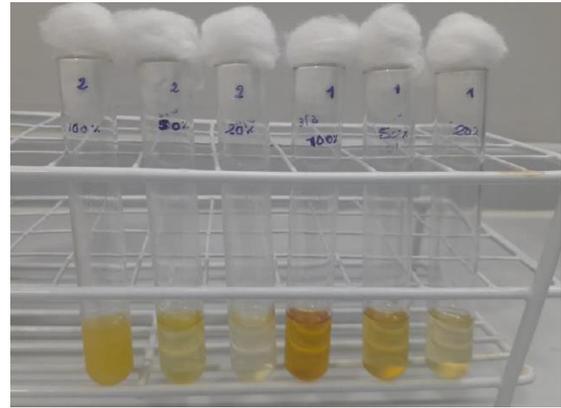
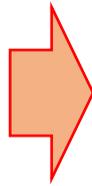


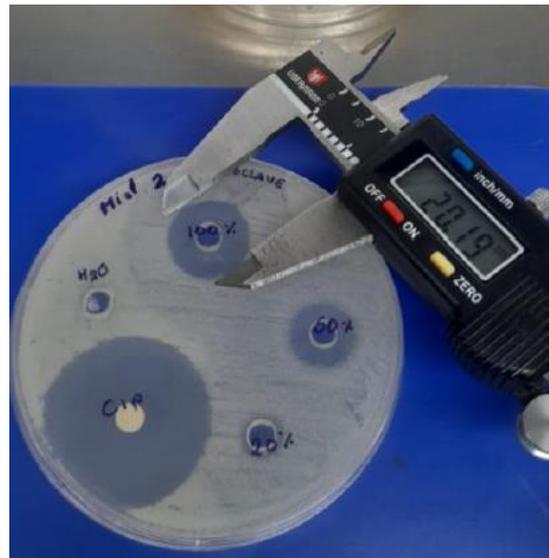
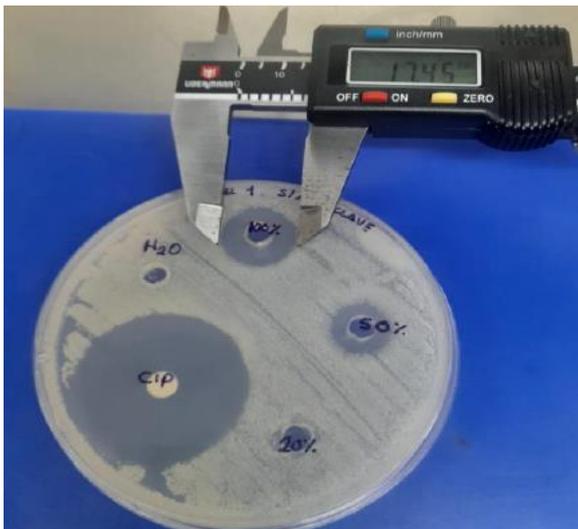
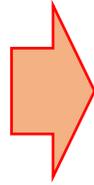


Tamizaje Fitoquímico



Ensayo microbiológico





ANEXO H. Carta de autorización

CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRA

Yo, PIZARRO YBARRA, GORDY DANTE con DNI 48285323,
en calidad de responsable FUNDO PIZARRO - VILLA II ETAPA ubicado en
el distrito RIO NEGRO, provincia SATIPO y
departamento de Junín.

Autorizo a los estudiantes de la **Universidad María Auxiliadora UMA**, de la Facultad de FARMACIA Y BIOQUÍMICA, **Bach. HUANCARI MONTES, LISBETH MARIBEL y Bach. SAMANIEGO ROJAS, AMERICA ESTELA**, con título del proyecto de investigación, **“COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DE DOS MUESTRA DE MIEL *Apis mellifera* FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**, para que puedan recolectar la muestra correspondiente.



Junín, 25 de setiembre del 2023.


.....
Firma

CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRA

Yo, ANDRÉS HUANCARI LLANTOY con DNI. 70484285
en calidad de responsable DEL FUNDO HUANCARI - VERACRUZ ubicado en
el distrito TOTTOS provincia CANGALLO y
departamento de Ayacucho.

Autorizo a los Estudiantes de la Universidad María Auxiliadora UMA, de la Facultad de FARMACIA Y BIOQUÍMICA, Bach. HUANCARI MONTES, LISBETH MARIBEL y Bach. SAMANIEGO ROJAS, AMERICA ESTELA, con Título del Proyecto de Investigación, Denominado: "COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DE DOS MUESTRAS DE MIEL *Apis mellifera* FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923",

para que puedan recolectar la muestra correspondiente.



Ayacucho, 28 de Setiembre del 2023.


.....
Firma