

---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL  
VENENO DE *Apis mellifera* SOBRE *Streptococcus  
mutans* ATCC 25175, TRUJILLO-2019**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL  
GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN  
ESTOMATOLOGÍA**

AUTOR

**REQUEJO PERALTA, DANITZA LISBETH.**

**ORCID: 0000-0003-0089-9864**

ASESOR

**HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA**

**ORCID: 0000-0003-0723-3491**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2019**

## **1. Título**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL VENENO  
DE *Apis mellifera* SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC  
25175, TRUJILLO-2019**

## **2. Equipo de trabajo**

### **AUTOR**

Requejo Peralta, Danitza Lisbeth

ORCID: 0000-0003-0089-9864

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,  
Trujillo, Perú

### **ASESOR**

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0003-0723-3491

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de  
la Salud, Escuela Profesional de Odontología, Trujillo, Perú

### **JURADO**

Pairazamán García, Juan Luis

ORCID: 0000-0001-8922-8009

Morón Cabrera, Edwar Richard

ORCID: 0000-0002-4666-8810

Velásquez Veneros, Cynthia Karina

ORCID: 0000-0001-5756-7137

### **3. Hoja de firma del jurado y asesor**

---

Mgtr. Pairazamán García, Juan Luis  
Presidente

---

Mgtr. Morón Cabrera, Edwar Richard  
Miembro

---

Mgtr. Velásquez Veneros, Cynthia Karina  
Miembro

---

Mgtr. Honores Solano, Tammy Margarita  
Asesor

#### **4. Agradecimiento**

Quiero expresar mi gratitud a Dios, por ser mi guía y acompañarme en el transcurso de mi vida, brindándome paciencia y sabiduría para culminar con éxito mis metas propuestas.

Al doctor César Vásquez Plasencia y doctora Tammy Honores Solano, por su incansable apoyo en el desarrollo de esta tesis. Agradecimiento adecuado al personal de laboratorio del área de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, por la ayuda brindada durante el desarrollo de la investigación.

Agradezco a mis docentes, los cuales son personas de gran sabiduría, que año a año inculcaron en mí los verdaderos valores y principios morales para poder ser una buena profesional.

## **Dedicatoria**

Este trabajo se lo dedico a Dios por iluminar siempre en mi camino.

A mis padres Felipe Hipolito Requejo Nuñez y Maria Luz Hidelia Peralta Cieza, quienes con su amor, paciencia y esfuerzo lograron forjarme como la persona que soy actualmente, ya que todos los logros que estoy cumpliendo son gracias a ellos, por motivarme constantemente para alcanzar mis metas.

A mi hermana Kathia Yudith Requejo Peralta; abuelos Felix Octavio Requejo Chavez, Rosaura Nuñez Tapia, Armando Peralta Gonzales, Fraxila Cieza Barahona; tios Alfredo Requejo Nuñez, Elvia Peralta Cieza, prima Gladys Requejo Peralta y a toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mi una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

## 5. Resumen

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del veneno de *Apis mellifera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La población estuvo conformada por placas Petri con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El diseño metodológico fue experimental, prospectivo, transversal y analítico de tipo cuantitativo y nivel explicativo. Para este estudio se obtuvo el veneno de *Apis mellifera* en concentraciones de 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml, 1 mg/ml. Luego fueron enfrentadas a las cepas de *Streptococcus mutans* en el laboratorio de Microbiología. El efecto antibacteriano se evaluó mediante el método de Kirby Bauer. La concentración de 0.1 mg/ml obtuvo una media de 0 mm, la de 0.2 mg/ml obtuvo una media de 0 mm y la de 1 mg/ml una media 11.9 mm. Se aplicó la prueba ANOVA, encontrando que existe diferencia estadística significativa entre los tres tipos de concentraciones ( $P= 0.00$ ). Los resultados mostraron que a mayor concentración mayor halo de inhibición, es decir, aumenta la efectividad antibacteriana; siendo la concentración de *Apis mellifera* de 1 mg/ml la que presenta efectividad antibacteriana frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Palabras claves:** Antibacteriano, Clorhexidina, efectividad, *Streptococcus mutans*, venenos de abeja

## Abstract

This research aimed to determine the *in vitro* antibacterial effect of *Apis mellifera* venom on *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The population consisted of Petri dishes with strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175. The methodological design was experimental, prospective, transversal and analytical of quantitative type and explanatory level. For this study, *Apis mellifera* venom was collected in concentrations of 0.1 mg / ml, 0.2 mg / ml, 1 mg / ml. Then he was faced with the strains of *Streptococcus mutans* in the Microbiology laboratory. The antibacterial effect was evaluated using the kirby bauer method. The concentration of 0.1 mg / ml obtained an average of 0 mm, at 0.2 mg / ml it obtained an average of 0 mm and at 1 mg / ml an average of 11.9 mm. The ANOVA test was applied, finding (P = 0.00) that there is a significant statistical difference between the three types of concentrations. The results showed that the higher the concentration, the more the inhibitory halo of the concentrations increases, that is, the antibacterial effectiveness increases; being the concentration of *Apis mellifera* of 1 mg / ml the one that presents antibacterial effectiveness against strains of *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Keywords:** Antibacterial, Chlorhexidine, effectiveness, *Streptococcus mutans*, bee poisons.



## 6. Contenido

1. Título de la tesis .....	ii
2. Equipo de trabajo .....	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor .....	iv
4. Hoja de agradecimiento y/o Dedicatoria.....	v
5. Resumen y abstract .....	vii
6. Contenido .....	ix
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros.....	x
I. Introducción.....	1
II. Revisión de literatura.....	3
III. Hipótesis.....	18
IV. Metodología.....	19
4.1. Diseño de la investigación.....	19
4.2. Población y muestra.....	19
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores..	21
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	22
4.5. Plan de análisis .....	25
4.6. Matriz de consistencia.....	26
4.7. Principios éticos.....	28
V. Resultados.....	29
5.1 Resultados.....	29
5.2. Análisis de Resultados.....	32
VI. Conclusiones.....	35
Aspectos complementarios.....	35
Referencias Bibliográficas.....	36
Anexos.....	43

## 7. Índice de tablas

**TABLA 1:** Efecto antibacteriano *in vitro* del veneno de *Apis mellifera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.....29

**TABLA 2:** Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* del veneno de *Apis mellifera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 .....30

## Índice de gráficos

<b>GRAFICO 1:</b> Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del veneno de <i>Apis mellifera</i> sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	31
---	----

## I. Introducción

La caries dental es un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria, determinando el reblandecimiento del tejido duro del diente y que evoluciona hasta la formación de una cavidad. El 60% a 90% de las personas entre niños, jóvenes y adultos tienen caries dental en todo el mundo.<sup>1</sup>

Esta enfermedad ha sido asociada a través del tiempo con muchos factores, uno de los principales y uno de los más estudiados son los microorganismos en especial el *Streptococcus mutans* que es un microorganismo patógeno muy importante en desarrollo de caries y se caracteriza por la facilidad en que desmineraliza el esmalte dentario.<sup>2</sup>

El veneno de *Apis mellifera* es un antibiótico activo, tiene propiedades hemolíticas, bactericidas, tónicas y anticoagulantes y se constituye por tres sustancias: convulsionante, paralizadora y convulsionante. También, tiene propiedades profilácticas y curativas, que alivian diferentes enfermedades, interactúan sobre el organismo y aumentan la inmunidad, se utiliza con finalidad terapéutica, siendo eficaz en protección para los pacientes.<sup>3</sup>

Esta investigación tuvo por objetivo determinar, si el veneno de *Apis mellifera* tiene efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*. La población estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, además, se utilizó diferentes concentraciones de 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml, 1mg/ml. Luego fueron enfrentadas a las cepas de *Streptococcus mutans* en el laboratorio de Microbiología, midiéndose el halo de inhibición.

El diseño metodológico fue experimental, prospectivo, transversal y analítico. De

nivel explicativo.

Los resultados mostraron que a mayor concentración, más se incrementa el halo de inhibición de las concentraciones, es decir, aumenta la efectividad antibacteriana; siendo la concentración de veneno de *Apis mellifera* de 1 mg/ml la que presentó efectividad antibacteriana frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## II. Revisión de la literatura

### 2.1 Antecedentes:

Memariane H, et al.<sup>4</sup> (Alemania - 2019) “Melitina: de las abejas mellíferas a las superbacterias”. Esta revisión resume evidencias empíricas sobre el efecto antibacteriano y propiedades de anti-biofilm de melitina, un componente principal del veneno de abejas, en el que se basó de estudios realizados y publicados en la pagina de PubMed, también se describieron varias investigaciones sobre los efectos sinérgicos entre melitina y antibióticos. En conclusión los estudios que se revisaron demuestran que la melitina componente del veneno de *Apis mellifera*, tiene un gran potencial antibacteriano y propiedades anti-biofilm y también tiene uso en diferentes aplicaciones médicas.

Picoli T, et al.<sup>5</sup> (Brasil - 2017) “Melitina y su potencial en la destrucción e inhibición de la formación de biopelículas por *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de la leche bovina.” Este estudio tuvo como objetivo evaluar las actividades antibacterianas y antibiofilms *in vitro* del péptido melitina en aislamientos de *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. Se utilizaron doce cepas de estos microorganismos aislados de la leche bovina, así como las cepas *S. aureus* ATCC 12600, *E. coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. Se determinaron las concentraciones inhibitorias mínimas y la concentración bactericida mínima por técnica de microdilución en caldo. Las biopelículas se formaron en placas de 96 pocillos y se añadió Melitina en estas colonias a diferentes concentraciones y tiempos. La

concentraciones inhibitorias mínimas y concentración bactericida mínima estaban respectivamente en µg / ml: *S. aureus* (6-7 y 32-64), *E. coli* (40-42.5 y 64-128) y *P. aeruginosa* (65-70 y 64-128). En conclusión la Melitina tiene efecto antibacteriano contra *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. También tiene la capacidad de destruir las biopelículas formadas por estas bacterias.

Yang J, et al.<sup>6</sup> (China - 2017) “Actividades antifibrinolíticas y antimicrobianas de un inhibidor de la serina proteasa del veneno de la abeja (*Apis cerana*)” Este estudio tuvo como objetivo identificar un inhibidor asiático de la serina proteasa de veneno de abeja como un inhibidor microbiano de serina proteasa y un inhibidor de plasmina. Se incubó con AcVSPI recombinante péptidos (0–1000 nM) a 37° C durante 30 minutos en 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7,4), en conclusión, nuestros resultados mostraron que *Apis cerana* tiene efectos inhibitorios contra tripsina, plasmina y serina proteasas microbianas y demostraron que *Apis cerana* exhibe actividades antifibrinolíticas y antimicrobianas.

Sethi G, et al.<sup>7</sup> (Singapur - 2017) “Venenos de animales como agentes antimicrobianos”. Tuvo como objetivo demostrar actividad antimicrobiana de venenos de animales contra bacterias, virus, hongos y parásitos. Se usó el veneno de abejas, arañas, escorpiones, serpientes terrestres y serpientes marinas, se uso el veneno completo sin diluciones, para extraer el veneno se utilizo inyección de presas y maquina eléctrica. En conclusión, el veneno de abejas, arañas, escorpiones, serpientes terrestres y las serpientes marinas tienen moléculas útiles para diversas dolencias médicas, en particular, las moléculas derivadas del veneno, como las toxinas / enzimas (proteínas /

péptidos) se dirigen a moléculas específicas que son esenciales para controlar la enfermedad.

Zolfagharian H, et al.<sup>8</sup> (Irán - 2016) “El veneno de abeja (*Apis Mellifera*) es una alternativa potencial efectiva a la gentamicina para cepas de bacterias específicas: el veneno de abeja es un potencial efectivo para las bacterias”. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana de veneno de abeja contra seis gramos de bacterias positivas y gram negativas, incluyendo *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli O157: H7*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia mallei* y *Burkholderia pseudomallei*. Se ensayaron tres concentraciones de veneno de abeja crudo y discos estándar de antibiótico (gentamicina) como controles positivos usando el método de difusión en disco. En conclusión, se encontró que el veneno de abeja tenía un efecto antibacteriano significativo contra *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella typhyimurium* en las tres concentraciones ensayadas. Sin embargo, el veneno de abeja no tuvo un efecto notable en otras bacterias ensayadas para ninguna de las tres dosis ensayadas. Por lo tanto, se puede concluir que el veneno de *Apis mellifera* puede tener un mecanismo específico que le permite tener un efecto antibacteriano sobre ciertas bacterias susceptibles.

Uddin M, et al.<sup>9</sup> (Corea - 2016) “Efectos inhibitorios del veneno de abeja y sus componentes contra virus in vitro e in vivo.” Tuvo como objetivo determinar la actividad antiviral del veneno de abeja y sus componentes contra virus con y sin envoltura, incluidos los virus de ARN y ADN in vitro. El veneno de abeja y melitina fueron suministrados por Chung-Jin Biotech



en Corea y los compuestos se disolvieron en fosfato tamponado solución salina (PBS). Las soluciones de stock se dividieron en alícuotas y se almacenaron en -20 ° C. En conclusión demostró que el veneno de abeja y melitina (que es un derivado del veneno de abeja) exhibió potente actividad antiviral contra varios virus con y sin envoltura in vitro y virus de la gripe en el modelo de ratón in vivo. Por otra parte, se ha confirmado que el mecanismo antiviral implica directamente interacción con la superficie viral.

Lee G, et al.<sup>10</sup> (Corea - 2016) “Fosfolipasa A2 del veneno de abeja: el enemigo de ayer se convierte en amigo de hoy”. Tuvo como objetivo destacar los hallazgos más recientes sobre los roles beneficiosos del grupo de veneno de abeja. Se usó ratones para ver la reacción del veneno de abeja en diferentes enfermedades estudiadas como antiinflamatorio, antitumoral, antibacteriana. En conclusión el poder del veneno de abeja grupo III sPLA2 como molécula de defensa del huésped se puede observar mediante el estudio Bacterias y parásitos. Se ha informado que el sPLA2 del grupo III del veneno de abeja tiene una cantidad significativa de tripanocida y efectos antibacterianos sobre bacterias Gram-negativas.

Leandro F, et al.<sup>11</sup> (Brasil - 2015) “Actividad antimicrobiana de la apitoxina, melitina y fosfolipasa A2 del veneno de la abeja (*Apis mellifera*) contra los patógenos orales” Tuvo como objetivos evaluar el potencial antibacteriano de la apitoxina de las abejas *Apis mellifera*, tanto en la natura como en su forma comercial, contra los patógenos que causan la caries dental. También evaluó la acción antibacteriana de los componentes principales de esta apitoxina, fosfolipasa A<sub>2</sub> y melitina, solos y en combinación. Se recolectó

apitoxina comercial del mercado de la Cooperativa Nacional de Apicultores en la ciudad de Belo Horizonte y la apitoxina en natura por extracción manual se recolectó en el laboratorio de investigación del Sector de Abejas del Departamento de Genética. Las abejas *Apis mellifera* se recogieron de la colmena, se colocaron en una pequeña caja y se almacenaron a -18 ° C en un congelador, hasta que los insectos quedaron inmóviles. En conclusión, se demostró que sí hay un potencial antibacteriano ya sea en el natural como en el comercial, en el que la melitina ha demostrado ser altamente efectivos contra los patógenos orales.

Dosler S, et al.<sup>12</sup> (Estambul - 2015) “Actividades antibacterianas y antibiopelícula de melitina y colistina, solas y en combinación con antibióticos contra bacterias gramnegativas” Este estudio tuvo como objetivo investigar las actividades antibacterianas y anti-biofilm in vitro de dos AMP:melitina y colistina: solos y en combinación con antibióticos de uso frecuente en clínicas como amikacina, ceftazidima, imipenem o ciprofloxacina contra aislamientos clínicos de *P. aeruginosa*, *E. coli* y *Cepas de K. pneumoniae*. La concentración mínima inhibitoria (MIC) y el índice de concentración inhibitoria fraccional (FIC) se determinaron mediante la dilución de microbroth. El método de la curva de tiempo muerto (TKC) se usó para determinar las actividades bactericidas. Las mediciones de las actividades anti-biofilm se realizaron espectrofotométricamente para la inhibición de la unión y la formación de biofilm de 24 horas en MIC o subMIC. En conclusión todos los agentes antimicrobianos pudieron inhibir la fijación y la formación de biopelículas en 24 horas entre 0-57% a  $1/10 \times$

MIC y 7-73% a  $1 \times$  o  $1/10 \times$  MIC, respectivamente. La melitina y colestina parecen ser un buen candidato para la quimioterapia antimicrobiana con sus antibacterianas y anti-biopelícula actividades como un agente único o en combinación con antibiótico.

## **2.2 Bases Teóricas de la investigación:**

### **Caries dental**

La caries dental es una de las condiciones crónicas más frecuentes en la infancia. Se define como una lesión localizada con etiologías multifactoriales, desarrollándose en el transcurso del tiempo si no se cura consecuentemente se origina una lesión.<sup>13,14</sup>

La caries dental es una enfermedad infecciosa contagiosa que prolifera en la cavidad bucal del ser humano. Los factores que favorecen a este desarrollo viene a ser la acidificación local del medio produciendo una degradación de los hidratos del carbono en la dieta dando como consecuencia a la destrucción del tejido mineralizado del diente.<sup>13</sup> La bacteria implicada en este proceso es *Streptococcus mutans* siendo el microorganismo responsable de la formación de la caries dental.<sup>15</sup> Sin embargo existen bacterias que también participan en este proceso tales como *Lactobacillus*, *Actinomyces* y otros tipos de *Streptococcus*.

### **Etiología**

**Microflora.** - Dentro de ellas están los microorganismos protectores y otros que son potencialmente patógenos. Las lesiones cariosas se desarrollan en las superficies del esmalte de las piezas dentarias, donde los microorganismos cariogénicos encuentran un hábitat ideal para proliferar y generar la enfermedad. Dentro de aquellos microorganismos patógenos se encuentra el *Streptococcus mutans*. Esta bacteria cariogénica, está relacionado con el desarrollo del inicio de la caries, asimismo, los *Lactobacillus acidophilus*, son los responsables de metabolizar los azúcares

de la cavidad bucal y producir ácidos desmineralizantes. <sup>16, 17</sup>

**La dieta:** se refiere a los alimentos con una elevada cantidad de azúcares, el cual, acelera la actividad bacteriana. La sacarosa conformada por fructuosa y glucosa, es considerado como el más cariogénico, no solamente porque al metabolizarse se producen ácidos, sino porque el *Streptococcus mutans*, lo usa para generar glucano y polisacáridos extracelulares, los cuales, le permiten a la bacteria adherirse sobre la superficie del esmalte dental. <sup>16</sup>

**Tiempo:** cuando hay un mayor tiempo de exposición de la pieza dentaria a los ácidos producidos por las bacterias, existe un mayor riesgo de caries. <sup>16</sup>

**Huésped:** cuando el huésped es vulnerable debido a diversos factores heredados, o la edad, también influye los trastornos endocrinos, maloclusión dentaria y trastornos salivales. <sup>16</sup>

**Saliva:** es un fluido que contiene fósforo y calcio, además de, flúor, proteínas, enzimas, agentes amortiguadores, inmunoglobulinas, entre otros. En la saliva, el flúor se muestra en bajas concentraciones, sin embargo, presenta una gran importancia en el momento de la remineralización, ya que, al combinarse con los cristales del esmalte dental, forma fluorapatita, el cual es un compuesto mucho más resistente al ataque de los ácidos generado por las bacterias. Además. El pH salival baja de manera rápida dentro de los primeros minutos luego de ingerir carbohidratos, luego de 30 minutos regresa a sus niveles normales. <sup>18,19</sup>

**Flora microbiana.** - La cavidad bucal, sirve de habitat para un aproximado de 700 especies que se encuentran colonizando mucosas y superficies dentarias en donde se forma el biofilm dental, dentro de los cuales, se

encuentran los del género *Streptococcus*.<sup>18</sup>

**Colonización bacteriana.** - Para que se genere una lesión cariosa, es importante que primero se dé la adhesión inicial de bacterias sobre la superficie del esmalte dental. Para que la colonización se dé, antes, debe formarse una película muy fina de proteínas salivales sobre el esmalte dental, comúnmente llamada, película adquirida.<sup>18</sup>

### ***Streptococcus mutans***

Los microorganismos más comunes de género streptococo, especialmente en especies mutans (con sus serotipos c, e y f, *sanguis*, *sobrinus* y *crictetus*), se han asociados con la caries, tanto en experimentos con humanos y animales. Las bacterias de streptococo tienen forma de coco, crecen en parejas o en cadenas, no se mueven, genéricamente reaccionan positivo a la coloración de Gram.<sup>2,3</sup>

*Streptococcus mutans*, es una bacteria gram positiva que presenta pared celular gruesa, se compone de ácidos teicoicos que previenen lisis osmóticas de protoplastos celulares y peptidoglicano (mureína), confieren rigidez y forma a la célula. *Streptococcus mutans* tiene una cápsula que está compuesta de polisacárido, y su subunidad estructural es glucosa dextrano.<sup>20,21</sup>

*Streptococcus mutans*, se adhiere a la superficie, se divide y produce microcolonias dentro de la capa de baba y construye un biofilm. Específicamente se incorpora a la película del diente por medio de proteína en superficie de la célula. El metabolismo de *Streptococcus mutans*, es capaz de escindir la sacarosa (después de consumir carbohidratos). La fructosa se

fermenta como la base de energía para crecimientos bacterianos. La glucosa se polimeriza en un polímero de dextrano extracelular que cementa el esmalte dental de *Streptococcus mutans* y se convierte en matriz de placa dental. El Limó de dextrano puede despolimerizarse a glucosa para usarlo como fuente de carbono, lo que da como resultado la producción de ácido láctico dentro de la biopelícula que descalcifica el esmalte y conduce a caries dental o infección bacteriana del diente<sup>20,21</sup>.

**Los factores de virulencia más involucrados son:**

**Acidogenicidad:** el *Streptococcus* fermenta azúcares de los restos alimenticios para originar principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo, haciendo que el pH de la cavidad bucal baje, provocando la desmineralización sobre el esmalte dental.<sup>22</sup>

**Aciduridad:** Es la capacidad que tiene la bacteria, de producir ácidos en la cavidad bucal, así se encuentre en un medio con pH bajo.<sup>22</sup>

**Acidofilicidad:** la bacteria del *Streptococcus mutans* resiste la acidez del medio bombeando protones fuera de la célula.<sup>22</sup>

También sintetizan polisacáridos extracelulares como los glucanos solubles e insolubles, además de fructanos. Sintetizan a los polisacáridos extracelulares; presentan una capacidad adhesiva, sobre todo en proteínas de la saliva que facilitan su adhesión a las superficies dentarias o superficies de materiales de restauración, en ausencia de glucanos, predominando su capacidad agregativa y coagregativa a través de los mutanos y glucosiltransferasas.<sup>23,24</sup>

También se encarga de producir bacteriocinas en diferentes bacterias de la

cavidad bucal. Por último, sintetizan glucanos insolubles gracias a la sacarosa de los restos alimenticios, por las glucosiltransferasas, facilitando la formación del biofilm dental.<sup>23</sup>

### **Adhesión de *Streptococcus mutans***

Algunos expertos indican que, dichas bacterias pueden adherirse en la cavidad bucal de los niños y producirse la lesión cariosa al erupcionar la primera pieza dental alrededor de los 6 meses de edad del infante.<sup>22</sup>

Sin embargo, la adhesión y colonización de *Streptococcus mutans* puede aparecer antes de la erupción de las piezas dentarias, ya que *Streptococcus mutans* y *S. sobrinus*, tienen la capacidad de adherirse en la superficie de la mucosa oral, por lo cual, hay un aumento de riesgo caries, haciendo que aparezca en edades tempranas.<sup>22</sup>

### **Clorhexidina**

Es un agente bacteriano tópico que es usado para enfermedades periodontales y como colutorio en tratamiento de gingivitis, para profilaxis y para tratar infección de boca, estomatitis ulcerativa y gingivitis aguda ulcerativa necrotizante. También se utiliza para prevenir y tratar mucositis en paciente tratado con fármaco anticanceroso.<sup>25</sup>

Se usa la clorhexidina en una serie de herramientas médicas, tales como implantes dentales, vendajes antimicrobianos y catéteres intravenosos. Presenta espectro antibacteriano frente a Gram negativos como Gram-positivos, algunos hongos y virus como HIV, pero sólo actúa contra las esporas en temperatura alta. Su acción antiséptica es superior al povidona, el hexaclorofeno, el burbujeo del alcohol. También se usa como tópico



antiséptico, por su duradera función en la piel cuando se usa continuamente, mínima absorción y efecto rápido, aunque hay algunas reacciones de alergia de clorhexidina en tratamientos tópicos.<sup>25,26</sup>

La clorhexidina va a desestabilizar e ingresar a la membrana de la célula bacteriana. También acelera al citoplasma e intercepta como función de la membrana, inhibiendo la utilización de oxígeno, lo que ocasiona una disminución de los niveles de ATP y la muerte celular. En las bacterias Gram-negativas, la clorhexidina afecta la membrana exterior permitiendo la liberación de las enzimas periplasmáticas. A bajas concentraciones, la clorhexidina exhibe un efecto bacteriostático, mientras que a altas concentraciones es bactericida. Los siguientes microorganismos muestran una alta susceptibilidad a la clorhexidina: *Streptococcus*, *Stafilococcus*, *Cándida albicans*, *Escherichia coli*, *Salmonellas*, y *Bacterias anaeróbicas*. Las cepas de *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* y cocos gram-negativos muestran una baja susceptibilidad a la clorhexidina. Los estudios clínicos han demostrado que no hay un aumento significativo de la resistencia bacteriana ni desarrollo de infecciones durante el tratamiento a largo plazo con clorhexidina.<sup>27</sup>

### **Veneno de *Apis mellifera***

Es una combinación engorrosa de proteínas, carbohidratos, aminoácidos, lípidos, enzimas, y péptidos.<sup>3,28</sup>

Investigaciones del veneno a efectuado diversos equipos y técnicas, como un cromatógrafo líquido de alta presión y media presión, la electroforesis en gel de poliacrilamida, la espectrofotometría<sup>3,28</sup>. Por lo que han permitido definir

su estructura, que se presenta continuación:

COMPOSICIÓN	% en veneno seco	% en veneno natural
H <sub>2</sub> O	-	Ochenta y ocho
Aminoácido	Uno	0 . 1
Bases libres/histamina	Dos	0 . 2
Azúcares (glucosa, fructosa)	Dos	0 . 2
Lípidos	Cinco	0 . 5
Histapéptidos	Uno	0 . 1
Pequeños péptidos	Doce	1 . 2
MCD (Mast Cell Degranulating)	Dos	0 . 2
Minimina	Uno	0 . 1
Apamina	Dos	0 . 2
Meltina	Cuarenta a cincuenta	4 . 5
Hialuronidasa	Cinco	0.5
Fosfolipasa A 2	Diez a Doce	1-1.2
Fosfolipasa B	Tres	0.3
Otros	Diez	Uno

En 1972 Haberman, tiene dopamina, aunque proviene de la pared glandular del Apis.<sup>3</sup>

El veneno de *Apis mellifera* se uso hace cientos de años en proceso de artritis, artrosis, reumatismos y inflamación de diferente procedencia,

dolores, induciéndose la picadura de 1 a más abejas en la zona afectada.<sup>29</sup>

El veneno entero de *Apis mellifera* tiene 4 principales acciones que son analgésica, antibacteriana, antiinflamatoria, inmunoactivante o vasomotor. Se relaciona con la acción terapéutica en fracciones que se componen y en cantidad o proporción equilibrada en que se encuentra representada.<sup>3,29,30</sup>

**Apamina.** - Tiene función neurotóxica. El veneno completo, funciona como vasomotor, incrementando reservadamente su permeabilidad del vaso sanguíneo, tiene propiedad antiinflamatoria, antigenica y euforizante. Elabora cortisona.<sup>31</sup>

**Melitina.** - De función hemolítica. El veneno completo, tiene función vasomotora, antibacteriano, su acción antitumoral es moderada, antifúngico. Su nivel de cortisol aumenta en el plasma sanguíneo. En ciertas bacterias llega a ser más fuerte que la penicilina.<sup>31</sup>

**Hialuronidasa.** - es una endo- $\beta$ -glicosidasa ampliamente distribuida en la naturaleza<sup>1</sup>. En algunos venenos ofídicos esta enzima hidrolítica produce daño tisular local con degradación de la matriz extracelular y del tejido conectivo que rodea a los vasos sanguíneos, ya que cataliza la ruptura de los enlaces glicosídicos ( $\beta$ -1,4) de los mucopolisacáridos ácidos tales como el ácido hialurónico y el condroitín sulfato.<sup>31</sup>

**Histamina.** - Actúa en los vasos sanguíneos como dilatador.<sup>31</sup>

**Fosfolipasa A2.** - Su función citolítica en cantidad apropiada, por embate a fosfolípidos de la membrana celular, con creación de lisofosfolípidos. Tiene función antibacteriana y antivirósicas.<sup>31</sup>

**Fosfolipasa B.**- Su función es semejante a la anterior.<sup>31</sup>

**MCD (Degranulación De Mastocitos).** - Lisa de mastocitos, selectivamente. Incrementa su actividad capilar.<sup>31</sup>

**Minimina.** - Acción parecida a la de la Fosfolipasa, su acción es antiinflamatoria. Dicen que puede llegar a ser 100 veces más activo que la hidrocortisona. Incrementa la permeabilidad de los vasos.

Junto con los demás componentes, hace que la apitoxina sea, según dicen, un producto muy bueno que tiene los efectos de: dilata los vasos capilares, hipotensor, mejora el metabolismo del sistema nervioso central y periférico, bacteriostático, anestésico local, anticoagulante, aumenta la eliminación de toxinas acumuladas, inhibe el edema, estimula el sistema inmunológico, disminuye el ritmo cardíaco y la presión arterial, mejora la conducción de la fibra nerviosa y disminuye la demielinización, suplanta la carencia de dopamina.<sup>31</sup>

Recientemente se demostró que los citratos constituyen otro de los componentes mayores del veneno de las abejas *Apis mellifera* (9% del peso seco – 140mM en el veneno líquido), y se estableció su posible acción como inhibidores endógenos de enzimas divalentes metalo-ion-dependientes (como las fosfolipasas calcio dependientes). La presencia de citratos en el veneno tendría que ver con su acción sobre receptores de toxinas, sobre los canales iónicos o sobre las toxinas divalentes iondependientes.<sup>29</sup> Se plantea como premisa que las abejas sólo responden cuando son provocadas o como respuesta a estímulos físicos, colores, sonidos o químicos, olores, feromonas como se mencionó anteriormente. Los accidentes graves por envenenamiento se deben a las múltiples picaduras recibidas en un ataque

masivo, pero se pueden presentar reacciones alérgicas severas, a veces mortales, a una sola picadura, en personas hipersensibles o alérgicas. Los efectos clínicos desencadenados por picaduras de abejas varían en relación con el lugar anatómico en donde ocurrió la picadura, con el número de picaduras y con las características y antecedentes biogénicos o alérgicos del individuo involucrado en el accidente.<sup>29</sup>

Los efectos tóxicos son consecuencia de la acción biogénica de algunos de los diferentes compuestos del veneno, especialmente de la Fosfolipasa A2, la Melitina, los Péptidos Degranuladores de Mastocitos (MCD) y la Apamina: a mayor cantidad de veneno, mayor cantidad de tales compuestos y mayor posibilidad de un síndrome de envenenamiento sistémico. La destrucción de células musculares (rabdomiólisis) se instaura precozmente, es intensa y provoca dolores musculares generalizados; la excreción renal de pigmentos de mioglobina, derivados del daño muscular, le confiere una coloración oscura a la orina y puede contribuir al desarrollo de insuficiencia renal aguda. Ocurre hemólisis, de intensidad variable, acompañada o no de ictericia. No se pueden excluir factores como la hipotensión y la acción nefrotóxica directa del veneno, aun cuando el mecanismo de la lesión renal no se ha establecido con exactitud.<sup>29</sup>

### **III. Hipótesis:**

Sí existe efecto antibacteriano *in vitro* del veneno de *Apis mellifera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

## IV. METODOLOGÍA

### 4.1 Diseño de a investigación:

Experimental, puesto que el investigador ha manipulado la variable independiente y su efecto sobre la variable dependiente.<sup>32</sup> En el estudio se manipuló las concentraciones del veneno de *Apis mellifera*.

Prospectivo, se registró la información según ocurrieron los fenómenos.<sup>32</sup> Este estudio midió cada resultado según los objetivos propuestos y se colocó en la ficha de recolección de datos.

Transversal, porque la información fue tomada en un momento dado del tiempo.<sup>32</sup> Este estudio midió el efecto antibacteriano a las 48 horas de ser expuestos a los extractos.

Analítico, porque el estudio se centró en una relación causa-efecto.<sup>32</sup> Este estudio determinó la causa que presentaron las diferentes concentraciones del veneno de *Apis mellifera* sobre *Streptococcus mutans*.

### 4.2 Población y muestra

#### 4.2.1 Población:

Placa Petri sembradas con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

#### 4.2.2 Criterios de selección

##### Criterios de inclusión:

Placa Petri sembradas con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 27175.

### **Criterios de exclusion:**

Placa Petri con halo de inhibición no muy claros.

Placa Petri con signos de contaminación.

### **4.2.3 Muestra:**

#### **Tamaño de Muestra**

El tamaño de muestra para el presente estudio de comparación de grupos se determinó utilizando la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 * 2\sigma_{\delta}^2}{\delta^2}$$

#### **Dónde:**

$Z_{\alpha/2} = 1.96$ ; que es un coeficiente de confianza del 95%.

$Z_{\beta} = 0.84$ ; que es un coeficiente de la distribución normal para una potencia de prueba del 80%.

$\sigma_{\delta}^2 = 1.01 \delta^2$  valor asumido por no haber información previa completa de estudios similares.<sup>33</sup>

Luego Reemplazando los valores en la fórmula anterior se obtiene:  $n = 15.9 \sim 16$  unidades

Es decir, se necesitó 16 placas o discos experimentales seleccionados aleatoriamente para cada grupo.

### 4.3 Definición y operacionalización de variables:

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Valor final	Tipos	Escala de medición
<b>Variable independiente</b>  Veneno de <i>Apis mellifera</i>	El veneno de <i>Apis mellifera</i> es una compleja mezcla de carbohidratos, lípidos, aminoácidos, péptidos, proteínas y enzimas que se encuentran en péptidos simples como la apamina, polipéptidos como la melitina y enzimas como la fosfolipasa A2 y la hialuronidasa. <sup>29,34</sup>	Es el veneno de <i>Apis mellifera</i> que será utilizada para el estudio en forma de antibacterian o para la efectividad antibacterian a <i>in vitro</i> .	Se definió por las concentraciones del veneno de <i>Apis mellifera</i> .	0.1 mg/ml  0.2 mg/ml  1 mg/ml	Cualitativa	Ordinal
<b>Variable dependiente</b>  Efecto Antibacteriano	El término se refiere a una sustancia cuyas propiedades son capaces de eliminar agentes bacterianos o la inhibición de su crecimiento o proliferación sin incurrir en el daño del objeto, ambiente u organismo que las porta. <sup>35</sup>	Valor obtenido con el uso de la técnica de difusión de discos de Kirby y Bauer (discos de papel de filtro estériles) en las placas Petri.	Según halos de inhibición  Según halos de inhibición	Medida en mm. del halo de inhibición	Cuantitativa	De razón



#### **4.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos:**

**Técnica:** Observación microbiológica

**Instrumento:**

Para medir el efecto antibacteriano se utilizó un Vernier Digital Marca Mitutoyo

Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm / 0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025. (Anexo 1)

Ficha de Recolección de datos. (Anexo 2)

**Procedimientos:**

**Protocolo para la obtención del veneno de abeja:**

El veneno de *Apis mellifera* se recolectó de la ciudad de Lima de Apicenter Caballero Camarena, durante el mes de mayo del 2019.

Para la recolección del veneno de *Apis mellifera* se contó con el apoyo de la Bióloga Amelia Caballero Camarena. En primer lugar se desinfectó la lámina de vidrio, la navaja y el frasco ámbar con hipoclorito de sodio al 2%, luego se sacó las alzas de las cámaras de cría verificando que las abejas ingresen a la caja donde se realizó el procedimiento para obtener el veneno de abeja se utilizó una máquina eléctrica la cual sirve para pasar un voltaje adecuado en la colmena donde están las abejas, esto hace que las abejas al recibir el impulso eléctrico expulsan el veneno.<sup>34</sup> Lo que siguió fue recoger el veneno de abeja que estaba en la lámina de vidrio, que con una navaja se bajó el veneno y se le colocó en un frasco ámbar y almacenado en cámara fría. (Anexo 3)

Para la preparación de diluciones se contó con el apoyo de la química

farmacéutica Amelia Caballero Camarena. En un área adecuada se procedió con las diluciones del veneno de *Apis mellifera* a concentraciones de 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml y 1 mg/ml; se procedió al envasado en viales de vidrio esterilizados en volúmenes de 10 ml.<sup>34</sup> (Anexo 4)

#### **Para el Transporte del veneno de abeja.**

Se transportó en una caja de tecnopor con hielo hasta el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo.<sup>34</sup>

#### **Obtención de la cepa:**

Se trabajó con cepas estándar ATCC, (American Type Culture Collection) de unas especies bacterianas implicadas en la caries dental: *Streptococcus mutans* ATCC 25175, serotipo C. Obtenidas del laboratorio Genlab (Anexo 5)

#### **Preparación del inóculo:**

Las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se cultivaron en tubos de ensayo cerrados herméticamente conteniendo el medio Agar Soya Tripticasa sangre. Se incubaron bajo condiciones de micro anaerobiosis a 37°C con el fin de obtener colonias jóvenes. Luego de 24 horas cada cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se pasó a diluir en caldo tioglicolato hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 05 de la escala de Mac Farland. Una vez girados los tubos durante 30 segundos se procedió al sembrado para distribuir los microorganismos adecuadamente.<sup>36</sup>

#### **Enfrentamiento del *Streptococcus mutans* con el veneno de abeja**

Un hisopo estéril se embebió con la cepa preparada a una distancia de 10

cm de la llama del mechero, se procedió al sembrado en camada en placas petri conteniendo Agar Mueller Hinton, se estiró el hisopo uniformemente sobre toda la superficie del agar, girando cada placa 30 grados 10 veces aproximadamente. Las placas sembradas fueron incubadas en condiciones de micro anaerobiosis a 37°C durante 24 horas. Para el efecto antibacteriano se empleó la técnica de difusión de discos de Kirby - Bauer, el cual consistió en preparar discos de papel de filtro estériles, los que fueron sumergidos dentro de cada concentración de veneno de abeja por el periodo no menor de una hora, luego con una aguja estéril, éstos se colocaron sobre los cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en las placas Petri previamente preparadas; las placas se mantuvieron en una posición por un periodo de 5 minutos. Luego de este tiempo las placas se voltearon de posición y se incubaron en micro anaerobiosis utilizando a la jarra de Gas Pack, con el método de vela, mediante el cual se obtendrá en un ambiente aproximadamente de 5 a 10% CO<sub>2</sub>, a 37°C durante 24 horas. Todo el procedimiento se llevó a cabo dentro de un diámetro de 10 cm de la llama de un mechero.<sup>36</sup>

### **Lectura de los resultados**

Después del tiempo de incubación 24 horas se examinó cada placa, se medieron los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco. Para lo cual se utilizó regla milimetrada Mitutoyo Vierner Digital ISO9000.94, abarcando el diámetro del halo.<sup>36</sup> Se utilizó como medida los diámetros de estas zonas en mm, según la escala de Duraffourd, utilizada para determinar el efecto inhibitorio *in*

*vitro*, según diámetro de inhibición.<sup>37</sup>

- Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible ++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.
- Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm.

#### **Controles:**

Para determinar el efecto antibacteriano: Se utilizó como control positivo la clorhexidina al 0.12 %, y como control negativo, discos con suero fisiológico.

Se solicitó la colaboración a la microbióloga Manuela Natividad Luján Velasquez, Biólogo – Microbiólogo docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro del CBP N°2132. En la etapa de preparación de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, enfrentamiento del *Streptococcus mutans* con el veneno de abeja y lectura de resultados (Anexo 6).

#### **4.5 Plan de análisis**

Para la presente investigación se utilizó tablas de resumen de indicadores, así como, gráficos adecuados para presentar los resultados de la investigación.

Se utilizó el análisis de varianza para un diseño completamente al azar y la prueba de comparaciones múltiples de Duncan, ambas pruebas estadísticas se aplicaron considerando un nivel de significancia de 0.05.

Para realizar el análisis se contó con el apoyo de una hoja de cálculo de Microsoft Excel y el programa Statgraphics.

#### 4.6 Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	METODOLOGIA	POBLACIÓN
¿Existe efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del veneno de <i>Apis mellifera</i> sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	<p><b>Objetivo general:</b> Determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del veneno de <i>Apis mellifera</i> sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p><b>Objetivos Específicos:</b> -Evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del veneno de <i>Apis mellifera</i> al 0.1 mg/ml sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.  -Evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del veneno de <i>Apis mellifera</i> al</p>	<p><b>Hipótesis General:</b> Sí existe efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del veneno de <i>Apis mellifera</i> sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>	<p><b>Tipo de investigación:</b> Tipo experimental, transversal, explicativa y analítica.</p> <p><b>Nivel de investigación de tesis:</b> Tipo Analítico.</p> <p><b>Diseño de la investigación:</b> El diseño es experimental</p>	<p><b>Población:</b> La población estuvo conformada por el conjunto de placas Petri sembrada con 100 µl de suspensión bacteriana de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175. Se necesitó 16 placas o discos experimentales seleccionados aleatoriamente para cada grupo.</p>

	<p>0.2 mg/ml sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p> <p>-Evaluar el efecto antibacteria no <i>in vitro</i> del veneno de <i>Apis mellifera</i> al 1mg/ml sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.</p>			
--	--	--	--	--

#### 4.7 Principios Éticos

Este estudio de investigación se fundamentó en el código de ética de la Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote.<sup>38</sup> Se respetó y se aplicó los siguientes principios: cuidado del medio ambiente y la biodiversidad, beneficencia no maleficencia, justicia, integridad científica.

Además al finalizar el estudio las placas Petri con cultivos utilizados fueron expuestas a 121°C y 1 Bar de presión fueron inactivadas en autoclave a fin de desechar el material biológico contaminado aplicando las normas de manejo de desechos hospitalarios.<sup>39</sup>

Los residuos microbiológicos y patológicos fueron eliminados de forma tal que se asegure su descontaminación en autoclave (residuos microbiológicos) o incineración (residuos patológicos). Esto significa una bolsa primaria de color negro, se llenó solo hasta  $\frac{3}{4}$  partes de su capacidad y anudada y sobre ésta una bolsa color amarillo con logo y pre impreso de residuos especiales, se marcar el tipo de residuos que contuvo, el laboratorio o área de generación y la fecha. Estas bolsas cerradas anudadas, fueron almacenadas temporalmente en las áreas sucias en contenedores de color amarillo con logo de Residuo Biológico.<sup>40</sup>

## V. Resultados:

### 5.1 Resultados

**TABLA 1**

**Efecto antibacteriano *in vitro* del veneno de *Apis mellifera* sobre  
*Streptococcus mutans* ATCC 25175**

Grupo de tratamiento	N	Media mm.	Desviación estándar	F	p
Veneno de <i>Apis mellifera</i> 0.1 mg/ml	16	0	0	9142.1371	0.0000
Veneno de <i>Apis mellifera</i> 0.2 mg/ml	16	0	0		
Veneno de <i>Apis mellifera</i> 1 mg/ml	16	11.9	0.72		
Clorhexidina 0.12%	16	24.4	0.72		
Suero fisiológico	16	0	0		

Fuente: Datos proporcionados por el investigador

Prueba Anova

Nivel de significancia estadística ( $p < 0.05$ )

### **INTERPRETACIÓN:**

Al 0.1 mg/ml y 0.2 mg/ml se obtuvo una media de 0 mm, al 1 mg/ml se obtuvo una media de 11.9 mm y en la clorhexidina al 0.12 % se obtuvo una media de 24.4 mm. Se utilizó la prueba ANOVA y se obtuvo  $p=0.000$ , lo cual indica que existe diferencia estadística significativa entre los grupos de estudio.



**TABLA 2**

**Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* del veneno de *Apis mellifera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

Grupo de Tratamiento	N	Subconjunto para $\alpha= 0.05$		
		1	2	3
Veneno de <i>Apis mellifera</i> 0.1 mg/ml	16	0		
Veneno de <i>Apis mellifera</i> 0.2 mg/ml	16	0		
Suero fisiológico	16	0		
Veneno de <i>Apis mellifera</i> 1 mg/ml	16		11.9	
Clorhexidina 0.12%	16			24.4

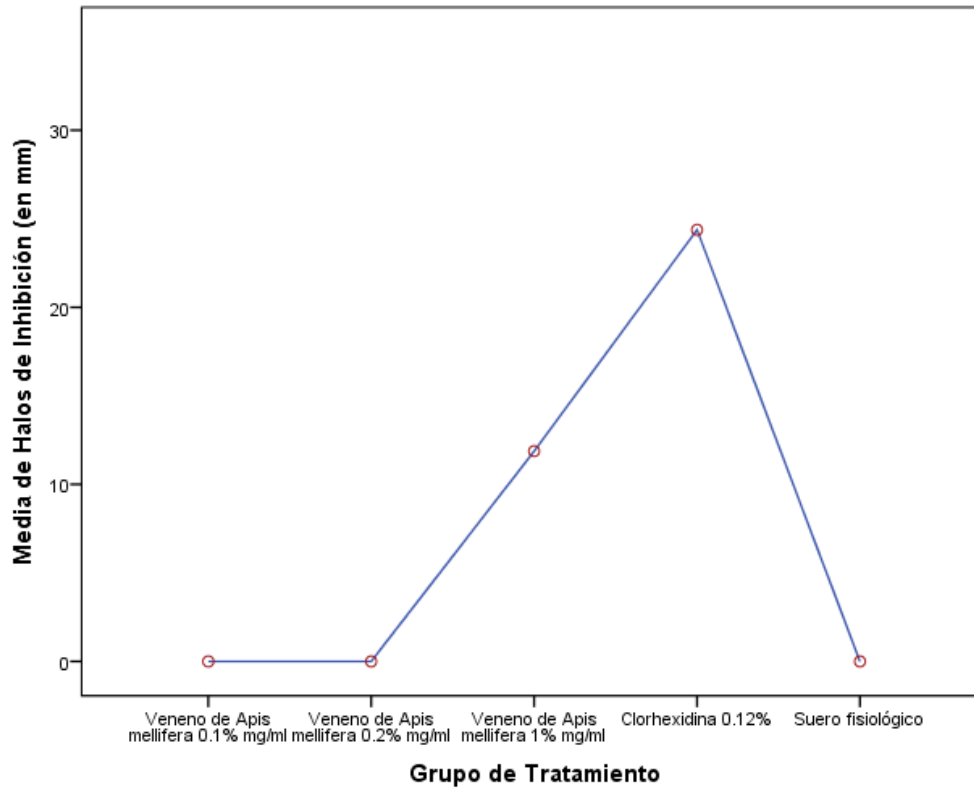
Fuente: Datos proporcionados por el investigador  
Prueba de Duncan  
Nivel de significancia estadística ( $p < 0.05$ )

### **INTERPRETACIÓN:**

Las concentraciones de 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml y control negativo no presentaron efecto antibacteriano. La concentración de 1 mg/ml presentó efecto antibacteriano, el cual es menor que el efecto que presentó la clorhexidina al 0.12 %.

**Gráfico 1**

**Efecto antibacteriano, in vitro, del veneno de *Apis mellifera* sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)**



Fuente: Datos proporcionados por el investigador

**Interpretación:** Al 0.1 mg/ml y 0.2 mg/ml se obtuvo una media de 0 mm, al 1 mg/ml se obtuvo una media de 11.9 mm y en la clorhexidina al 0.12 % se obtuvo una media de 24.4 mm.

## 5.2 Análisis de resultados:

En el presente estudio experimental, se comparó el efecto antibacteriano *in vitro* del veneno de *Apis mellifera* a concentraciones de 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml, 1mg/ml frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los resultados demostraron que el veneno de *Apis mellifera* al 1 mg/ml presentó efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* aunque inferior al efecto de la clorhexidina 0.12%.

Picoli T, et al.<sup>5</sup> presenta similitud en su estudio en el efecto antibacteriano al evaluar las actividades antibacterianas y antibiofilms *in vitro*, las biopelículas de *S. aureus* fueron más sensibles a la acción de la melitina, ya que tras la exposición a una concentración 10 veces menor que la mínima inhibitoria durante 4 h, se destruyó por completo.

Yang J, et al.<sup>6</sup>, Sethi G, et al.<sup>7</sup>, y Memariane H, et al.<sup>4</sup>, refieren que el veneno de *Apis mellifera* tiene efecto antibacteriano, en el que Sheti también menciona otros tipos de venenos de otros animales que pueden servir para estudiar y tener buenos resultados, Dosler S, et al.<sup>12</sup>, también concluye que la melitina tiene actividades antibacterianas.

La actividad antibacteriana mostrada por la concentración de 1 mg/ml se debería por sus componentes de Melitina y fosfolipasa A2 que constituyen los principales y más abundantes componentes del veneno de las abejas; representan cerca del 75% de ellos. La melitina es el polipéptido más abundante en el veneno, seguida por la fosfolipasa A2, en una relación 3:1.<sup>29</sup>

Zolfagharian H, et al.<sup>8</sup>, en su estudio encontró que el veneno de *Apis*

*mellifera* tenía un efecto antibacteriano significativo contra *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella typhimurium* en las tres concentraciones ensayadas. Por lo tanto, se concluye que el veneno de *Apis mellifera* puede tener un mecanismo específico que le permite tener un efecto antibacteriano sobre ciertas bacterias gram positivas y gram negativas.

Leandro F, et al.<sup>11</sup>, en su estudio también indica una buena actividad antibacteriana del veneno de *Apis mellifera* en el que uso veneno de *Apis mellifera* comercial y apitoxina natural en las siguientes bacterias: *Streptococcus salivarius*, *S. sobrinus*, *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *Lactobacillus casei* y *Enterococcus faecalis*.

En la mayoría de estudios muestran que los mejores componentes del veneno de *Apis mellifera* son la melitina y fosfolipasa A2 que presentan función antibacteriana frente a bacterias Gram positivas como negativas. El veneno completo, tiene función vasomotora, antibacteriana. Su nivel de cortisol aumenta en el plasma sanguíneo. En ciertas bacterias llega a ser más fuerte que la penicilina<sup>32</sup>, la fosfolipasa A2 su función citolítica en cantidad apropiada, por embate a fosfolípidos de la membrana celular, con creación de lisofosfolípidos. Tiene función antibacteriana y antivirósicas.<sup>31</sup>

No existe efecto antibacteriano al 0.1 mg/ml y al 0.2 mg/ml por que al momento de hacer el preparado a dichas concentraciones sus componentes son reducidos. Al momento de ser enfrentados al veneno de *Apis mellifera* con el *Streptococcus mutans*, el ácido formado por el *Streptococcus mutans*<sup>20,21</sup> es más fuerte que el veneno de *Apis mellifera* a

dichas concentraciones.<sup>29</sup>

Estudios han demostrado que la clorhexidina al 0.12% presenta amplio espectro antibacteriano frente a Gram negativos como Gram-positivos<sup>25,26</sup>, en este estudio la clorhexidina presentó mayor efecto antibacteriano a la concentración de 1 mg/ml porque la clorhexidina 0.12% está compuesta por una base fuerte dicatiónica a pH superior a 3,5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno, lo que la hace extremadamente interactiva con los aniones.<sup>27</sup>

## **VI. Conclusiones:**

1. La concentración de veneno de *Apis mellifera* al 0.1 mg/ml no presentó efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*.
2. La concentración de veneno de *Apis mellifera* al 0.2 mg/ml no presentó efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans*.
3. La concentración de veneno de *Apis mellifera* al 1 mg/ml presentó efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 menor que la clorhexidina al 12%.

## **Aspectos Complementarios**

1. Realizar estudios de toxicidad de veneno de *Apis mellifera*.
2. Realizar estudios de concentraciones más altas a base de veneno de *Apis mellifera* para poder aumentar el efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
3. Impulsar a realizar estudios a base de veneno de *Apis mellifera* con otras bacterias que causan la caries dental.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Estrada J, Pérez J, Hidalgo I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. Rev cubana Estomatol. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sciarttext&pid=s0034-75072006000100007>
2. Mirsasan M, Zohreh G, Masoumeh S. y Amin H. Actividad antimicrobiana de cinnammon zeylanicum, timo vulgaris metanólico y etanolico y extractos etanólicos en S. Mutans PTCC 1448. TLS. 2014. Disponible en: <http://sciencejournal.in/data/documents/Spectal-issue-TLS-Vol-3-Issue-5-2015-5.pdf>
3. Urtubey N. The venom of bees and apitoxin your use in medicine [Internet]. Fundabio.org. 2017 [cited 13 December 2017]. Available from: <http://www.fundabio.org/newsite/rtf/001.rtf>
4. Memariani H, Memariani M, Shahidi-Dadras M, Nasiri S, Akhavan M, Moravvej H. Melittin: from honeybees to superbugs [Internet]. 2019 [cited 16 September 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Melittin%3A+from+honeybees+to+superbugs>
5. Picoli T, Peter C, Zani J, Waller S, Lopes M, Boesche K. Melittin and its potential in the destruction and inhibition of the biofilm formation by Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa isolated from bovine milk.[cited 16 September 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28943153>
6. Yang J, Lee K, Kim B, Choi Y, Yoon H, Jia J. Actividades antifibrinolíticas

- y antimicrobianas de un inhibidor de la serina proteasa del veneno de la abeja *melifera* (*Apis cerana*). Bioquímica comparada y fisiología Parte C: Toxicología y farmacología. Citado el 11 de octubre de 2017; 201: 11-18. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28917645>
7. Perumal Samy R, Stiles BG, Franco OL, Sethi G, Lim LHK. Venenos animales como agentes antimicrobianos. Farmacología Bioquímica. Citado el 11 de octubre de 2018; 134: 127-138. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28288817>
  8. Zolfagharian H, Mohajeri M, Babaie M. Bee Venom (*Apis Mellifera*), una Alternativa Potencial Efectiva a la Gentamicina para Cepas de Bacterias Específicas. Revista de Farmacopuntura. 225-230. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27695631>
  9. Uddin M, Lee B, Nikapitiya C, Kim J, Kim T, Lee H. Efectos inhibidores del veneno de abeja y sus componentes contra virus in vitro e in vivo. Journal of Microbiology. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27888461>
  10. Lee G, Bae H. Bee Venom Phospholipase A2: Yesterday's Enemy Becomes Today's Friend. PubMed cited 16 September 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Bee+Venom+Phospholipase+A2%3A+Yesterday%E2%80%99s+Enemy+Becomes+Today%E2%80%99s+Friend>
  11. Leandro Luís F., Mendes Carlos A., Casemiro Luciana A., Vinholis Adriana HC, Cunha Wilson R., Almeida Rosana de et al. Actividad



antimicrobiana de la apitoxina, la melitina y la fosfolipasa A2 del veneno de la abeja melífera (*Apis mellifera*) contra los patógenos orales. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201520130511>.

12. Dosler S, Karaaslan E, Gerceker A. Antibacterial and anti-biofilm activities of melittin and colistin, alone and in combination with antibiotics against Gram-negative bacteria. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/274086428\\_Antibacterial\\_and\\_anti-biofilm\\_activities\\_of\\_melittin\\_and\\_colistin\\_alone\\_and\\_in\\_combination\\_with\\_antibiotics\\_against\\_Gram-negative\\_bacteria](https://www.researchgate.net/publication/274086428_Antibacterial_and_anti-biofilm_activities_of_melittin_and_colistin_alone_and_in_combination_with_antibiotics_against_Gram-negative_bacteria)
13. Duque J, Pérez I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Cubana Estomatol* [Internet]. 2019 [citado 12 November 2019]; (v.43 n.1). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75072006000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000100007)
14. González M, Balda R, Gózález O, Solórzano A, Loyo K. Estudio comparativo de tres métodos de diagnóstico de las caries. *Acta. Odontol. Venez.* [Internet][citado 2019 octubre 23]. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-63651999000300012](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63651999000300012)
15. Ojeda-Garcés J, Oviedo-García E, Salas L. *Streptococcus mutans* and dental caries [Internet]. *Scielo.org.co*. 2019 [cited 23 October 2019]. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-971X2013000100005](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005)
16. Miguelañez B, Pastor M, Sarría B. Estado actual de la etiología de la caries

- dental. Revisión bibliográfica del último año [internet]. Univ. Rey. Ju. Carl. 2007 [citado el 17 de noviembre del 2018]. disponible en: [https://biopat.es.urje.es/conganat/files/2006-2007\\_G13.pdf](https://biopat.es.urje.es/conganat/files/2006-2007_G13.pdf)
17. Ingraham J. Ingraham C. Enfermedades humanas causados por microorganismos. En: Introducción a la microbiología. 1 ed. España: Reverté S.A.; 1998. p.555-557. Disponible en: [http://www.imii.cl/wp-content/uploads/2015/10/Libro\\_IMII\\_Microbiologia.pdf](http://www.imii.cl/wp-content/uploads/2015/10/Libro_IMII_Microbiologia.pdf)
18. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. Streptococcus mutans and dental caries. CesOdontol. 2013; 26(1):44-56. Scielo.org.co. 2019 [cited 23 October 2019]. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-971X2013000100005](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005)
19. Negroni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica 2a ed. Buenos Aires, Argentina: Panamericana; 2009. p. 237-9. Disponible en: <https://www.medicapanamericana.com/Libros/Libro/4170/Microbiologia-Estomatologica.html>
20. Lin Zhu, Jens Kreth, Sarah E. Cross, James K. Gimzewski, Wenyuan Shi y Fengxia Qi. Caracterización funcional de la proteína asociada a la pared celular en Streptococcus mutans. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16849803>
21. Todar K. Structure and Function of Bacterial Cells [Internet]. Textbookofbacteriology.net. 2017 [cited 13 December 2017]. Available from: <http://textbookofbacteriology.net/structure.html>
22. Negroni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica 2a

- ed. Buenos Aires, Argentina: Panamericana; 2009. p. 237-9. Disponible en:  
<https://www.medicapanamericana.com/Libros/Libro/4170/Microbiologia-Estomatologica.html>
23. Ojeda J, Oviedo E, Salas L. Streptococcus mutans and dental caries. Ces Odontol. 2013; 26(1):44-56. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-971X2013000100005](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005)
24. Huarino M, Ramos D. Efecto antibacteriano de Caesalpinia Spinosa (Tara) sobre flora salival mixta. Odontol. Sanmarquina. 2013; 16(1): 32-35. Disponible en:  
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/2829>
25. Russell A, Path F. Chlorhexidine: Antibacterial action and bacterial resistance. Infection. 1986;14(5):212-215. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3539812> DOI: 10.1007 / bf01644264
26. Nicoletti G, Boghossian V, Gurevitch F, Borland R, Morgenroth P. The antimicrobial activity in vitro of chlorhexidine, a mixture of isothiazolinones ('Kathon' CG) and cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB). Journal of Hospital Infection. 1993;23(2):87-111. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8097222>
27. Rabe P, Twetman S, Kinnby B, Svensäter G, Davies J. Effect of Fluoride and Chlorhexidine Digluconate Mouthrinses on Plaque Biofilms. The Open Dentistry Journal. 2015;9(1):106-111. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4391207/>

28. Ojeda J, Garcés E. y Salas L. Streptococcus mutans y caries dental. CES odontol. 2019 citado el 20 Sep vol.26. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-971X2013000100005](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005)
29. Valderrama R. Aspectos toxinológicos y biomédicos del veneno de las abejas Apis mellifera [Internet]. Scielo.org.co. 2017 [cited 13 October 2019]. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v16n3/v16n3a3.pdf>
30. Peña L, Pineda E, Hernández M, Rodríguez A. Toxinas naturales: abejas y su veneno [Internet]. Redalyc.org. 2017 [cited 13 agosto 2019]. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/559/55925101.pdf>
31. Habermann, E. Bee and wasp venoms [Internet]. Garfield.library.upenn.edu. 2017 [cited 13 octubre 2019]. Available from: <http://garfield.library.upenn.edu/classics1988/A1988L680400002.pdf>
32. R, Fernández C, Baptista P. Selección de la muestra. En Metodología de la Investigación. 6ª ed. México: Interamericana; 2014. Disponible en: [http://metabase.uaem.mx/bitstream/handle/123456789/2776/506\\_6.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://metabase.uaem.mx/bitstream/handle/123456789/2776/506_6.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
33. Steel Robert, James Terrie; Bioestadística principios y procedimientos 2da Edición, Editorial Mc Graw-Hill. 1985 p.640. Disponible en: <https://clea.edu.mx/biblioteca/Steel%20Robert%20G%20-%20Bioestadística%20Principios%20Y%20Procedimientos%202ed.pdf>
34. Padin J, Felice L. Presenta la 1º Edición de APITOXINA Su preparado, Especificaciones Y Farmacología. 2012. Citado el 11 de julio del 2019

- Disponible en:  
<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8c/Apitoxina2012.pdf>
35. Definista. Efecto antibacteriano, definición, concepto y significado [Internet]. Conceptodefinicion.de. 2017. cited 13 julio 2019. Available from: <http://conceptodefinicion.de/antibacteriano/Hernández>
36. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) [Internet] 2017 [citado 2018 Jun 22] Disponible en: [https://clsi.org/media/1469/m100s27\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1469/m100s27_sample.pdf)
37. Durafflourd C, Hervicourt L, Lapraz J. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1° edición. París: Masson SA; 1983.
38. Código de ética para la investigación. ULADECH. Versión 002 [Internet]. [citado 27 octubre 2019]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf>
39. Fica, A, Ruíz G, Yunes Alí. Normas de manejo de desechos hospitalarios. REV. Medwave [Internet] 2008 [citado 02 diciembre 2019];3 Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsair/e/repindex/rep62/guiamane/manuma.html>
40. Procedimiento para el manejo de eliminación de residuos biológicos. Universidad católica pontificia de Chile. 2013; 1-7 Disponible en: <http://postgrado.bio.uc.cl/wp-content/uploads/2015/06/manejo-y-eliminacion-deresiduos-biologicos.pdf>

# **ANEXOS**

**Anexo 1:**

**VERNIER DIGITAL** marca MITUTOYO, Modelo 500-196-20 ABSOLUTE

Digimatic Caliper 0-150mm / 0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025



Anexo 2:

Ficha de recolección datos.

<b>HALOS DE INHIBICIÓN</b>					
<b>N° de</b>	<b>CONCENTRACIONES</b>			<b>Control positivo</b>	<b>Control negativo</b>
<b>Repeti ciones</b>	<b>0.1 mg/ ml</b>	<b>0.2 mg/ ml</b>	<b>1 mg/ ml</b>	<b>Clorhex idina al 0.12 %</b>	<b>Discos con suero fisiológico</b>
<b>1</b>					
<b>2</b>					
<b>3</b>					
<b>4</b>					
<b>5</b>					
<b>6</b>					
<b>7</b>					
<b>8</b>					
<b>9</b>					
<b>10</b>					
<b>11</b>					
<b>12</b>					
<b>13</b>					
<b>14</b>					
<b>15</b>					
<b>16</b>					



Anexo 3:

Constancia de la obtención de veneno de *Apis mellifera*

**APITOXINA**

Extracción de Apitoxina:

Se realiza con una maquina eléctrica la cual sirve para pasar un voltaje adecuado en la colmena donde están las abejas, esto hace que las abejas al recibir el impulso eléctrico expulsan el veneno (Apitoxina). Se procede con la extracción del veneno; el veneno una vez extraído es almacenado en cámara fría.

En un área adecuado se procede con las diluciones de Apitoxina a concentraciones de 0,1 mg/mL, 0,2 mg/mL; se procede con el envasado en viales de vidrio esterilizados en volúmenes de 10 mL.

Q.F. Amelia Caballero C.

The image displays the product packaging for Apis vp. on the left, which includes a box and a vial. The box is labeled 'Apis vp. 3x Analgesica Antinflamatoria Antirreumática Solución Estéril' and 'INDUSTRIA ARGENTINA'. The vial is labeled 'Apis vp. 3x Dosis de Veneno de Abeja' and 'Farmacia Del Lago'. On the right, there is a detailed informational page with a header featuring a photo of a man. The page contains text in Spanish and English, describing the product's benefits and usage. At the bottom, there is a decorative graphic with the word 'APITOXINA' and a logo for 'FSA'.

**Anexo 4:**

**Constancia de colaboración de la Química Farmacéutica AMELIA CABALLERO CAMARENA en la ejecución del proyecto de investigación**

**APITOXINA**

Extracción de Apitoxina:

Se realiza con una máquina eléctrica la cual sirve para pasar un voltaje adecuado en la colmena donde están las abejas, esto hace que las abejas al recibir el impulso eléctrico expulsan el veneno (Apitoxina). Se procede con la extracción del veneno; el veneno una vez extraído es almacenado en cámara fría.

En un área adecuada se procede con las diluciones de Apitoxina a concentraciones de 0,1 mg/mL, 0,2 mg/mL; se procede con el envasado en viales de vidrio esterilizados en volúmenes de 10 mL.

Q.F. Amelia Caballero C.

Anexo 5:

Boleta de compra de cepas de *Streptococcus mutans*.

del Perú SAC  
Tecnologías para la Vida  
**RAZON SOCIAL: GEN LAB DEL PERU S.A.C.**  
J. General N° 264 Utc. Lima - Perú Al. Ota S.A. De Mao Sa. S.A. S.A.  
Av. Las Flores de Pinar N° 986 Utc. Las Flores Sa. Juan de Lurigancho, Lima Lima  
Cerca Tel: 203-7500 (línea 01-1) 203-7501  
email: ventas@genlabperu.com web: www.genlabperu.com

**R.U.C. 20501262260**  
**GUIA DE REMISION REMITENTE**  
0002-0001423

Fecha	Comprobante de Pago N°
9/04/2019	F002000161

Sr(es): UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE  
JR. TUMBES NRO. 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANCIERO SANTA ANCA  
CHIMBOTE SANTA ANCA

Punto de Llegada: Urb. Wichezango Ms. I Lt. 25 - Trujillo  
Punto de Partida: AV. LIG FLORES DE PRIMAVERA # 947 - LIMA 36

Unidad de Transporte y Conductor  
Marca y Placa:  
N° Licencia de Conducir:

R.U.C.: 20319436043  
Cod. Cliente:  
Orden de Compra: 1513 Ped N°: 021851  
Numero de Pedido: 01-19/034349  
Tipo de Movimiento: 01-19/034349  
Fecha de Traslado: 9/04/2019

Sr(es):  
R.U.C.:

**MOTIVO DEL TRASLADO**  
 Ventas  
 Compras  
 Consignación  
 Ventas con Entrega a Terceros  
 Ventas Sujetas a Confirmación por el Proveedor  
 Traslado entre Establecimientos de la misma Empresa  
 Devolución  
 Otros

COD.	CANT.	UNIT.	DESCRIPCION
H0566-A	1		KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25173™ LITE, 666-28-10 / Vendedor: 20/000161

BIENES TRANSPORTADOS: Una vez recepcionada la mercancía no habrá lugar a devoluciones. Firma y Sello  
A.C. 78 p. GEN LAB DEL PERU S.A.C. RECIBI CONFORME

del Perú SAC  
Yupayacu N° 2434  
Lince - Lima - Perú  
Central Telefónica  
(01-1) 203-7500, (01-1) 203-7501  
Email: ventas@genlabperu.com  
Web Site: www.genlabperu.com

**RUC N°: 20501262260**  
**FACTURA ELECTRONICA F002-000161**

Page 1 of 1

Fecha emisión: 18/03/2019  
Fecha Vcto: 18/03/2019  
Orden Compra: GL/19-034349  
Guía de Remisión:  
N° Pedido: 021851

Cliete: UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE  
Dirección: JR. TUMBES NRO. 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANCIERO CHIMBOTE - SANTA - ANCASH - Peru  
Tipo Movimiento: ANTICIPOS  
Lugar de destino:  
RUC: 20319656043

Código	Descripción	Cant	U/M	Precio Unit.	Dcto	Sub-Total
H0566-A	KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25173™	1	UND	305.93	0.00	305.93

TRESCIENTOS SESENTA Y UNO CON 00/100 SOLES

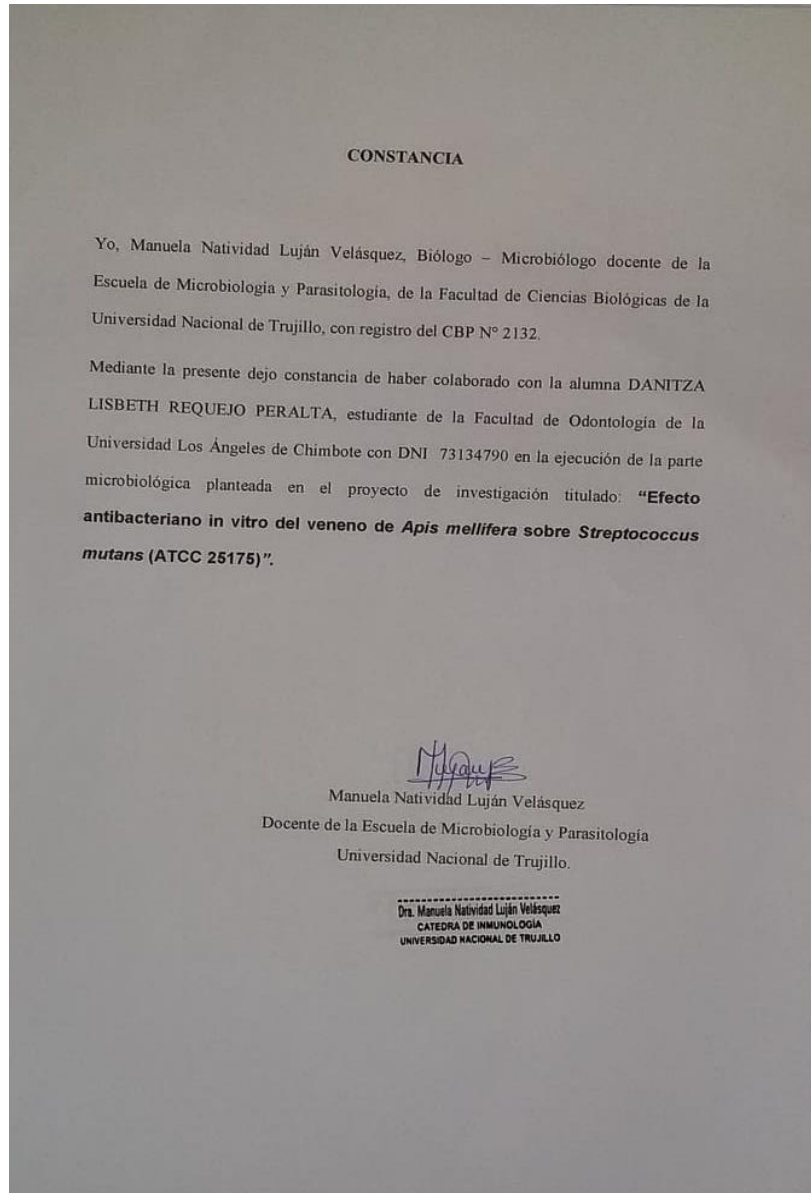
Anticipo	0.00
Op. Gravada S/	305.93
IGV 18%	55.07
Importe Total S/	361.00

Representación Impresa de la Factura Electrónica  
Consulte: <http://cpe.genlabperu.com>

Observaciones de SUNAT:  
La Factura numero F002-000161, ha sido aceptada.  
Después de Venido el plazo de cancelación, se recargará el interés legal correspondiente.  
Sirvase Realizar el Depósito Respectivo a las Sigüientes Ctas Bancarias:  
Banco BCP 192-144997-0-94 BSV/A Soles 0071-0135-0100024183-34

**Anexo 6:**

**Constancia de colaboración de MANUELA NATIVIDAD LUJAN VELÁSQUEZ, Microbióloga en la ejecución del proyecto de investigación.**



Anexo 7:

**RESULTADOS**

Efecto antibacteriano in vitro del veneno de *Apis mellifera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

<del>Concentración</del> Repeticiones	0.1 mg/ml	0.2 mg/ml	1 mg/ml	C+	C-
1.	0	0	12	25	0
2.	0	0	12	24	0
3.	0	0	11	25	0
4.	0	0	12	25	0
5.	0	0	13	24	0
6.	0	0	12	25	0
7.	0	0	11	26	0
8.	0	0	10	25	0
9.	0	0	12	24	0
10.	0	0	12	23	0
11.	0	0	12	24	0
12.	0	0	12	24	0
13.	0	0	12	24	0
14.	0	0	13	24	0
15.	0	0	12	24	0
16.	0	0	12	24	0

C+= Clorhexidina al 0.12%

C- = Suero fisiológico

**Anexo 8:**  
**Prueba de normalidad**

Tratamiento Repeticiones	0.1% mg/ml	0.2% mg/ml	1% mg/ml	Clorhexidina 0.12%	Suero fisiológico
1	0	0	12	25	0
2	0	0	12	24	0
3	0	0	11	25	0
4	0	0	12	25	0
5	0	0	13	24	0
6	0	0	12	25	0
7	0	0	11	26	0
8	0	0	10	25	0
9	0	0	12	24	0
10	0	0	12	23	0
11	0	0	12	24	0
12	0	0	12	24	0
13	0	0	12	24	0
14	0	0	13	24	0
15	0	0	12	24	0
16	0	0	12	24	0
Promedio	0	0	11.9	24.4	0
Prueba de Normalidad p"	-	-	0.0786	0.0968	-

Se observa una distribución normal.

**Anexo 9:**

**Concentraciones del veneno de Apis Mellifera**



Concentraciones de Apis Mellifera de 0,1 mg/ml; 0.2 mg/ml; 1 mg/ml.



**Evaluación del efecto antibacteriano, in vitro, de tres concentraciones de *Apis mellifera* frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.**

**INOCULACION DE LAS PLACAS**



Hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo de la placa.

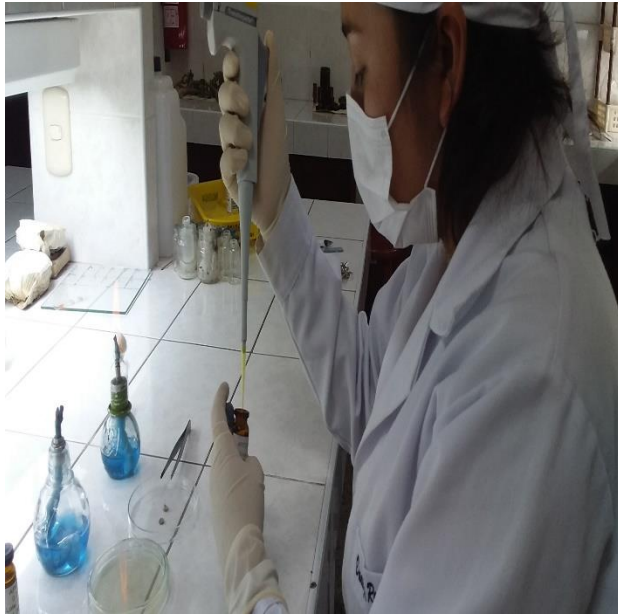




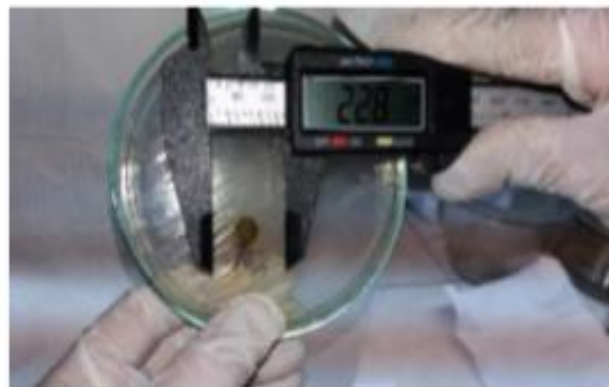
Se prepararon discos de papel filtro tipo whatman número 3 y se esterilizaron.



Luego fueron embebidos con 30 UI de cada una de las concentraciones de 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml, 1 mg/ml.



Después del tiempo de incubación de 48 horas se examinó cada placa y para la medida de los halos de inhibición se utilizó la regla de Vernier digital marca Mitutoyo, Modelo 500 – 196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150 mm /0-6”, por estar calibrado con ISO de calidad 17025.



## CONTROL POSITIVO Y NEGATIVO

