



UNAP



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TESIS

ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE LAS HORMIGAS DEL GÉNERO
Solenopsis (FORMICIDAE: HYMENOPTERA) Y TERMITAS DEL GÉNERO
Nasutitermes (TERMITIDAE: ISOPTERA) FRENTE A CEPAS DE
Staphylococcus aureus Y *Pseudomonas aeruginosa*

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO

PRESENTADO POR:

FELIX JUNIOR ROMERO GARCIA

ASESORES:

Blga. CAROL MARGARETH SÁNCHEZ VELA, Dra.
Mblgo. ÁLVARO BENJAMÍN TRESIERRA AYALA, DR.

IQUITOS, PERÚ

2021

Acta de sustentación



UNAP

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 030-CGT-UNAP-2021

En la ciudad de Iquitos, Departamento de Loreto, mediante plataforma virtual, a los 11 días del mes de junio de 2021, a horas 5.00 p.m., se dio inicio a la sustentación pública de la Tesis titulada: "**ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE LAS HORMIGAS DEL GÉNERO *Solenopsis* (FORMICIDAE: HYMENOPTERA) Y TERMITAS DEL GÉNERO *Nasutitermes* (TERMITIDAE: ISOPTERA) FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa***" presentado por el Bachiller FELIX JUNIOR ROMERO GARCIA, autorizada mediante RESOLUCIÓN DECANAL N°114-2021-FCB-UNAP, para optar el Título Profesional de BIÓLOGO, que otorga la UNAP de acuerdo a Ley 30220, su Estatuto y el Reglamento de Grados y Títulos vigente.

El Jurado Calificador y dictaminador designado mediante RESOLUCIÓN DECANAL N°104- 2021-FCB-UNAP de fecha 02 de febrero de 2021, está integrado por:

- | | |
|---|--------------|
| - Biga. TERESA DE JESÚS MORI DEL AGUILA, Dra. | - Presidente |
| - Biga. JULIA BARDALES GARCÍA DE VELA, M. Sc. | - Miembro |
| - Biga. ETERSIT PEZO LOZANO, M. Sc. | - Miembro |



Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas, las cuales fueron respondidas:


SATISFACTORIAMENTE


El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:




La sustentación pública y la Tesis ha sido APROBADA con la calificación de MUY BUENA, estando el Bachiller apto para obtener el Título Profesional de BIÓLOGO.

Siendo las 6.30 p.m. se dio por terminado el acto de sustentación.


Biga. TERESA DE JESÚS MORI DEL AGUILA, Dra.
Presidente


Biga. JULIA BARDALES GARCÍA DE VELA, M. Sc.
Miembro


Biga. ETERSIT PEZO LOZANO, M. Sc.
Miembro

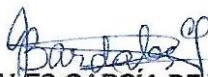

Biga. CAROL MARGARETH SÁNCHEZ VELA, Dra.
Asesora


Mblgo. ALVARO BENJAMÍN TRESIERRA AYALA, Dr.
Asesor

Jurado calificador y dictaminador



Blga. TERESA DE JESÚS MORI DEL AGUILA, Dra.
Presidente



Blga. JULIA BARDALES GARCÍA DE VELA, M. Sc.
Miembro



Blga. ETERSIT PEZO LOZANO, M. Sc.
Miembro

Asesores



Blga. CAROL MARGARETH SANCHEZ VELA, Dra.
Asesora



Mblgo. ALVARO BENJAMÍN TRESIERRA AYALA, Dr.
Asesor

A mi madre Blanca por todo el amor que me brinda cada día, por su apoyo incondicional y todas las enseñanzas que me provee, por no dejar de creer en mi y enseñarme que nunca hay que rendirse ante cualquier obstáculo.

A mi padre Guido por su amor y motivación, a mis hermanos Lucio, Vicky, Jordan y Maricielo por el gran amor, cariño y calor fraternal que nos une en los buenos y no tan buenos momentos.

Félix Junior Romero García

Agradecimiento

A mi asesor, MBlgo. Álvaro Benjamín Tresierra Ayala, Dr., por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por la confianza y consejos, motivándome a superarme profesionalmente, contagiándome de esas ganas y entusiasmo de hacer investigación.

A mi asesora Blga. Carol Margareth Sánchez Vela Dra., por enseñanzas brindadas, por la amistad y confianza, y por los consejos dados para mi vida personal y profesional.

A mi madre Blanca García Vilca y a mi tío César García Vilca porque desde niño me inculcaron grandes valores, porque siempre creyeron en mi y por todos los consejos de superación para mi vida.

A mis amigos Carolina Reátegui, Layné Guerra y Jeffrey Tananta, por su valiosa amistad, por el apoyo incondicional y desinteresado brindado durante todo el proceso de esta tesis.

Y a todas aquellas personas que contribuyeron de alguna u otra manera para el desarrollo de esta investigación.

Índice de contenido

Portada.....	i
Acta de sustentación	ii
Jurado calificador y dictaminador	iii
Asesores	iv
Agradecimiento.....	vi
Índice de contenido	vii
Lista de Figuras.....	xi
Lista de Tablas	xi
Lista de Gráficos.....	xii
Lista de Anexos	xiii
Resumen	xiv
Abstract	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	4
1.1. Antecedentes	4
1.2. Bases Teóricas	7
1.2.1. De los especímenes en estudio.....	7
1.2.2. Descripción de <i>Staphylococcus aureus</i>	9

1.2.3.	Descripción de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
1.3.	Definición de Términos Básicos.....	12
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES		14
2.1.	Formulación de la hipótesis	14
2.2.	Variables y su operacionalización.....	14
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....		15
3.1.	Tipo y diseño.....	15
3.2.	Diseño muestral.....	15
3.2.1.	Población.....	15
3.2.2.	Muestra.....	15
3.3.	Procedimiento de recolección de datos	15
3.3.1.	Área de estudio	15
3.3.2.	Colecta de muestras.....	16
3.3.3.	Área de procesamiento de las muestras	17
3.3.4.	Limpieza y pesaje de los insectos	17
3.4.	Procesamiento de muestra y análisis de muestras.....	18
3.4.1.	Procesamiento de muestras para evaluar la actividad antagónica.....	18
3.4.2.	Preparación de la solución madre del extracto de cada insecto.....	18
3.4.3.	Determinación de la capacidad antibacteriana del	

extracto de los insectos	18
3.4.4. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).....	21
3.4.5. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB).....	22
3.4.6. Análisis de Datos.....	23
3.5. Aspectos éticos.....	23
CAPÍTULO IV: RESULTADOS.....	25
4.1. Actividad antibacteriana del extracto de las hormigas del género <i>Solenopsis</i> y las termitas del género <i>Nasutitermes</i> frente a cepas de <i>S. aureus</i> y <i>P.</i> <i>aeruginosa</i>	25
4.2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto de las hormigas del género <i>Solenopsis</i> y las termitas del género <i>Nasutitermes</i>	29
4.3. Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto de las hormigas del género <i>Solenopsis</i> y las termitas del género <i>Nasutitermes</i>	32
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	34
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES.....	38
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	39

CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	40
ANEXOS	48

Lista de Figuras

Figura 1. Presencia de halo de inhibición.....	21
--	----

Lista de Tablas

Tabla 1. Operacionalización de las variables	14
Tabla 2. Porcentaje (%) de la sensibilidad de las cepas bacterianas a los extractos de <i>Nasutitermes</i> y <i>Solenopsis</i>	26
Tabla 3. Concentración Mínima Inhibitoria de los extractos de <i>Nasutitermes</i> y <i>Solenopsis</i> frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Tabla 4. Concentración Mínima Bactericida de los extractos de <i>Nasutitermes</i> y <i>Solenopsis</i> frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	33

Lista de Gráficos

- Gráfico 1. Promedio de medida de los halos obtenidos por los discos control con extractos de *Solenopsis* y *Nasutitermes* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.....27
- Gráfico 2. Sensibilidad de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* frente a los extractos de *Nasutitermes* y *Solenopsis*28
- Gráfico 3. Sensibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* frente a los extractos de *Nasutitermes* y *Solenopsis*29

Lista de Anexos

Anexo 1. Flujograma de los ensayos realizados.	48
Anexo 2. Inoculación de las cepas en Agar Mueller-Hinton para la prueba de sensibilidad.....	49
Anexo 3. Aplicación del extracto en los pocillos para la prueba de sensibilidad.....	49
Anexo 4. Sensibilidad de las cepas bacterianas frente a los extractos de <i>Nasutitermes</i> (N) y <i>Solenopsis</i> (S).....	50
Anexo 5. Halo de inhibición del extracto de <i>Nasutitermes</i> frente a <i>P. aeruginosa</i> (Izquierda) y <i>S. aureus</i> (Derecha).....	50
Anexo 6. Halo de inhibición del extracto de <i>Solenopsis</i> frente a <i>S. aureus</i>	61
Anexo 7. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto de <i>Nasutitermes</i> frente a <i>P. aeruginosa</i>	61
Anexo 8. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto de <i>Nasutitermes</i> frente a <i>S. aureus</i>	62
Anexo 9. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto de <i>Solenopsis</i> frente a <i>S. aureus</i>	62
Anexo 10. Diseminación en las placas, de los tubos que no presentaron turbidez en CMI para obtener la CMB.	63
Anexo 11. Recuento de colonias para determinar la CMB.	63

Resumen

Los insectos a lo largo de los años vienen siendo estudiados por sus diversas propiedades curativas; por tal motivo, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antagónica de las hormigas del género *Solenopsis* y las termitas del género *Nasutitermes* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, empleando el método de difusión en agar modificado. Se obtuvo que los dos extractos (*Solenopsis* y *Nasutitermes*) presentaron actividad antagónica, de 10 cepas de *P. aeruginosa*, el 80% fue sensible al extracto de *Nasutitermes*, mientras que para el extracto de *Solenopsis* no se registró presencia de halo; por otro lado, de 10 cepas de *S. aureus*, el 90% fue sensible al extracto de *Nasutitermes*, mientras que para el extracto de *Solenopsis* se registró que el 80 % presentaba halo de inhibición. La Concentración Mínima Inhibitoria para el extracto de *Nasutitermes* en *P. aeruginosa* sólo tuvo actividad en 4 cepas, cuyos valores fluctuaron entre 125 mg/ml y 0.488 mg/ml; mientras que en *S. aureus* se tuvo mayor inhibición en *Solenopsis* que en *Nasutitermes*, 8 y 5 cepas respectivamente. En cuanto a la Concentración Mínima Bactericida se encontraron resultados favorables, puesto que en *P. aeruginosa* y *S. aureus* hubo crecimiento menor a 75 colonias. Concluyendo que los extractos de *Nasutitermes* y *Solenopsis* presentan buena actividad antagónica frente a las dos especies de bacterias, siendo el extracto de *Nasutitermes* más efectiva que el extracto de *Solenopsis*.

Palabras claves: Actividad antagónica, cepas bacterianas, extractos.

Abstract

Insects over the years have been studied for their various healing properties; for this reason, the present research aimed to evaluate the antagonistic activity of ants of the genus *Solenopsis* and termites of the genus *Nasutitermes* against strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, using the modified agar diffusion method. It was obtained that the two extracts (*Solenopsis* and *Nasutitermes*) presented antagonistic activity, of 10 strains of *P. aeruginosa*, 80% were sensitive to the *Nasutitermes* extract, while for the *Solenopsis* extract the presence of halo was not registered; on the other hand, of 10 strains of *S. aureus*, 90% were sensitive to the *Nasutitermes* extract, while for the *Solenopsis* extract it was recorded that 80% presented an inhibition halo. The Minimum Inhibitory Concentration for the *Nasutitermes* extract in *P. aeruginosa* only had activity in 4 strains, whose values fluctuated between 125 mg / ml and 0.488 mg / ml; while in *S. aureus* there was greater inhibition in *Solenopsis* than in *Nasutitermes*, 8 and 5 strains respectively. Regarding the Minimum Bactericidal Concentration, favorable results were found, since in *P. aeruginosa* and *S. aureus* there was less than 75 colonies growth. Concluding that the *Nasutitermes* and *Solenopsis* extracts show good antagonistic activity against the two species of bacteria, the *Nasutitermes* extract being more effective than the *Solenopsis* extract.

Key words: Antagonistic activity, bacterial strains, extracts.

INTRODUCCIÓN

Los insectos conforman uno de los grupos de animales más exitosos y se estima que conforman el 90% de la biodiversidad animal, ya que desde su aparición, han colonizado todos los hábitats a excepción del mar ⁽¹⁾. Con el tiempo han alcanzado una diversidad bioquímica y molecular, mismas que han sido aprovechadas por el hombre al incorporar a los insectos como fuente alimentaria y recurso medicinal ⁽²⁾ ⁽³⁾ ⁽⁴⁾ ⁽⁵⁾ ⁽⁶⁾, principalmente por comunidades indígenas de todo el mundo, quienes los empleaban empíricamente durante siglos para curar diversas enfermedades como cáncer, tos, quemaduras, infecciones, reumatismo e incluso impotencia sexual. Actualmente los insectos son más valorados cada día por la ciencia, no solo por su importancia ecológica, sino también porque se ha comprobado que en su organismo almacenan principios activos que obtienen de algunas plantas y flores de las que se alimentan ⁽⁷⁾.

Debido a la gran resistencia que desarrollan algunas bacterias a los medicamentos y a los efectos secundarios que estos producen en algunas personas, se ve necesaria la búsqueda y desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos a través del uso de productos naturales, principalmente ante las bacterias intrahospitalarias, como las del género *Pseudomonas* y *Staphylococcus*, debido a que se presentan con mayor frecuencia en estos ambientes ⁽⁸⁾. Se conoce que *Staphylococcus aureus* es un patógeno que puede causar múltiples infecciones y se estima que del 50% al 90% de las cepas aisladas presentan resistencia a la oxacilina y metilicina y muchas a la vancomicina ⁽⁹⁾ ⁽¹⁰⁾ ⁽¹¹⁾; mientras que,

Pseudomonas aeruginosa es considerado un germen patógeno oportunista con resistencia a muchos antimicrobianos de uso clínico, incluyendo la mayoría de penicilinas, cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, monobactamas, aminoglicósidos y fluoroquinolonas ^{(12) (13)}.

En los últimos años, los estudios sobre fisiología y ecología de insectos se han enfocado no solo en investigación básica sino también en el área bioprospectiva, permitiendo explorar el uso funcional de las moléculas que producen ⁽¹⁴⁾. Debido a la gama de sustancias biológicamente activas presentes en sus cuerpos, los insectos han sido considerados como una fuente principal de terapéuticos potenciales, y ello incluye moléculas que matan células cancerígenas, proteínas que previenen la coagulación de la sangre, enzimas que degradan pesticidas, proteínas que brillan en la oscuridad, péptidos y toxinas, antimicrobianos, etc. ⁽¹⁹⁾. De esta manera, se han identificado proteínas, péptidos y otros compuestos con actividad antibacteriana, antiviral, antitumoral, analgésica, antiinflamatoria, entre otras ^{(15) (16) (17) (18)}.

Es conocido popularmente que los insectos sociales como las hormigas y termitas son utilizados en los pueblos indígenas por sus cualidades curativas, sin embargo, han sido muy poco estudiados para demostrar su gran potencial antibacteriano. En este sentido, el presente trabajo tuvo como objetivo general evaluar la actividad antagónica de las hormigas del género *Solenopsis* (Formicidae: Hymenoptera) y termitas del género *Nasutitermes* (Termitidae: Isoptera) frente a cepas de *S. aureus* y *P. aeruginosa*; y como objetivos específicos determinar la

capacidad antibacteriana del extracto de las hormigas del género *Solenopsis* y las termitas del género *Nasutitermes* frente a cepas bacterianas de *S. aureus* y *P. aeruginosa*, determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto de las hormigas del género *Solenopsis* y las termitas del género *Nasutitermes* frente a cepas bacterianas de *S. aureus* y *P. aeruginosa*, determinar la concentración mínima bactericida del extracto de las hormigas del género *Solenopsis* y las termitas del género *Nasutitermes* frente a cepas bacterianas de *S. aureus* y *P. aeruginosa*. De modo que este estudio sea de gran trascendencia, ya que estos organismos constituyen un porcentaje importante de la población animal de la Amazonia, utilizándolas como nuevas alternativas contra las infecciones causadas por bacterias.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

La ciencia ya ha comprobado la existencia de propiedades inmunológicas, analgésicas, antibacterianas, diuréticas, anestésicas y antirreumáticas presentes en los cuerpos de los insectos, puesto que son bastantes hábiles en lo que se refiere a la síntesis de compuestos químicos ⁽⁴¹⁾.

En 1998 en Corea del Sur, en un estudio sobre insectos y otros artrópodos utilizados como fármacos en la medicina tradicional coreana, se realizaron entrevistas a médicos de medicina tradicional, en el cual se pudo conocer que utilizan a las hormigas que nidifican en el suelo para curar diversas enfermedades, puesto que estas elaboran y utilizan sustancias químicas que matan hongos y bacterias de sus nidos subterráneos ⁽⁴²⁾.

En un estudio llevado a cabo el 2001 en California, sobre la confirmación de la identidad taxonómica de las hormigas recolectoras alucinógenas, se realizaron revisiones etnobiológicas en el cual se pudo compartir con poblaciones indígenas del sudeste de California, se dio a conocer que las hormigas desempeñan una importante función en la medicina preventiva y curativa, tratando diversas afecciones, tales como parálisis, molestias gastrointestinales, resfriados graves, dolores, artritis y desórdenes ginecológicos (particularmente debido al parto) ⁽⁴³⁾.

En Brasil, a las hormigas al igual que las termitas se les atribuyen muchas propiedades curativas siendo indicadas para el tratamiento de asma, bronquitis, tisis, ciática, cefalea, dolor de garganta, escorbuto, gota, parálisis, reumatismo, lepra y verrugas ⁽⁴⁴⁾.

Estudios realizados en los años 2001 y 2010, sobre la ultramorfología de las glándulas metapleurales de hormigas en Sao Paulo – Brasil, determinaron mediante técnicas microscópicas, histológicas e histoquímicas que las hormigas son insectos sociales que han desarrollado defensas químicas para sostener sus nidos. Sosteniendo que las principales fuentes de estas armas químicas de defensa se localizan en las glándulas metapleurales y las glándulas mandibulares ⁽⁴⁵⁾ ⁽⁴⁶⁾.

Por otro lado, en investigaciones realizadas en los años 2004 y 2005 sobre la biología molecular y bioinformática de las termitas australianas, se colectaron diferentes especies del género *Nasutitermes*, donde mediante la técnica de PCR y secuenciamiento del ARN, se pudo demostrar su potencial como productores de péptidos antimicrobianos ⁽⁴⁷⁾ ⁽⁴⁸⁾.

En el 2009 se realizó un trabajo sobre la medicina popular en la región nororiental de Brasil, donde colectaron *N. corniger* de dos especies diferentes de plantas para determinar la actividad antimicrobiana frente a cepas de *E. coli*, encontrando un sinergismo del extracto al ser combinado con la neomicina, modificando así la actividad antibiótica, demostrando la influencia del substrato de la

planta en las propiedades farmacológicas de las termitas ⁽⁴⁹⁾.

En una investigación realizada en el 2013, en la ciudad de Cartagena - Colombia, determinaron la actividad antibacterial de extractos de hormigas de los géneros *Crematogaster* y *Solenopsis*, adaptadas a ámbitos urbanos. De los cuales se sometieron a procesos de extracción por maceración, donde obtuvieron extractos etanólicos totales, muy poco hidrosolubles, evaluándose a diferentes concentraciones sobre cepas de bacterias Gram negativas (*Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*) y Gram positivas (*Bacillus subtilis spizizenii* y *Staphylococcus aureus*), encontrando actividad inhibitoria al crecimiento en diferentes grados sobre todas ellas ⁽⁵⁰⁾.

En el 2016 en Estados Unidos se realizó un estudio que pretende encontrar nuevos antimicrobianos contra organismos que afectan a los seres humanos. Encontraron que la termita subterránea, *Reticulitermes flavipes* tiene propiedades antimicrobianas contra un grupo de bacterias. Se determinó que el extracto crudo de las termitas tenía una actividad de amplio espectro contra las bacterias no multidrogo resistentes (MDR), pero era ineficaz contra los tres patógenos MDR: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) y *Acinetobacter baumannii* MDR y cuatro no MDR. Además éstos autores reportan que la actividad antibacteriana es atribuida a moléculas de naturaleza proteica que se encuentra en la hemolinfa y que los antibióticos son producidos por la termita y no por la microbiota del intestino ⁽⁶⁰⁾.

1.2. Bases Teóricas

1.2.1. De los especímenes en estudio

Clasificación Taxonómica del género *Solenopsis* “hormiga roja”

REINO	: Animalia
FILO	: Arthropoda
CLASE	: Insecta
ORDEN	: Hymenoptera
FAMILIA	: Formicidae
SUBFAMILIA	: Myrmicinae
GÉNERO	: <i>Solenopsis</i>

Descripción:

Las hormigas del género *Solenopsis*, llamadas comúnmente candelillas u hormigas de fuego, se distribuyen ampliamente por todo el mundo con más de 285 especies, llegando a considerarse una verdadera plaga en muchas partes ⁽²⁰⁾ ⁽²¹⁾ ⁽²²⁾. Se alimentan principalmente de plantas tiernas, semillas e insectos muertos, y pueden atacar animales pequeños hasta matarlos, llegando a producir secreciones de las glándulas metapleurales y glándulas mandibulares, además de emplear una ponzoña ubicada en el abdomen (de la que se han reportado actividades antibacterianas) que inyecta un veneno rico en alcaloides piperidínicos típico del

género^{(23) (24) (25) (28)}, la cual produce un dolor quemante y múltiples reacciones anafilácticas en humanos ^{(26) (27)}.

Clasificación Taxonómica del género *Nasutitermes* “termita”

REINO : Animalia
FILO : Arthropoda
CLASE : Insecta
ORDEN : Isoptera
FAMILIA : Termitidae
SUBFAMILIA : Nasutitermitinae
GÉNERO : *Nasutitermes*

Descripción:

A nivel mundial, se han registrado 244 especies de termitas del género *Nasutitermes*, de los cuales 74 se encuentran en el Neotrópico ⁽²⁹⁾, construyen nidos conspicuos con forma de globos sobre los árboles y unidos al suelo por galerías cubiertas ⁽³⁰⁾. Algunas especies pueden construir nidos en forma de montículos por encima del nivel del suelo, los cuales se encuentran en gran abundancia en regiones de Venezuela como en la Gran Sabana ⁽³¹⁾. Los nidos arbóreos crecen de manera radial, siendo los de mayor tamaño aquellos construidos por *N. acajutlae* y *N. nigriceps*, con unas dimensiones máximas de 2 metros de alto y 1 metro de ancho ⁽³²⁾.

Los soldados del género se caracterizan por presentar una cápsula

cefálica redondeada u ovalada de color variable, sin constricción o con una leve constricción en vista dorsal, con un naso cónico, ancho en la base y de punta fina. Presentan mandíbulas vestigiales y espinas tibiales 2:2:2 ⁽³³⁾.

Las termitas poseen por lo general colores claros, éstos pueden variar según el alimento que estén consumiendo, ya que su aparato digestivo suele traslucirse a través del cuerpo. Su principal alimento es la celulosa, debido a que este compuesto no puede ser digerido y utilizado directamente por el insecto para su desarrollo, en su tubo digestivo presenta una simbiosis, ya sea con protozoos flagelados o con bacterias, dependiendo de la especie de termita ⁽³⁴⁾.

1.2.2. Descripción de *Staphylococcus aureus*

Los estafilococos son células esféricas Gram positivas con un diámetro de 0,5 a 1,5 μm , que se agrupan irregularmente en forma de racimos de uva, no son móviles, ni esporulados, usualmente son catalasa positiva y no capsulados o tienen limitada la formación de cápsula. La mayoría de las especies son anaerobios facultativos, con excepción del *S. saccharolyticus* y *S. aureus* ssp. anaerobius que crecen más rápido bajo condiciones de anaerobiosis; estos organismos excepcionales son también catalasa negativa ⁽³⁵⁾.

Se destaca como un importante patógeno humano, produce infecciones tanto en la comunidad como a nivel hospitalario. En la comunidad, las infecciones por esta bacteria son a menudo agudas, piogénicas y superficiales, aunque también puede

producir, con menor frecuencia, infecciones profundas. A nivel nosocomial es un importante agente de infecciones de herida quirúrgica, de prótesis y otras. También *S. aureus* es causante de una serie de infecciones producidas por toxinas como el síndrome del shock tóxico, la intoxicación alimentaria, puesto que produce enterotoxinas termoestables ⁽³⁶⁾.

Las infecciones causadas por *S. aureus*, no solo dependen de los factores de agresión que este microorganismo posee, sino también de alteraciones en los mecanismos de defensa del huésped. Dentro de los factores predisponentes del huésped tenemos: los defectos de quimiotaxis leucocitaria congénitos o adquiridos, defectos de opsonización por anticuerpos, defectos en la muerte intracelular luego de la fagocitosis, heridas de piel, presencia de cuerpos extraños, infecciones por otros agentes, particularmente virus (influenza), enfermedades crónicas como alcoholismo, falla renal crónica, enfermedades malignas, entre otros. Esta bacteria produce infecciones de dos maneras, una es de forma directa que es por invasión y posterior destrucción tisular local (proceso supurado), o luego de haberse diseminado por vía sanguínea, y la segunda a través de efectos de toxinas ⁽³⁶⁾.

1.2.3. Descripción de *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa, es un bacilo Gram negativo, aerobio con flagelo polar, crece con facilidad en los medios de cultivos y produce, en ocasiones, un olor dulzón, o de uvas. Se desarrolla a

temperatura entre 10°C a 42°C, aunque su temperatura óptima de crecimiento es de 35°C a 37°C. Algunas cepas producen hemólisis. Las mismas emiten pigmentos de fenazina en agar nutritivo, después de 24 horas de incubación a 37°C y posteriormente a temperatura ambiente; los mismos pueden ser azul (piocianina), amarillo verdoso (pioverdina), rojo (piorrubina) y negro (piomelanina). Existe, aproximadamente, un 10% de *P. aeruginosa* que son apigmentadas ⁽³⁷⁾.

Las cepas de las especies de *Pseudomonas* son frecuentemente resistentes a antibióticos, desinfectantes, detergentes, metales pesados, y solventes orgánicos ⁽³⁸⁾. Posee además una compleja membrana externa, típica de las bacterias Gram negativas, que contiene una gran selección de proteínas de membrana externa con funciones esenciales para el crecimiento y metabolismo celular. Esta estructura limita enormemente el paso de nutrientes y de otros componentes como los antimicrobianos y le confiere una gran capacidad para defenderse ⁽³⁹⁾.

En cuanto a su patogenicia, *P. aeruginosa* ataca principalmente la piel y las mucosas especialmente cuando han sufrido algún traumatismo como quemaduras, infecta catéteres intravenosos y sondas urinarias; además, ataca a pacientes inmunosuprimidos por drogas (quimioterapia del cáncer) o por otras causas que se acompañan de neutropenia. Las meninges se infectan cuando al tomar la muestra del LCR, se introduce al microorganismo con la

aguja. En el tejido infectado (piel o mucosas traumatizadas, etc.) la bacteria coloniza y de allí se disemina por vía hematológica produciendo sepsis con las manifestaciones propias de la endotoxina (fiebre, oliguria, leucopenia y luego leucocitosis, coagulación intravascular diseminada (CID), insuficiencia respiratoria, hipotensión, choque y muerte). Las toxinas y enzimas excretadas por la *P. aeruginosa* producen necrosis de los tejidos (40).

1.3. Definición de Términos Básicos

- ❖ Insecto: Animal invertebrado, del filo arthropoda que se caracteriza por presentar un par de antenas, tres pares de patas y dos pares de alas (los cuales pueden reducirse o modificarse).
- ❖ Hormiga: Insectos sociales pertenecientes al orden de los himenópteros, junto con las abejas y avispas. Se caracterizan por la forma de codo que presentan sus antenas.
- ❖ Termita: Insecto social perteneciente a la familia de los termitidos, se caracteriza por ser degradador de la madera y sus derivados.
- ❖ Bacteria: Microorganismo procariota que presenta un tamaño de unos pocos micrómetros y diversas formas, incluyendo esferas (cocos), barras (bacilos), filamentos curvados (vibrios) y

helicoidales (espirilos y espiroquetas).

- ❖ Actividad antagónica: Es la capacidad que presenta un microorganismo para inhibir el crecimiento de otros microorganismos.
- ❖ Medio de cultivo: Es una solución o sustrato que contiene nutrientes y otros componentes que crean condiciones necesarias para el crecimiento de microorganismos.
- ❖ Agar: Es una sustancia polisacárida que se obtiene a partir de ciertas algas, se disuelve en agua a altas temperaturas y luego se enfría, adquiriendo una consistencia gelatinosa. Se utiliza para cultivar diferentes microorganismos.
- ❖ Extracto: Es una sustancia obtenida por extracción o trituración de una parte de una materia prima.
- ❖ Colonia: Es la agrupación de un conjunto de microorganismos de un mismo tipo.
- ❖ Cepa: Es una población de microorganismos de una sola especie que comparten al menos una característica o variante genética.
- ❖ Halo de inhibición: Es la zona alrededor del antibiótico a utilizarse en un antibiograma en la cual no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con la bacteria. Conociendo de esta manera el nivel de eficacia que presenta el antibiótico.

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1. Formulación de la hipótesis

H₀= Existe actividad antagónica de las hormigas del género *Solenopsis* (Formicidae: Hymenoptera) y termitas del género *Nasutitermes* (Termitidae: Isoptera) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

H_A= No existe actividad antagónica de las hormigas del género *Solenopsis* (Formicidae: Hymenoptera) y termitas del género *Nasutitermes* (Termitidae: Isoptera) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

2.2. Variables y su operacionalización

Tabla 1. Operacionalización de las variables

Variables	Indicador	Índices
Variables Independientes Termitas y hormigas	- Características taxonómicas	- Si - No
Variable Dependiente Actividad antagónica	- Concentración Mínima Inhibitoria - Concentración Bactericida Mínima	- Presencia de halos de inhibición de crecimiento. - Ausencia de halo de inhibición de crecimiento.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño

La investigación fue de tipo experimental descriptivo, aplicada con una metodología cuantitativa y diseño transversal comparativo.

3.2. Diseño muestral

3.2.1. Población

La población estuvo conformada por todas las hormigas del género *Solenopsis* y las termitas del género *Nasutitermes*, presentes en el lugar de muestreo.

3.2.2. Muestra

La muestra estuvo conformada por las hormigas del género *Solenopsis* y las termitas del género *Nasutitermes* utilizadas en la investigación realizada.

3.3. Procedimiento de recolección de datos

3.3.1. Área de estudio

La colecta de las muestras se realizó en 2 lugares diferentes; las

hormigas fueron colectadas en el Fundo “La Casa de Rolo” ubicado en el kilómetro 9,5 de la carretera Iquitos - Nauta, distrito de San Juan Bautista con coordenadas 3° 76' 83" LS y 73° 25' 94" LO, mientras que las termitas fueron colectadas en el arboretum el “Huayo” ubicado en la carretera Zungarocoha – Puerto Almendras, con coordenadas 3° 49' 40" LS y 73° 22' 30" LO, todos ellos pertenecientes a la provincia de Maynas, región Loreto.

3.3.2. Colecta de muestras

Se anotaron las siguientes características: datos del hábitat, tipo de bosque, tipo de substrato en el que se encontraron, clima y temperatura,

Para la colecta de las hormigas se usó cebo de carne de res, con el objetivo de atraer a las hormigas fuera del nido y colectarlos manualmente. Los individuos capturados se colocaron en un táper de plástico previamente rotulado, que contenía algodón empapado en alcohol para la preservación de las hormigas. Posteriormente se llevaron algunos ejemplares al laboratorio de fauna de la UNAP para su identificación.

La colecta de las termitas se realizó mediante la extracción manual de todo el termitero o nido, separándolo del sustrato en el que se encontró; a su vez se realizaron tomas fotográficas de los diferentes ejemplares colectados, con el propósito de conservar las características originales de campo. Posteriormente se llevaron

algunos ejemplares al laboratorio de fauna de la UNAP para su identificación.

3.3.3. Área de procesamiento de las muestras

El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la UNAP (CIRNA – UNAP), ubicado en el Psje. Los Paujiles S/N, AA.HH.

Nuevo San Lorenzo, distrito de San Juan Bautista, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto, con ubicación geográfica en las coordenadas 3°49'40" LS y 72°22'39" LO, con una altitud aproximada de 124.4 m.s.n.m. (www.google/maps.com) ⁽⁵¹⁾. Los especímenes fueron identificados en el laboratorio de Fauna de la UNAP.

3.3.4. Limpieza y pesaje de los insectos

Las termitas fueron extraídas de su termitero y se colocaron en un vaso de precipitado; mientras que, las hormigas fueron introducidas dentro de un frasco en un congelador durante 2 o 3 minutos para poder inmovilizarlas y así limpiarlas del polvo o tierra que presenten. Posteriormente al igual que las termitas, se colocaron en un vaso de precipitado. Las dos muestras fueron pesadas en una balanza analítica, despreciando el peso del vaso.

3.4. Procesamiento de muestra y análisis de muestras

3.4.1. Procesamiento de muestras para evaluar la actividad antagónica

Se realizaron dos ensayos por cada cepa bacteriana para determinar la actividad antagónica de las hormigas del género *Solenopsis* y las termitas del género *Nasutitermes* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

3.4.2. Preparación de la solución madre del extracto de cada insecto

Los insectos fueron separados por especímenes, cada grupo en su respectivo frasco (por un lado las hormigas y por otro las termitas), posteriormente se trituró en un mortero con un pilón hasta formar una pequeña masa (extracto), luego se autoclavó a 121°C durante 15 minutos para que el preparado se encuentre estéril y libre de otros agentes. Posterior a ello se pesó 4000 mg del extracto y se colocó en un vaso de precipitado, añadiendo 4000 µl de agua destilada estéril para la obtención de la solución Stock (1 mg/µl).

3.4.3. Determinación de la capacidad antibacteriana del extracto de los insectos

Para determinar la capacidad antibacteriana de los extractos de las hormigas del género *Solenopsis* y las termitas del género *Nasutitermes* frente a las cepas de *S. aureus* y *P. aeruginosa* se empleó el método de difusión en Agar Müller-Hinton, según Kirby-Bauer modificado, observando la presencia o ausencia de halos de inhibición.

a) Preparación del inóculo

Las cepas bacterianas aisladas en Caldo Tripticasa de Soya (TSB) fueron repicadas en placas con Agar Tripticasa de Soya (TSA) e incubadas a 37 °C por espacio de 18 a 24 h, para obtener cultivos jóvenes.

A continuación, se procedió a preparar las suspensiones bacterianas en suero fisiológico al 0,8 %, ajustándose la turbidez al tubo 0,5 de la escala de Mc Farland (aprox. 1.5×10^8 UFC/ml).

b) Preparación de las placas

Para determinar la sensibilidad se trabajó por duplicado, añadiendo 20 ml de agar Mueller-Hinton en cada placa. Se aplicó el método de difusión en agar, según Kirby-Bauer modificado, el cual consistió en hacer pocillos en el agar con ayuda de un sacabocado de 5 mm de diámetro, posteriormente

se colocó 0.1 ml de la suspensión bacteriana en la superficie de una placa con agar Mueller-Hinton y se diseminó sobre la superficie con la ayuda de un hisopo estéril, dejando secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

c) Prueba de sensibilidad

Para cada pocillo se colocó 50 µL de la solución madre de los respectivos insectos, además de colocar sobre la superficie del agar los discos de antibióticos control, cefepime para *P. aeruginosa* y tetraciclina para *S. aureus*, de modo que estén a una distancia mínima de 25 mm junto con los pocillos para evitar la superposición de las zonas de actividad.

Posteriormente se incubó las placas en posición normal para evitar que el inóculo se derrame, durante 24 horas a 37° C. Al finalizar la incubación se registró la actividad en función a la presencia o ausencia de un halo alrededor de cada pocillo (Figura 1) midiendo el diámetro de cada halo (incluyendo el diámetro del pocillo) con ayuda de un vernier. Los resultados con presencia de halo de inhibición de cada extracto se utilizaron para determinar la Concentración Mínima Inhibidora (CMI).



Figura 1. Presencia de halo de inhibición.

3.4.4. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se preparó cultivos durante 18 h de las bacterias en estudio en Agar Tripticasa de Soya (TSA), luego se realizó una suspensión bacteriana en solución salina estéril hasta alcanzar una turbidez equivalente al estándar 0.5 de la escala de McFarland (aproximadamente 1.5×10^8 UFC/ml). Posteriormente, se hizo una dilución al 1/100 (aproximadamente 1.5×10^6 UFC/ml) transfiriendo 100 μ l (0.1 ml) de la suspensión bacteriana a 9.9 ml de CTS.

Se tuvo listo 10 tubos con 1 ml de Caldo Tripticasa de Soya (CTS) para cada prueba (tubo N° 1 al tubo N° 10). Para ello se preparó una solución madre de cada extracto por insecto a una concentración de 500 mg/ml.

A continuación, se añadió 1 ml de la solución madre del extracto del insecto al tubo N° 1 con Caldo Tripticasa de Soya (CTS) (concentración del extracto en este tubo es de 250 mg/ml), fue mezclado bien con la ayuda de un vórtex. A partir del cual se

prepararon diluciones dobles seriadas, para lo cual se tomó 1 ml, transfiriéndolo al tubo N° 2 (concentración del extracto = 125 mg/ml), después de mezclar bien el contenido, se transfirió 1 ml al tercer tubo, del cual la concentración del extracto fue 62.5 mg/ml y así sucesivamente hasta el tubo N° 10, del cual se tomó y descartó 1 ml. De este modo, se obtuvo diluciones dobles seriadas de cada extracto desde 250 mg/ml hasta 0.49 mg/ml.

Finalmente se añadió a cada tubo con el extracto (tubo N° 1 al N° 10), 1 ml del inóculo preparado de la cepa que contenía aproximadamente 1.5×10^8 UFC/ml, esto supone un inóculo final aproximado de 7.5×10^5 UFC/ml y las concentraciones finales de los extractos fueron desde 125 mg/ml hasta 0.24 mg/ml. Los tubos fueron incubados a 37 °C durante 18 horas y luego se procedió a calcular la CMI, considerándola como la concentración correspondiente al tubo con menor concentración del extracto donde no hubo desarrollo bacteriano, demostrado por la ausencia de turbidez (Anexo 1).

3.4.5. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

A partir de cada uno de los tubos sin desarrollo bacteriano de la CMI, se inoculó 0.1 ml en placas con agar tripticasa de soya (TSA) y con un asa de vidrio se dispersó por toda la superficie del agar en tres direcciones, incubándolas a 37 °C durante 18 horas. Para

determinar la CMB se contó el número de colonias en las placas, considerándose dicha CMB como la menor concentración del extracto cuyo subcultivo produce un número de colonias menor al 0.1% del inóculo original (7.5×10^5 UFC/ml), es decir, un número menor a 750 UFC/ml, y como se inoculó la décima parte de 1 ml (0.1 ml), considerándose la CBM al subcultivo que produjera menos de 75 colonias (Anexo 1).

3.4.6. Análisis de Datos

Los resultados fueron evaluados mediante estadística descriptiva, realizando el análisis mediante el programa estadístico EXCEL 2013.

3.5. Aspectos éticos

Para el trabajo con animales en laboratorio se tuvo que tener en cuenta que los especímenes en uso no se encontraran en peligro de extinción (CITES) o en la lista roja de la UICN, además se tuvo en cuenta que las cantidades colectadas de hormigas y termitas no afectaran el hábitat donde se desarrollan.

Por otro lado, dentro del laboratorio se tomaron las precauciones necesarias relacionadas con la protección del personal de laboratorio y de uno mismo siguiendo lo establecido en el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS, siendo necesarias

para cuidar nuestra integridad y no causarnos daño, ni una posible contaminación al laboratorio.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

Los resultados obtenidos mediante la aplicación de los extractos de hormigas del género *Solenopsis* y termitas del género *Nasutitermes* frente a diez cepas de *S. aureus* y *P. aeruginosa* fueron los siguientes:

4.1. Actividad antibacteriana del extracto de las hormigas del género *Solenopsis* y las termitas del género *Nasutitermes* frente a cepas de *S. aureus* y *P. aeruginosa*

Los dos extractos en estudio (*Solenopsis* y *Nasutitermes*) presentaron actividad antibacteriana. De las 10 cepas de *P. aeruginosa*, el 80% dió resultado positivo hacia el extracto de *Nasutitermes*, mientras que para el extracto de *Solenopsis* no se registraron presencia de halo de inhibición (0%); por otro lado, de las 10 cepas de *S. aureus*, el 90% dió resultado positivo hacia el extracto de *Nasutitermes*, mientras que para el extracto de *Solenopsis* se registró que el 80 % presentaba halo de inhibición (Tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje (%) de la sensibilidad de las cepas bacterianas a los extractos de *Nasutitermes* y *Solenopsis*.

Actividad Antibacteriana de los extractos de <i>Nasutitermes</i> y <i>Solenopsis</i> frente a cepas bacterianas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>					
ESPECIES BACTERIANAS	N° de cepas estudiadas	Producción de Actividad Antibacteriana			
		<i>Nasutitermes</i>		<i>Solenopsis</i>	
		N°	%	N°	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	8	80	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	9	90	8	80

Durante la medición de los halos de inhibición de los extractos, se obtuvo que para las cepas de *S. aureus* se alcanzó un promedio de 18.5 mm de diámetro, tanto para *Nasutitermes* como para el disco control (Tetraciclina) y de 12.3 mm de diámetro para *Solenopsis*; por otro lado, para *P. aeruginosa* se obtuvo un promedio casi similar en *Nasutitermes* como para el disco control (Cefepime), 10.9 mm

y 11 mm respectivamente, mientras que para *Solenopsis* no se registraron halos (Gráfico 1).

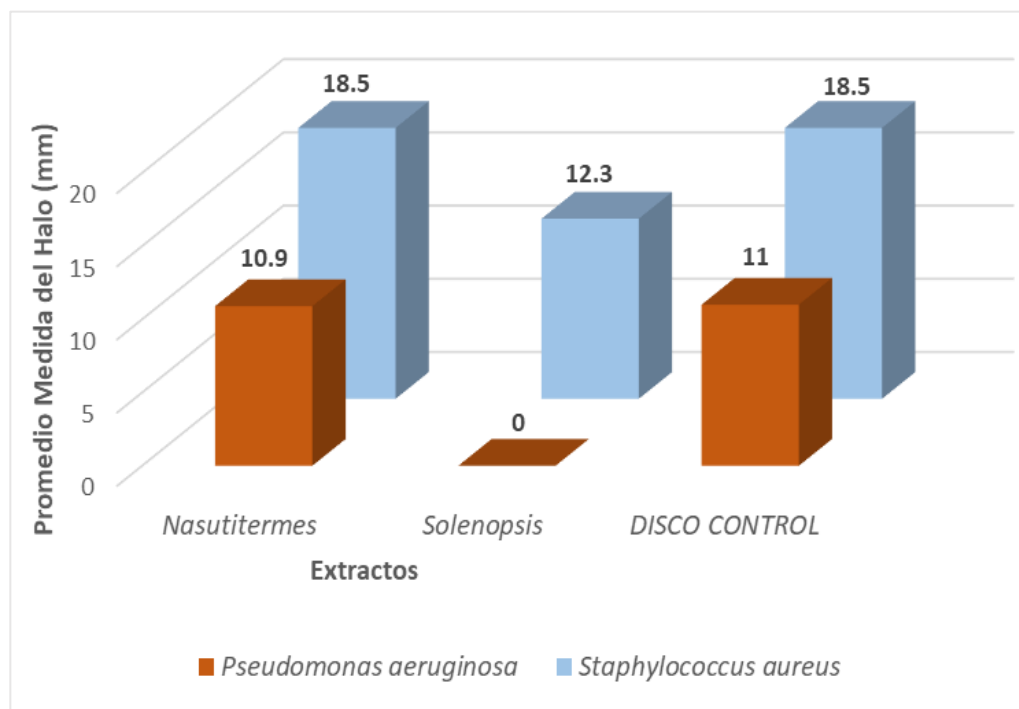


Gráfico 1. Promedio de medida de los halos obtenidos por los discos control con extractos de *Solenopsis* y *Nasutitermes* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Se observó que sólo el extracto de *Nasutitermes* presentó sensibilidad a *P. aeruginosa* con presencia de halo en 8 cepas bacterianas, obteniéndose una medida máxima de 18 mm de diámetro del halo y un mínimo de 11 mm de diámetro (Gráfico 2). Para *S. aureus* se obtuvo que hubo sensibilidad hacia los 2 extractos, *Nasutitermes* y *Solenopsis*, obteniéndose un

valor máximo de 25 mm de diámetro del halo y un mínimo de 12 mm de diámetro respectivamente (Gráfico 3). Se despreció el 0 porque no hubo presencia de halo de inhibición.

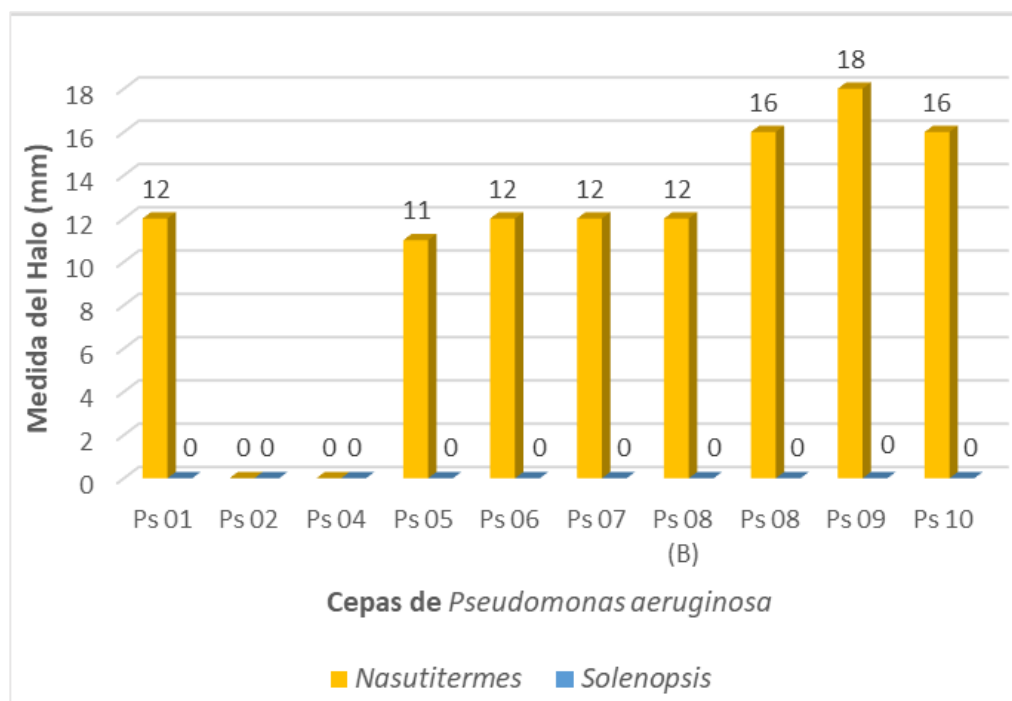


Gráfico 2. Sensibilidad de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* frente a los extractos de *Nasutitermes* y *Solenopsis*

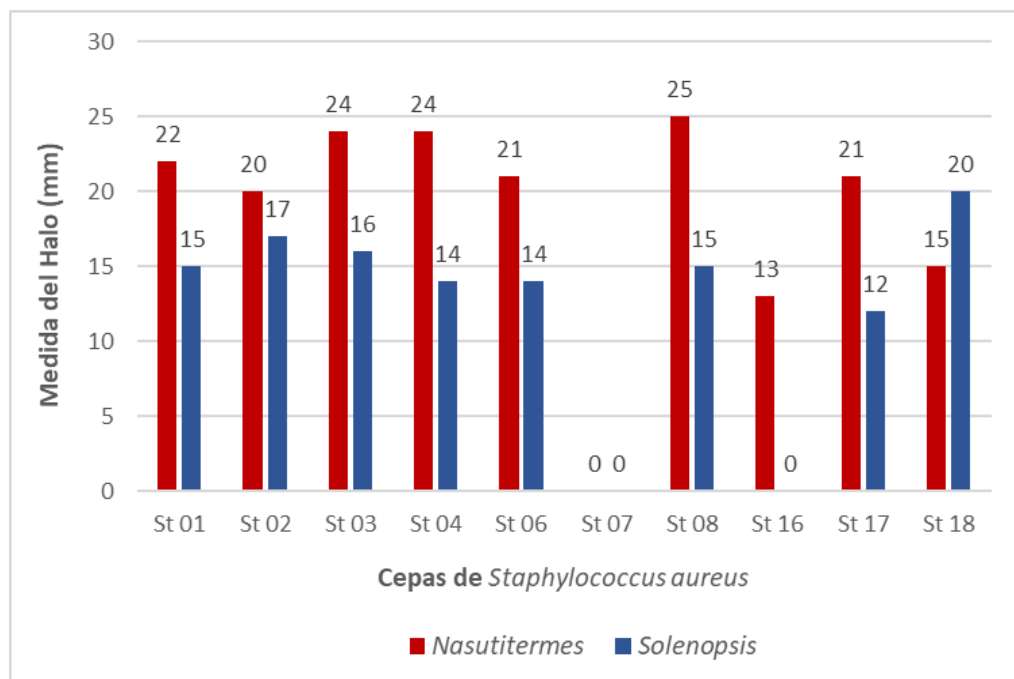


Gráfico 3. Sensibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* frente a los extractos de *Nasutitermes* y *Solenopsis*

4.2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto de las hormigas del género *Solenopsis* y las termitas del género *Nasutitermes*

Se utilizaron 8 cepas de *P. aeruginosa* y 9 cepas de *S. aureus*, puesto que anteriormente en ellas se había evidenciado la sensibilidad a dichos extractos.

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para el extracto de *Nasutitermes* en *P. aeruginosa* sólo tuvo actividad en 4 cepas, 125 mg/ml en 2 cepas, 0.976 mg/ml y 0.488 mg/ml en una cepa respectivamente. En cuanto a las cepas de *S. aureus*, se observó que la CMI tuvo mayor inhibición en *Solenopsis*

que en *Nasutitermes*, 8 y 5 cepas respectivamente, donde se obtuvieron unos valores que fluctuaron entre 15.625 mg/ml y 0.488 mg/ml para *Solenopsis* y entre 125 mg/ml a 7.8125 mg/ml para *Nasutitermes* (Tabla 3).

Tabla 3. Concentración Mínima Inhibitoria de los extractos de *Nasutitermes* y *Solenopsis* frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

CMI de los extractos (mg/ml)				
	CEPAS	<i>Nassutitermes</i>	<i>Solenopsis</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ps 01	S.A	-	
	Ps 05	0.976	-	
	Ps 06	0.488	-	
	Ps 07	S.A	-	
	Ps 08 (B)	S.A	-	
	Ps 08	125	-	
	Ps 09	S.A	-	
	Ps 10	125	-	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	St 01	125	3.9
		St 02	S.A	7.8125
St 03		125	3.9	
St 04		125	7.8125	
St 06		125	15.625	
St 08		7.8125	0.488	
St 16		S.A	-	
St 17		S.A	7.8125	
St 18		S.A	1.953	

Ps: Cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, **St:** Cepa de *Staphylococcus aureus*, **S.A:** Sin actividad

4.3. Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto de las hormigas del género *Solenopsis* y las termitas del género *Nasutitermes*

Para la Concentración Mínima Bactericida (CMB) se utilizaron aquellos tubos donde hubo presencia de actividad en la CMI.

En cuanto a los extractos de *Nasutitermes* y *Solenopsis* se encontraron resultados favorables, puesto que para la mayoría de concentraciones de *P. aeruginosa* y *S. aureus* hubo crecimiento menor a 75 colonias, encontrándose mayor actividad frente a las cepas bacterianas, los cuales se detallan con las abreviaturas C.A. que significa con actividad (Tabla 4).

Tabla 4. Concentración Mínima Bactericida de los extractos de *Nasutitermes* y *Solenopsis* frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*

CMB de los extractos			
	CEPA	<i>Nassutiterm</i>	<i>Solenops</i>
	S	<i>es</i>	<i>is</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ps 05	C.A	-
	Ps 06	C.A	-
	Ps 08	C.A	-
	Ps 10	S.A	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	St 01	C.A	C.A
	St 02	-	S.A
	St 03	S.A	S.A
	St 04	S.A	C.A
	St 06	C.A	S.A
	St 08	C.A	C.A
	St 17	-	C.A
	St 18	-	C.A

Ps: Cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, **St:** Cepa de *Staphylococcus aureus*, **S.A:** Sin actividad, **C.A:** Con Actividad

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

El presente estudio demuestra de manera general que los extractos de ambos géneros de insectos estudiados tienen actividad antagónica sobre las bacterias, en EE.UU Zeng *et al.* ⁽⁶⁰⁾ estudiaron a *Reticulitermes flavipes* un tipo de termita subterránea, aquellos autores mencionan que su efecto es de amplio espectro sobre bacterias no multidrogo resistentes pero nulo con los multidrogo resistentes, resultados que no coincide con éste estudio, ya que *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* mostraron sensibilidad al extracto de *Nasutitermes* por encima del 80% pese a ser resistentes a muchos antibióticos, sin embargo, es importante saber que ambas especies estudiadas son distintas y se encuentran en latitudes diferentes. En cuanto al extracto de *Solenopsis* sólo mostró actividad sobre *Staphylococcus aureus* y no sobre *Pseudomonas aeruginosa* un resultado que coincide parcialmente con Matiz & Osorio ⁽⁵⁰⁾ quienes evaluaron en Colombia dos especies de hormigas, *Crematogaster* y también *Solenopsis*, ellos demuestran efectividad del extracto en ambas bacterias antes mencionadas, sin embargo, es preciso mencionar que el presente estudio no consideró un tipo de extracto etanólico como hicieron los autores en mención sino que aquí se extrajo mediante trituración y agua como se menciona en el método, motivo por lo que los resultados pueden diferir. Así mismo, Zeng *et al.* ⁽⁶⁰⁾ reconocen a los agentes antimicrobianos de las termitas de

naturaleza proteica, en éste estudio no se corroboró dicha información debido a que no formaron parte de los objetivos. Sin embargo, la mayoría de agentes con algún tipo de actividad biológica reportadas son lipoproteicas ^{(47) (48) (53)}.

Para el extracto de *Nasutitermes* no se reportan estudios que muestren valores de halos de inhibición, para de esta forma establecer una comparación de nuestros resultados, sin embargo, acá se obtuvo una máxima y mínima medida del halo de 25 mm para *S. aureus* y 18 mm en *P. aeruginosa* respectivamente, evidenciándose una gran actividad antibacteriana, esto debido a que los compuesto de los extractos obtenidos en nuestro estudio desarrollaron mejor algunas proteínas antibacterianas según Yamakawa ⁽⁵⁵⁾. De igual manera, el extracto de *Solenopsis* muestra halos de inhibición en cepas de *S. aureus* de 12.3 mm y ninguna en *P. aeruginosa*, Matiz & Osorio ⁽⁵⁰⁾ reportan halos de inhibición en su mayor y menor concentración ensayada, obteniendo valores de 14,7 mm y 11,27 mm respectivamente para *S. aureus*, resultados bastantes similares a lo obtenido en este estudio, así mismo, muestran halos de inhibición para *P. aeruginosa* de 11,37 mm y 8,50 mm, valores que no se pudo obtener ya que no se observó actividad antagónica en ésta bacteria, de acuerdo a Hall & Mah ⁽⁵⁶⁾ este mecanismo de resistencia puede estar ligado a la creación de una mayor capacidad de desarrollar diversos sistemas de protección, como la de crear biofilms.

Por otro lado, la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se pudo observar que en la mayoría de tubos en los que se había inoculado parte de las colonias de las placas donde se midió la susceptibilidad bacteriana, no presentaron turbidez; pues se inhibió el crecimiento visible de microorganismos después de aproximadamente 24 horas de incubación a 37°C ⁽⁵⁸⁾, obteniendo variabilidad de concentraciones para cada cepa inoculada. Con lo cual, para el extracto de *Nasutitermes* en *P. aeruginosa* resultó ser la más baja de las concentraciones ensayadas de 0.488 mg/ml, en cambio para *S. aureus* resultó ser de 7.8125 mg/ml un valor más alto que se entiende radica en la biología de cada especie de bacteria según Madigan *et al.* ⁽⁵⁷⁾, caso contrario para el extracto de *Solenopsis*, donde no se obtuvo datos para *P. aeruginosa* ya que no mostró actividad en las placas, mientras que para *S. aureus* mostró una CMI de 0.488 mg/ml, también la concentración más baja, lo cual entendemos que el extracto de *Solenopsis* es más efectivo sobre *S. aureus* que el extracto de *Nasutitermes*, en general la actividad antibacteriana del extracto de *Nasutitermes* y *Solenopsis* fueron muy eficaces, ya que actúa en gran medida y a bajas concentraciones, así mismo, no se reportaron literaturas similares al respecto.

Finalmente se pudo observar que de las placas que se utilizaron para la Concentración Mínima Bactericida (CMB), tanto para *Nasutitermes* como para *Solenopsis*, la mayoría presentó una

reducción del crecimiento del 99,9% de colonias o mayor en comparación con el inóculo inicial ⁽⁵⁹⁾, es decir, hubo crecimiento menor a 75 colonias, demostrando así que estos extractos tienen una acción eficaz en cuanto a la actividad antagónica.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

Los extractos de *Nasutitermes* y *Solenopsis* presentaron una buena actividad antagónica frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, puesto que la medida de los halos de inhibición fueron similares o mayores a las medidas de los discos control de los antibióticos utilizados.

El extracto de *Nasutitermes* presentó una mejor sensibilidad frente al extracto de *Solenopsis*, ya que se inhibió en mayoría el crecimiento de las 2 especies de bacterias en estudio.

La Concentración Mínima Inhibitoria tuvo mejor eficacia en el extracto de *Solenopsis* frente a las cepas de *S. aureus*, pues se obtuvieron las concentraciones más bajas, siendo la menor 0.488 mg/ml.

El extracto de *Solenopsis* mostró mejor Concentración Mínima Bactericida que el extracto de *Nasutitermes* frente a las cepas de *S. aureus*, puesto que en la mayoría de las placas no hubo crecimiento mayor a 75 colonias.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

Realizar mayores investigaciones sobre la actividad antagónica de insectos, sobre todo de los insectos sociales, puesto que son de gran importancia para la medicina tradicional.

Continuar con estudios a nivel molecular sobre estos insectos, para identificar qué proteínas antibacterianas se encuentran en ellas.

Realizar estudios sobre la actividad antagónica de estos insectos sobre otras especies de bacterias, ya que esto permitirá una amplia posibilidad de curar diversas enfermedades.

Desarrollar un plan de manejo para la utilización de estos insectos y no afectar sus poblaciones.

CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Scudder GG. The importance of insects. In Footitt RG, Adle PH, editors. Insect biodiversity: science and society. 1st ed. Chichester: Blackwell Publishing Ltd; 2009. 623.
2. Raubenheimer D, Rothman JM. Nutritional ecology of entomophagy in humans and other primates. Annual Review of Entomology. 2013; 58(7): 141-160.
3. Ramos-Elorduy J. Anthro-entomophagy: Cultures, evolution and sustainability. Entomological Research. 2009; 39(5): 271-288.
4. Dossey AT. Insects and their chemical weaponry: New potential for drug discovery. Natural Product Reports. 2010; 27(12): 1737-1757.
5. Ratcliffe NA, Mello C, Garcia ES, Butt TM, Azambuja P. Insect natural products and processes: New treatments for human disease. Insect Biochemistry and Molecular Biology. 2011;41:747-769.
6. Srivastava SK, Babu N, Pandey H. Traditional insect bioprospecting - As human food. Indian Journal of Traditional Knowledge. 2009;8(4):485-494.
7. Delgado C, Couturier G, Mathews P, Mejia K. Producción y comercialización de la larva de *Rhynchophorus palmarum* (Coleóptera: Dryophtoridae) en la Amazonia peruana. Boletín Sociedad Entomológica Aragonasa. 2008.
8. Benavides L, Aldama AL, Vázquez HJ. Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales

- de tercer nivel de la Ciudad de México. *Salud Pública Mex.* May-Jun 2005;47(3):219-226.
9. Bamberger DM, Boyd SE. Management of *Staphylococcus aureus* infections, *Am. Fam. Physician.* 2005 Dec 15;72(12):2474-2481.
 10. Mendoza CA, Velásquez R, Mercado L, Ballón J, Maguiña C. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* sensible, con sensibilidad "borderline" y resistentes a la meticilina. *Rev. Med. Hered.* Oct 2003;14:181-185.
 11. Velazco E, Nieves B, Araque M, Calderas Z. Epidemiología de infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en una unidad de alto riesgo neonatal. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2002;20(7):321.
 12. Delgado G, García AD, Rodríguez F, Ibarra A, Casal M. Sensibilidad y resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los antimicrobianos. *Rev. Esp. Quimioter.* Jun 2007;20(2):230-233.
 13. Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our worst nightmare?. *Clin. Infect. Dis.* 2002 Mar 1;34(5):634-40.
 14. Helson JE, Capson TL, Johs T, Aiello A, Windsor DM. Ecological and evolutionary bioprospecting: Using aposematic insects as guides to rainforest plants active against disease. *Frontiers in Ecology and The Environment.* 2009;7(3):130-134.
 15. Bulet P, Hetru C, Dimarcq JL, Hoffmann D. Antimicrobial peptides in insects; structure and function. *Developmental and Comparative Immunology.* 1999;23(4-5):329-344.

16. Chernysh SA, Kim SI, Bekker G, Pleskach VA, Filatova NA, Anikin VB, et al. Antiviral and antitumor peptides from insects. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2002; 99(20): 12628-12632.
17. Raghavendra R, Neelagund SE. Biochemical characterization of novel bioactive protein from silkworm (*Bombyx mori* L) fecal matter. Applied Biochemistry and Biotechnology. 2012;167(5):1002-1014.
18. Koburova KL, Michailova SG, Shkenderov SV. Further investigation on the anti-inflammatory properties of adolapin-bee venom polypeptide. Acta Physiologica et Pharmacologica Bulgarica. 1985;11:50-55.
19. Trowell S. Drugs from bugs: the promising of pharmacological entomology. The Futurist [Revista on-line] Jan-Feb 2003 [citado 20 Mar 2017]; Disponible en: <http://www.wfs.org/futurarticlejf03.htm>.
20. Bolton B, Alpert G, Ward PS, Naskrecki P. "Bolton's catalogue of ants of the world, 1758-2005". Harvard University Press. Boston 2006.
21. Sharaf MR, Aldawood AS. First occurrence of *Solenopsis* Westwood 1840 (Hymenoptera: Formicidae), in the kingdom of Saudi Arabia, with description of a new species *S. saudiensis* n. sp. Ann. Soc. Entomol. Fr. 2011;47:474.
22. Oi DH, Valles SM. Fire ant control with entomopathogens in the usa. En "Use of microbes for control and eradication of invasive arthropods", editado por A.E. Hajek, T. Glare, M. O'Callaghan, Springer, New York, 2009.

23. Blum MS, Brand JM, Duffield RM, Snelling RR. Chemistry of the venom of *Solenopsis aurea* (Hymenoptera: Formicidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1973;66:702.
24. Chen L, Fadamiro HY. Re-investigation of venom chemistry of *Solenopsis* fire ants. II. Identification of novel alkaloids in *S. invicta*. *Toxicon.* 2009;53:479–486.
25. Chen L, Fadamiro HY, Re-investigation of venom chemistry of *Solenopsis* fire ants. I. Identification of novel alkaloids in *S. richteri*. *Toxicon.* 2009;53:469.
26. La Shell MS, Calabria CW, Quinn JM. Imported fire ant field reaction and immunotherapy safety characteristics: the IFACS study. *J Allergy Clin Immunol.* Jun 2010;125(6):1294-1299.
27. Solley GO, Vanderwoude C, Knight GK. Anaphylaxis due to Red Imported Fire Ant sting. *Med. J. Aust.* 2002 Jun 3;176(11):521-3.
28. Jouvenaz DP, Blum MS, MacConnell JG. Antibacterial activity of venom alkaloids from the imported fire ant, *Solenopsis invicta* Buren. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1972 Oct;2(4):291–293.
29. Vargas A, Sánchez O, Serna F. Lista de géneros de Termitidae (Insecta: Isoptera) de Colombia. *Biota Colombiana.* 2005;6(2):181- 190.
30. Pearce M. Termites. *Biology and pest management.* CAB international. New York; 1997.
31. Andara C. Distribution of *Nasutitermes* (Insecta: Isoptera) mounds in the Parupa region, Gran Sabana, Bolivar State, Venezuela. *Entomological Society of America.* 2007;97.

32. Thorne B, Collins M, Bjorndal K. Architecture and nutrient analysis of arboreal carton nests of two neotropical *Nasutitermes* species (Isoptera: Termitidae), with notes on embedded nodules. Fla. Entomol. 1996;79(1):27-37.
33. Constantino R. Chave ilustrada identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. Pap. Avulsos Zool. 1999;40(25):387-448.
34. Camousseight A. Las termitas y su presencia en Chile. Santiago, Chile. CONAF (Corporación Nacional Forestal). 1999;(37):8.
35. Murray RP, Rosenthal KS, Pfaller AM. Microbiología Médica. Capítulo 21: *Staphylococcus* y cocos Grampositivos relacionados. 6a Ed. España: Elsevier Editores; 2010. p. 209-224.
36. Seija V. *Staphylococcus aureus*. Etiopatogenia microbiológica, Género *Staphylococcus*; 2013. p. 257.
37. Llop HA, Valdés VM, Zuazo SJ. Microbiología y Parasitología Médicas. La Habana: Ciencias Médicas Editores; 2001. p. 303.
38. Ruiz L. *Pseudomonas aeruginosa*: Aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos. Tesis Doctoral. Barcelona – España. Universidad de Barcelona. In. Barcelona; 2007. p. 180.
39. Montero M. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente: Aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéutico. Universidad autónoma de Barcelona, Departamento de Medicina; 2012.

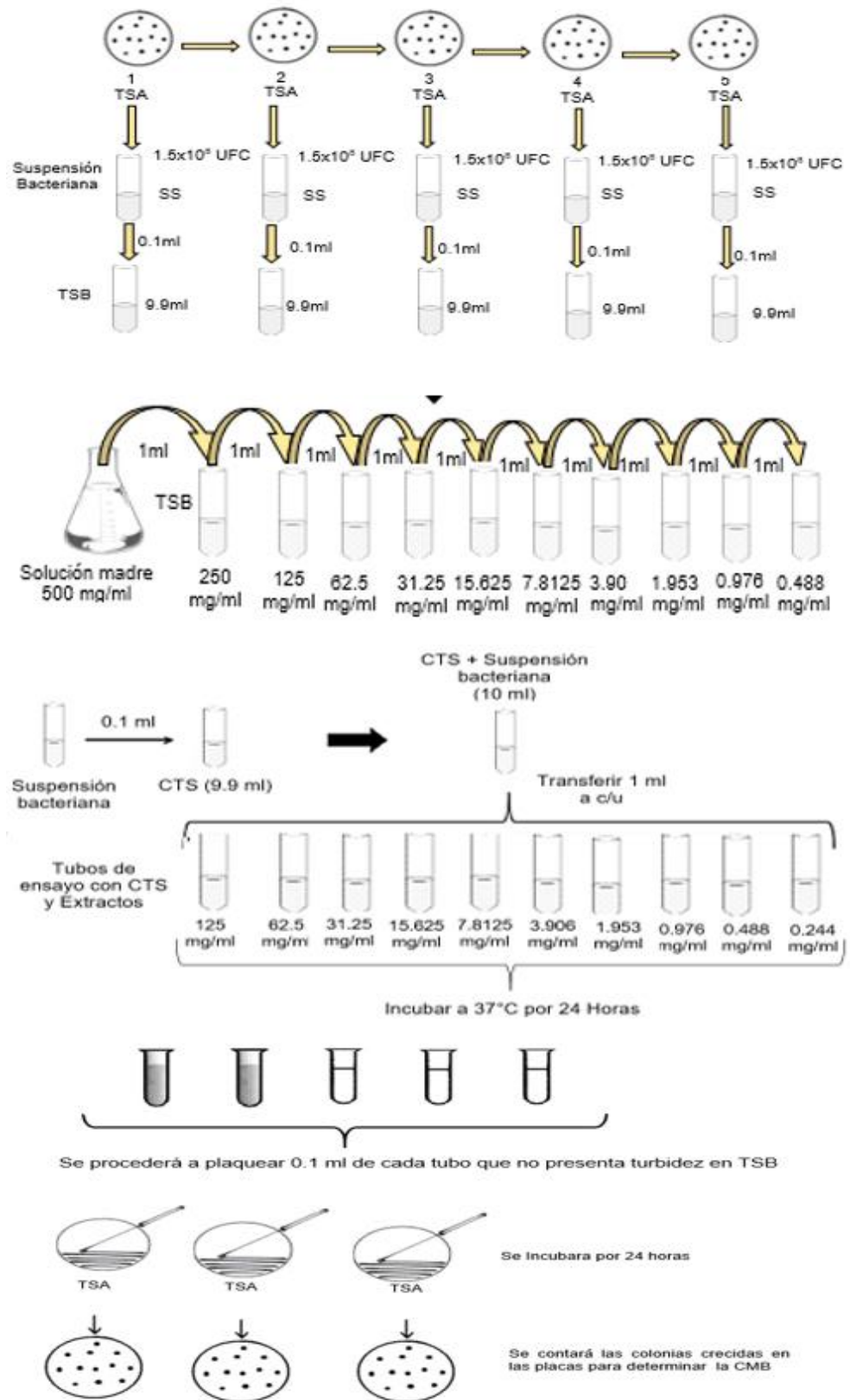
40. Ramírez GG. Apuntes de Microbiología y Bacteriología. Bogota: Unidad de Medicina tropical y enfermedades infecciosas Editores; 2003. p. 112.
41. Ramos-Elorduy J. La etnoentomología actual en México en la alimentación humana, en la medicina tradicional y en la reciclaje y alimentación animal. En: Congreso Nacional de Entomología. Acapulco (México). Sociedad Mexicana de Entomología; 2000. p. 3- 46.
42. Pemberton RW. Insects and other arthropods used as drugs in Korean traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 1999; 65: 207- 216.
43. Groark KP. Taxonomic identity of “hallucinogenic” harvester ant (*Pogonomyrmex californicus*) confirmed. *Journal of Ethnobiology*. 2001; 21(2): 133-144.
44. Lenko K, Papavero N. Insetos no Folclore. 2da ed. São Paulo: FAPESP; 1997.
45. Gusmão LG, Caetano FH, Nakano O, Ultramorphology of the metapleural gland in three species of *Atta* (Hymenoptera, Formicidae). *Iheringia, Ser. Zool.*, Porto Alegre. 2001; 91:33.
46. Vieira AS, Bueno OC, Camargo MI. The functional morphology of the metapleural gland of the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Formicidae: Attini). *Micron*. 2010;41:149.
47. Bulmer MS, Crozier RH. Duplication and diversifying selection among termite antifungal peptides. *Mol Biol Evol*. 2004;21:2256-2264.

48. Bulmer MS, Crozier RH. Variation in positive selection in termite GNBP and relish. *Mol Biol Evol.* 2006;23:317-26.
49. Coutinho HDM, Vasconcellos A, Lima MA, Almehida-Filho GG, Alves RRN. Termite usage associated with antibiotic therapy: enhancement of aminoglycoside antibiotic activity by natural products of *Nasutitermes corniger* (Motschulsky 1855). *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 2009 Sep; 9(35): 1-4
50. Matiz G, Osorio MR. Actividad antibacteriana de extractos de hormigas de los géneros *Crematogaster* y *Solenopsis*. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.* 2013;42(1):42-55.
51. [www. google/maps.com](http://www.google/maps.com).
52. Hastings MD, Queller DC, Eischen F, Strassmann JE. Kin selection, relatedness, and worker control of reproduction in a large-colony epiponine wasp, *Brachygastra mellifica*. *Behav. Ecol.* 1998;9(6):573-581.
53. Dimarcq JL, Hunneyball. Pharma – entomology: When bugs become drugs. *Drug Discov.* 2003 March; 8:107
54. Lara C, Acosta RC. Bacterias celulolíticas aisladas del intestino de termitas (*Nasutitermes nigriceps*) con características probióticas y potencial en la degradación del pasto. *Rev. colomb. biotecnol.* 2013 Jun;15(1):8-16.
55. Yamakawa M. Insect antibacterial proteins: regulatory mechanism of their synthesis and a possibility as new antibiotics. *Journal of Sericultural Science of Japan.* 1998;67(3):163-182.

56. Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacterium. *FEMS Microbiol. Rev.* 2017;41(3):276–301.
57. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Brock. *Biología de los micororganismos*. 10a Ed. España: Pearson-Prentice Hall Editores; 2004.
58. Andrews MJ. Determination of Minimum Inhibitory Concentration. *J Antimicrob Chemother* 2001;48(31):5- 16.
59. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents*. CLSI document M26-A. 1999;19(18).
60. Zeng Y, Hu XP, Suh SJ. Characterization of Antibacterial Activities of Eastern Subterranean Termite, *Reticulitermes flavipes*, against Human Pathogens. *PloS one*. 2016;11(9):1-17.

ANEXOS

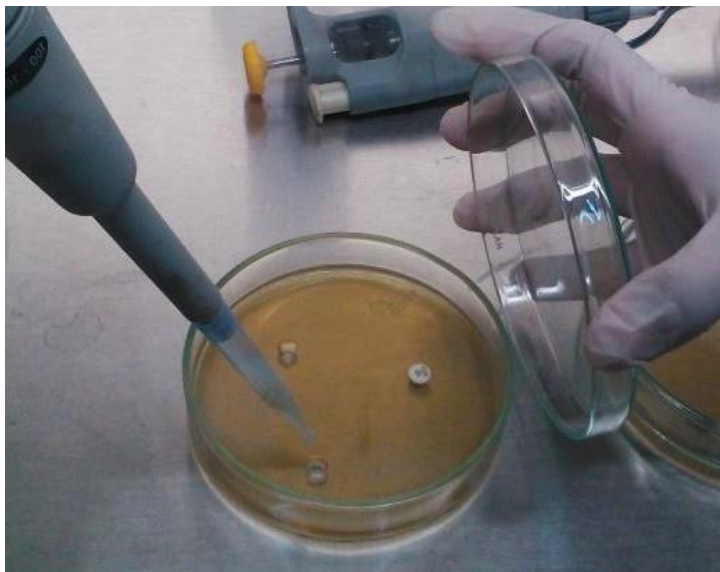
Anexo 1. Flujograma de los ensayos realizados.



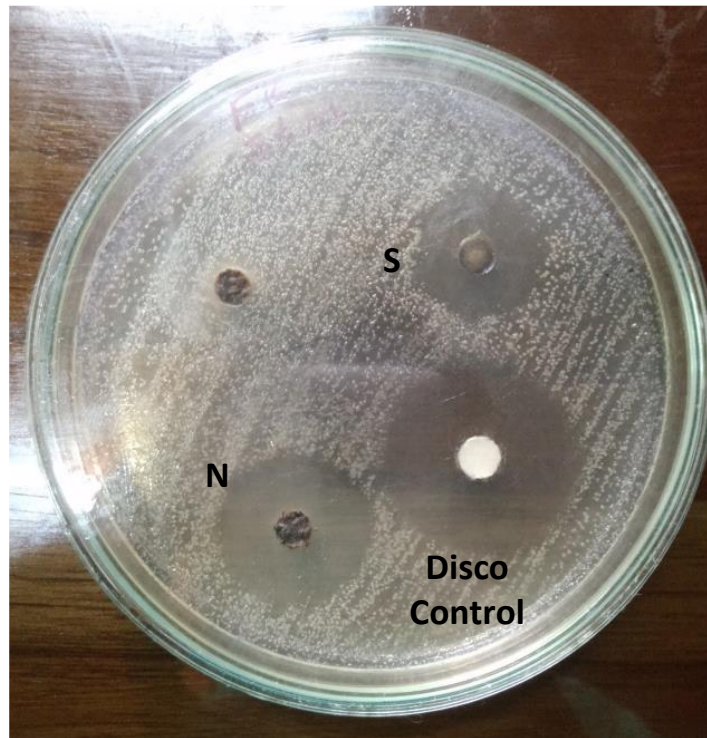
Anexo 2. Inoculación de las cepas bacterianas en Agar Mueller-Hinton para la prueba de sensibilidad.



Anexo 3. Aplicación del extracto en los pocillos para la prueba de sensibilidad.



Anexo 4. Sensibilidad de las cepas bacterianas frente a los extractos de *Nasutitermes* (N) y *Solenopsis* (S)



Anexo 5. Halo de inhibición del extracto de *Nasutitermes* frente a *P. aeruginosa* (Izquierda) y *S. aureus* (Derecha).



Anexo 6. Halo de inhibición del extracto de *Solenopsis* frente a *S. aureus*.



Anexo 7. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto de *Nasutitermes* frente a *P. aeruginosa*.



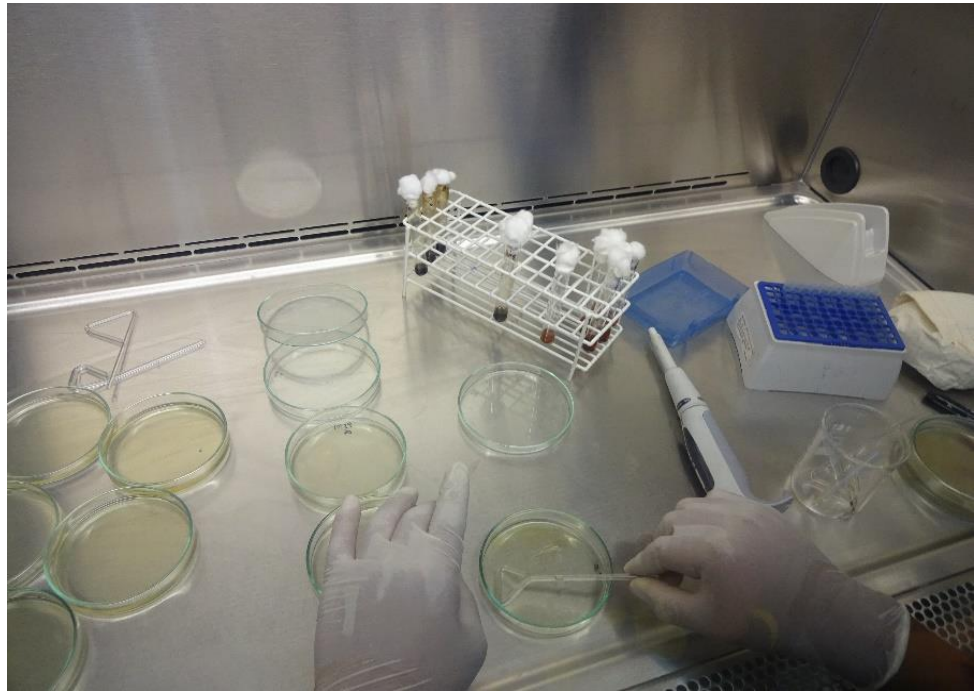
Anexo 8. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto de *Nasutitermes* frente a *S. aureus*.



Anexo 9. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto de *Solenopsis* frente a *S. aureus*



Anexo 10. Diseminación en las placas, de los tubos que no presentaron turbidez en CMI para obtener la CMB.



Anexo 11. Recuento de colonias para determinar la CMB.

