

LA APITOXINA, UN ATENUANTE DE LA “INTELIGENCIA” DE ENTEROBACTERIAS PATÓGENAS PARA CUYES (*Cavia porcellus*)

Vicente Arteaga Cadena^{1*}, Diego Jáuregui Sierra¹, Santiago Mafla Andrade¹

¹Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales, Ibarra, Ecuador

*Autor para correspondencia: varteaga@pucesi.edu.ec

Recibido: 2018/03/28

Aprobado: 2019/05/24

DOI: <https://doi.org/10.26621/XV20.2019.06.A09.PUCESI.2550.6684>

RESUMEN

La presencia de enfermedades enterobacterianas en cobayos (*Cavia porcellus*), causadas por *Escherichia coli*, *Yersinia pseudotuberculosis* y *Salmonella typhimorium*, así como el uso excesivo de antibióticos y otros medicamentos que dejan acciones residuales en la carne de los animales, constituyen los elementos básicos del problema que originó esta investigación, desarrollada en tres fases: a) determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de la apitoxina para enterobacterias de cobayos en fase de engorde, b) acción de la apitoxina en el tratamiento de cuyes clínicamente enfermos por enterobacterias, y c) soluciones de apitoxina como preventivo al ataque de enterobacterias en cuyes. Por tanto, el objetivo de esta tercera fase, motivo de este artículo, consistió en determinar los efectos de diluciones simultáneas de 0.7 y 0.8 mg/l-10 de apitoxina en cultivos de enterobacterias, para atenuar su virulencia o inteligencia patógena, destacándose que estas concentraciones son el resultado de las fases a y b de la investigación, relacionada con el uso de apitoxina en soluciones frente a enterobacterias patógenas para cuyes. Luego del desarrollo del ensayo en 35 cuyes de 3 meses de edad, los resultados confirmaron los valores in vitro de las CMIs de 0.7 y 0.8 mg/l-10 con 10 diluciones simultáneas, para protecciones inmunológicas para las tres enterobacterias, evaluadas las respuestas mediante organometría linfóide de timo, bazo y ganglios mesentéricos en tamaño (mm) y peso (g), como por la mortalidad de los cobayos. Concluyéndose que el veneno de abejas (*Apis mellifera*) cuenta con la posibilidad de atenuar la virulencia de las enterobacterias objeto de estudio.

Palabras clave: actividad antibacteriana, apitoxina.

ABSTRACT

The presence of enterobacterial diseases in guinea pigs (*Cavia porcellus*), caused by *Escherichia coli*, *Yersinia pseudotuberculosis* and *Salmonella typhimorium*, as well as the excessive use of antibiotics and other medicines that leave residual actions in animal meat, constitute the basic elements of the problem which originated this research that was developed in three phases: a) determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of apitoxin for enterobacteria of guinea pigs in the fattening phase, b) action of apitoxin in the treatment of clinically diseased guinea pigs by enterobacteria, and c) solutions of apitoxin as a preventive for the enterobacteria attack in guinea pigs. Therefore, the objective of this third phase, the reason for this article, was to determine the effects of simultaneous dilutions of 0.7 and 0.8 mg / l-10 of apitoxin in enterobacteria cultures, to attenuate their virulence or pathogenic intelligence, highlighting that these concentrations are the result of phases a and b of the research, related to the use of apitoxin in solutions against pathogenic enterobacteria for guinea pigs. After the trial development in 35 in 3-month old guinea pigs, the results confirmed the in vitro values of the MICs of 0.7 and 0.8 mg / l-10 with 10 simultaneous dilutions for immunological protections for the three enterobacteria, the responses evaluated by thymus lymphoid organometry, spleen and mesenteric lymph in size (mm) and weight (g), as well as for guinea pig mortality. Concluding that the bee venom (*Apis mellifera*) has the possibility of attenuating the virulence of the enterobacteria under study.

Keywords: antibacterial activity, apitoxin.

INTRODUCCIÓN

Si bien es cierto que se han logrado importantes avances técnicos en la crianza de los cobayos a gran escala, sin embargo, los conocimientos referentes a aspectos sanitarios y epidemiológicos de las enfermedades que atacan a esta especie animal aún son escasos, en especial para medianos y pequeños productores (Torres y Tirira 2017).

Dentro de las enfermedades más alarmantes, como señalan Espíndola y Espíndola (2005); Wagner y Manning (2014); Mahler *et al.* (2014) y Bartholomew *et al.* (2014), se encuentran las causadas por bacterias pertenecientes a la familia enterobacteriaceae, de cuyo phylum forman parte los géneros: *Salmonella*, *Yersinia* y *Escherichia*, considerados entre las más importantes para la salud y vida productiva de los cobayos.

Estos patógenos, tal como afirman Mahler *et al.* (2014), han desarrollado una gran capacidad invasiva, cualidad que les confiere la posibilidad de desarrollar infecciones sistémicas y provocar daños irreversibles a los animales infectados, como a los productores y consumidores.

Entre los riesgos mayores que se presentan en los criaderos de cuyes, se encuentra la presencia de animales que, de una u otra manera, superaron un problema infectocontagioso dado por enterobacterias, es la presencia de portadores asintomáticos de las enfermedades, constituyéndose en focos silenciosos de contagio de estas enfermedades (Caycedo *et al.* 2011 y Chauca 2005).

La inteligencia patógena o virulencia de las enterobacterias

Las enterobacterias Gram negativas, como afirman Weigel *et al.* (2003), tienen mecanismos implicados en la patogenicidad e inteligencia (virulencia) microbiana, los que han evolucionado y en relación con el huésped y al patógeno, tal es el caso de la selección provocada por la presión dada por el uso y abuso con los antimicrobianos introducidos en el campo de la medicina.

Cárdenas-Perea (2014) hace referencia a la "inteligencia" de las bacterias, como la virulencia que estos microorganismos son capaces de desarrollar en medios de su convivencia, de manera que, desde el enfoque microbiológico, este atributo bacteriano se sustenta en la capacidad de interpretar, discernir, darle uso oportuno y eficiente a la información recibida desde el entorno, a fin de contar con alternativas de libre elección de manera exclusiva para modificar el medio y adaptarse al mismo de manera éxitos; esto hacen las enterobacterias.

Órganos linfáticos

En los animales mamíferos, caso práctico de los cobayos (*Cavia porcellus*), tal como señalan Randall *et al.* (2002), Abbas *et al.* (2012) y Gutiérrez (2010), se tiene dos tipos de órganos linfoides; esto es, primarios o centrales y capsulados: médula ósea, timo, bazo y ganglios linfáticos; secundarios, periféricos no capsulados: piel, tejidos asociados (mucosas), tejido intestinal, tejido bronquial y tejido nasofaríngeo (amígdalas).

De manera concreta y como referencia Chauca (2005) e INIAP (2002), determinan que en los cuyes los órganos linfoides tales como: timo a los tres meses de edad tiene un rango de 2,5 - 3,2 cm de tamaño y peso entre 1,63 - 1,80 g; el bazo entre 0,95-1,15 cm de tamaño y peso entre 0,56 - 1,10 g; los ganglios linfáticos mesentéricos, de 0,45- 0,85 cm de tamaño y peso entre 0,76 - 1,23 g. Todo esto con fines de valoración de los principales órganos linfáticos a través de la organometría (Abbas *et al.* 2012; Gutiérrez 2010 y Fortoul Van Der Goes (2017).

La apitoxina o veneno de abejas (*Apis mellifera*)

De acuerdo con Son, *et al.* (2007) el veneno de la abeja melífera, conocido también como apitoxina es un producto natural que se encuentra integrado por, al menos, 18 componentes activos, incluyendo enzimas, péptidos, y aminas biogénicas, los mismos que tienen una amplia variedad de propiedades farmacéuticas, afirmación que es compartida y apoyada también por Han *et al.* (2007).

De tal manera que, la gama de componentes que posee la apitoxina, la convierten en un ingrediente potencial para su uso, tal como señalan Jang (2003); Wang (2009) y Park *et al.* (2010), en el tratamiento de reacciones alérgicas, quemaduras de la piel, como cicatrizante de heridas, para infecciones bacterianas, en el control de tumores cancerígenos, como cosmético para contrarrestar el envejecimiento; incluso, Han *et al.* (2010) lo consideran como un excelente estimulante del sistema inmune de seres humanos y de animales.

Los investigadores Han *et al.* (2012), quienes realizaron en Corea un estudio de sensibilización de piel en cobayos y ratones, con el uso de apitoxina procedente de abejas melíferas (*Apis mellifera*), para lo cual utilizaron dosis de 1500 mg/kg de peso corporal vivo lográndose demostrar que es un producto bien tolerado por las dos especies animales, sin que se hayan presentado irritación dérmica, resultados que les permitieron recomendar su uso como un ingrediente de aplicación tópica en animales.

Estas afirmaciones son corroboradas también por

Chaudhry *et al.* (2010), investigadores que tampoco encontraron reacciones tisulares por contacto cutáneo en animales tratados con veneno de abejas (*Apis mellifera*).

De igual manera Han *et al.* (2010), demostraron las bondades de la apitoxina como estimulante del sistema inmunitario de aves que recibieron este producto apícola en el agua de bebida. Así mismo, Akbar *et al.* (2012), estudiaron en ratas el efecto de la apitoxina en la encefalomiелitis alérgica experimental (EAE), para tal efecto se administró el veneno de abejas por vía parenteral y en dosis diarias de 2 y 5 mg/kg de peso corporal vivo y durante diez días, por cierto con estricto apego a la "Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio publicados a través de la Academia Nacional de Prensa, que fue aceptada por el comité de ética de la AUSR en Irán", obteniéndose como resultado una reducción considerable de la intensidad media de la enfermedad EAE en los grupos ensayo, frente al testigo o de contraste.

La apitoxina como producto apícola es utilizada desde hace miles de años, Baek *et al.* (2006) considera que su aplicación de manera general ha sido mediante picaduras directas de abejas en la piel, que es factible al momento, a través de administración parenteral con aguja y jeringas hipodérmicas; de igual manera, enteral a través del agua de bebida, de preferencia vía sublingual, según los fundamentos sostenidos por Castro *et al.* (2005); Baek *et al.* (2006) y Han, *et al.* (2010).

Matysiak *et al.* (2011), manifiesta que al veneno de abeja o apitoxina se le atribuye diversas actividades tanto biológicas como farmacológicas. Su eficacia se ha demostrado en muchas enfermedades infecciosas, neurológicas, reumatoides y como estimulante del sistema inmunológico, de manera especial se destaca la ausencia de anticuerpos para este producto, destacándose que el organismo no se acostumbra al mismo.

De igual manera la apitoxina ha demostrado acciones antibacterianas fundamentalmente (Jang 2003; Park *et al.* 2010).

Es importante traer como referencia los reportes dados, tanto por Han *et al.* (2010), como por Arteaga *et al.* (2017), quienes realizaron estudios en pollos de engorde con apitoxina suministrada en el agua de bebida, encontrándose mayor desarrollo de órganos linfoides tales como timo, bazo y Bursa, atribuible a la presencia de estímulos en el sistema inmunológico en pollos así tratados y frente a grupos testigos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo de este estudio se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), para lo cual se identificó como variable dependiente a los 35 cuyes de 3 meses de edad, organizados en 3 grupos ensayo y 2 testigos, con 5 repeticiones; cada grupo integrado por 5 animales, un cobayo la unidad experimental; las variables a evaluar fueron: sintomatología de cada animal (constantes fisiológicas y estado físico), organometría linfóidea (timo, bazo y ganglios mesentéricos), en tamaño (mm) y peso (g), así como mortalidad de animales (número/tiempo). Además, se utilizó una variable de control Unidades Formadoras de Colonias (UFC) a las 24 horas de cada dilución simultáneas. Los datos se tabularon e interpretaron mediante los programas: Statgraphics® Plus (v.5.0), R y en Excel.

Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de apitoxina en solución que se tomaron para este ensayo son las que se encontraron en las fases a y b de este estudio integral, esto es para *Escherichia coli* 0.7 mg/l-10, *Yersinia pseudotuberculosis* y *Salmonella typhimorium* con 0.8 mg/l-10, con las que se realizaron 10 diluciones simultáneas a partir del cultivo madre; 1 ml de cultivo puro o réplica anterior y de cada cepa bacteriana, más 1 ml de la respectiva solución de apitoxina en 8 ml de caldo cultivo; esto cada 24 horas y a partir de la dilución inmediatamente anterior, se hicieron lecturas de UFC de cultivos a partir de muestras de soluciones seriadas anteriores hasta la réplica número diez.

Los cuyes del ensayo como los testigos se organizaron en grupos: T1 para *Escherichia coli* y 0.7 mg/l-10 de apitoxina, T2 para *Salmonella typhimorium* y con 0.8 mg/l-10 de apitoxina, T3 para *Yersinia pseudotuberculosis* con 0.8 mg/l-10 de apitoxina; como testigos: Ta o testigo sin bacterias y con 0.8 mg/l-10 de apitoxina, Tb1, testigo con *Escherichia coli* sin apitoxina, Tb2, testigo con *Salmonella typhimorium* y sin apitoxina, Tb3, testigo con *Yersinia pseudotuberculosis* y sin apitoxina. Cada grupo integrado por 5 cobayos (un animal una unidad experimental), con 5 repeticiones y para un total de 35 cobayos de 3 meses de edad. Tanto el día 1 como el 7 del ensayo, se les inyectó vía subcutánea, a cada unidad (cobayo) de los grupos ensayo (T1, T2, T3), 1 ml de las diluciones simultáneas del tubo 10 y de la correspondiente cepa enterobacteriana, mediante jeringuillas y agujas hipodérmicas individuales.

A los 14 días se administró, vía oral a todos los cuyes de los grupos ensayo (T1, T2 y T3) y a los testigos (Tb1, Tb2, y Tb3) 1 ml de cultivo puro de la cepa enterobacteriana, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimorium*, así como de *Yersinia pseudotuberculosis*, en su orden respectivo,

mediante el uso de jeringas hipodérmicas desechables individuales.

Cada cuy del grupo testigo (Ta), por vía subcutánea, recibió 1 ml de una dilución simultánea de apitoxina de 0.8 mg/l-10 en el día 1 y 1 ml más en el día 7, cuyes que no recibieron infección bacteriana alguna.

Todos los días observaciones en busca de síntomas o cuyes muertos. Tanto el día 21 como el 28 del ensayo, se sortearon entre los cuyes de cada grupo a un animal para el control organométrico linfoides, esto es tamaño en milímetros y peso en gramos de timo, bazo y ganglios mesentéricos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Realizados los cultivos y los repiques o soluciones seriadas, correspondientes a cada cepa bacteriana y con las respectivas concentraciones de apitoxina, en las Figuras 1, 2 y 3 se pueden apreciar los efectos de las soluciones de apitoxina de 0.7 mg/l-10 para *Escherichia coli* y de 0.8 mg/l-10, tanto para *Salmonella typhimorium* como para *Yersinia pseudotuberculosis* y a partir del cultivo madre (CM) que en cada figura se puede leer en el eje de las X, destacándose como los valores más altos de Unidades Formadoras de Colonias. De igual manera, las diluciones seriadas o pases (P1, P2, ... P10) son diluciones simultáneas, las que permiten evidenciar en cada ADEVA realizado en el programa R que existe diferencias altamente son significativas entre tratamientos o diluciones seriadas ($P < 0.05$).

En la Figura 1, en relación con la prueba Tukey al 5%, para el factor atenuación de la bacteria *Escherichia coli* con 0.7 mg/l-10 de apitoxina mediante diez diluciones seriadas, se pueden observar 11 rangos: a, ab, bc, cd, de, ef, fg, gh, hi, ij y j; de los que, el rango a, corresponde a la concentración Mínima de apitoxina, en cambio desde el rango ab hasta el rango j que corresponden a Unidades Formadoras de Colonias, las mismas que por acción de la apitoxina en cada dilución o pase disminuyen en forma progresiva hasta llegar al pase 10 que presenta el rango j una población menor a 1000 Unidades Formadoras de Colonias, como se puede evidenciar en el eje de las ordenadas.

En la Figura 2, en relación con la prueba Tukey al 5%, para el factor atenuación de la bacteria *Salmonella typhimorium* con 0.8 mg/l-10 de apitoxina mediante diez soluciones seriadas, se pueden observar 11 rangos: a, a, b, bc, c, d, de, ef, fg, gh y h; de los que, el rango a, corresponde a la Concentración Mínima de apitoxina, mientras que desde el rango a de la columna (P1) hasta el h, se evidencian

disminuciones progresivas de Unidades Formadoras de Colonias (eje de las ordenadas), debido a la acción de la apitoxina en cada dilución o pase, de manera que en el pase 10 (rango h) se tiene una población menor a 1000 Unidades Formadoras de Colonias, como se puede evidenciar en el eje de las ordenadas.

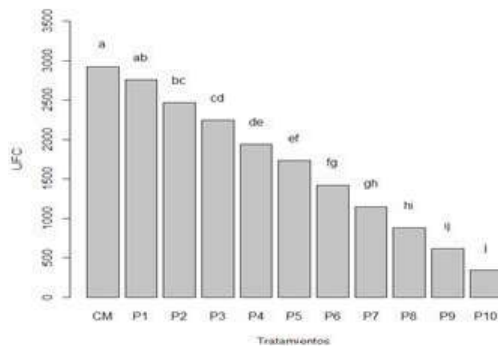


Figura 1. Resultados de la atenuación de *Escherichia coli* con 0.7 mg/l-10 de apitoxina mediante diez soluciones seriadas.

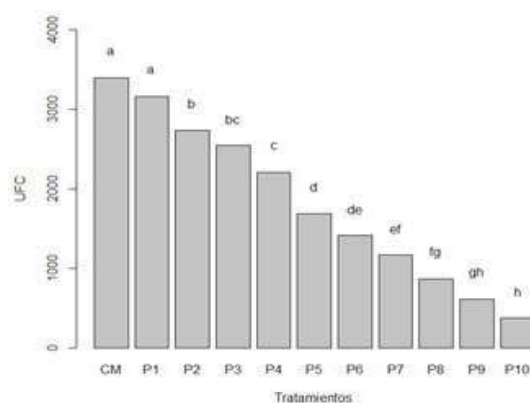


Figura 2. Resultados de la atenuación de *Salmonella typhimorium* con 0.8 mg/l-10 de apitoxina mediante diez soluciones seriadas

En la Figura 3, en relación con la prueba Tukey al 5%, para el factor atenuación de la bacteria *Yersinia pseudotuberculosis* con 0.8 mg/l-10 de apitoxina mediante diez diluciones seriadas, se pueden observar 11 rangos: a, ab, abc, bc, cd, de, e, ef, fg, fg, y g; de los que, el rango a, corresponde a la Concentración Mínima de apitoxina, en cambio desde el rango ab hasta el g, que corresponden a Unidades Formadoras de Colonias (UFC), las mismas que por acción de la apitoxina en cada dilución o pase

disminuyen en forma progresiva hasta llegar al pase 10 que presenta el rango g una población menor a 500 Unidades Formadoras de Colonias, como se puede evidenciar en el eje de las ordenadas.

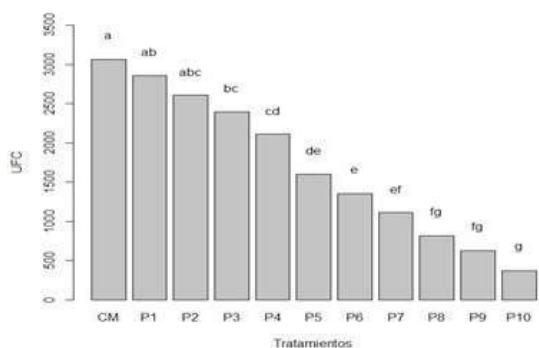


Figura 3. Resultados de la atenuación de *Yersinia pseudotuberculosis* con 0,8 mg/l-10 de apitoxina mediante diez soluciones seriadas. (CM = Concentración Mínima; P1, P2...P10= Pases; UFC= Unidades Formadoras de Colonias)

Respecto a la diversidad numérica de UFC, en cada una de las diluciones simultáneas y a las interacciones entre ellas, se atribuye este comportamiento de las tres cepas bacterianas a la acción antimicrobiana de la apitoxina, tal como sostienen Jang, (2003); Park *et al.* (2010) y Matsyiak *et al.*, (2011), respecto a los efectos tanto biológicos, farmacológicos y bactericidas de la apitoxina, como producto natural de uso alternativo en la lucha contra microorganismos patógenos.

De tal manera que, sí es evidente un control en el crecimiento bacteriano en cada fase de las soluciones seriadas, puesto que los valores de las UFC son cada replica menores, por lo que se ve también disminuida su virulencia o "inteligencia" patógena, permitiéndoles actuar como antígenos estimulantes del sistema inmunológico de los cobayos así tratados (Espíndola y Espíndola 2005, Mahler *et al.* 2014; Wagner y Manning 2014 y Bartholomew *et al.* 2014). Más aún que, las dosis orales de enterobacterias puras no causaron estragos sanitarios aparentes (Han *et al.* 2010), de manera especial en los grupos tratamientos. En cambio, en los grupos testigos infectados vía oral y sin tratamiento con apitoxina, los signos clínicos y daños en bazo y ganglios linfáticos mesentéricos fueron evidentes. (Caycedo *et al.* 2011 y Chauca, 2005).

De conformidad con los registros de campo, respecto a las variables: animales vivos, animales que presentaron síntomas o reacciones a las inoculaciones de

enterobacterias atenuadas, mediante diez réplicas de diluciones simultáneas de apitoxina, así como cuyes muertos; después del análisis mediante el programa Excel, se puede apreciar en la figura 4 que en los grupos testigos Tb1 (*E. coli* con 0,7 mg/l-10 de apitoxina), Tb2 (*Salmonella typhimorium* con 0,8 mg/l-10 de apitoxina) y Tb3 (*Yersinia pseudotuberculosis* con 0,8 mg/l-10 de apitoxina) se presentaron 5, 4 y 5 muertos respectivamente. Esto se debió a que no recibieron tratamiento con soluciones de apitoxina después de las infecciones vía oral.

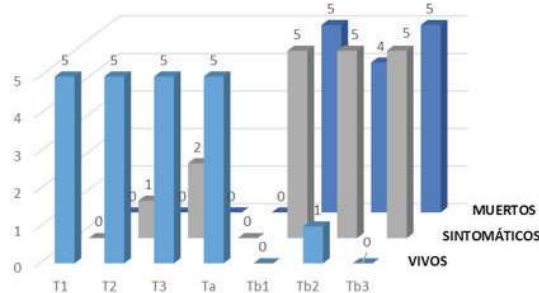


Figura 4. Comportamiento de los cuyes a tratamientos con bacterias atenuadas y cultivos puros expresados en: vivos, sintomáticos y muertos. (Grupos: ensayo (T1, T2 Y T3), testigos sanos con apitoxina (Ta) y testigos infectados sin apitoxina (Tb1, Tb2 y Tb3).

Cuyes con síntomas de reacciones como anorexia, decaimiento, entre otros, fueron: 1 para T2 y 2 para T3 del ensayo, animales que se recuperaron satisfactoriamente, con la solución de apitoxina; en cambio que para los grupos testigos Tb1, Tb2 y Tb3, los 5 cuyes de cada grupo presentaron síntomas típicos de cada enfermedad, incluso a excepción de 1 cuy del grupo Tb2 que sobrevivió, en estado caquéxico, sin crecimiento ni peso corporal. De tal manera que, de los 35 cuyes, tanto de los grupos ensayo como testigos, sobrevivieron 20 cuyes en estado saludable, mientras que 1 en estado deplorable. En relación con la organometría del bazo a los 21 días, en la Figura 5 (a) se demuestra que al realizar el ANOVA en el programa Statgraphics (v 0.5), existe una relación estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre el tamaño y la masa del bazo en 95% de nivel de confianza, por la ecuación del modelo ajustado es tamaño = 11, 077 + 5, 129 x masa. Se logró un coeficiente de correlación del 0, 988 y un error estándar de 0, 493. En la Figura 5 (b), se evidencian a los 28 días, mediante ecuación el tamaño = 13, 626 + 4, 320 x masa, coeficiente de correlación de 0, 991, el error estándar de 0, 501, con una relación estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre tamaño y masa de los bazos valorados.

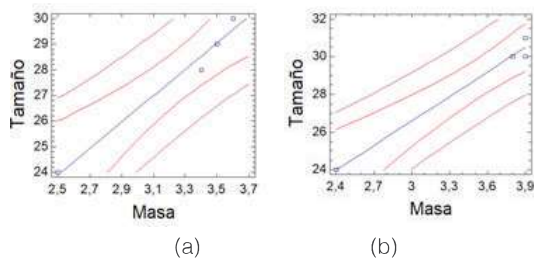


Figura 5. Relación de tamaño/masa en la organometría del bazo: (a) 21 días, (b) 28 días

Para el timo, a los 21 y 28 días, en la Figura 6 se aprecia por los ANOVAs que hay una relación estadísticamente significativa entre tamaños y masas en el orden del 99 % para los días (a)21 y (b)28, coeficientes de correlación iguales para los dos momentos de valoración con 0, 998, un error estándar de 0, 231 (día 21) y 0, 385 (día 28) y una ecuación de tamaño =8, 392 + 5, 952 x masa (día 21) y tamaño = 7, 412 +6, 258 x masa (día 28).

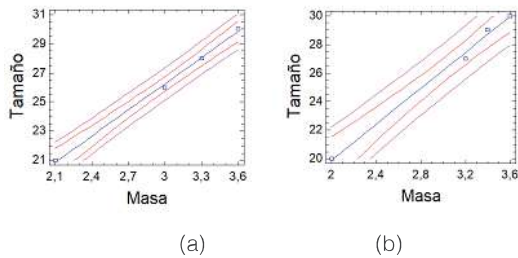


Figura 6. Relación de tamaño y masa de la organometría del timo: (a) 21 días, (b) 28 días

En la Figura 7 se puede apreciar que, para los ganglios mesentéricos, a los 21 días existe un coeficiente de correlación entre el tamaño y la masa de 0, 998, un error estándar de 0, 087 y una ecuación de tamaño = 6, 839 + 4, 274 x masa, mientras que a los 28 día (figura 7b) se tiene la siguiente lectura: un coeficiente de correlación entre tamaño y masa de 0, 991, un error estándar de 0, 2239, una ecuación de tamaño = 8, 872 + 2,809 x masa. Para los dos casos existe una relación estadísticamente significativa ($P < 0.05$), entre tamaño y masa en el orden del 99%.

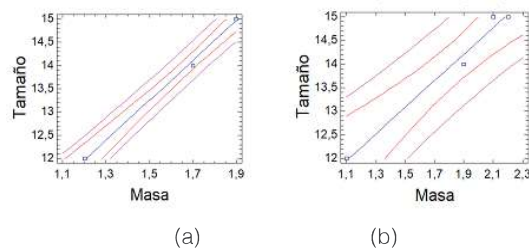


Figura 7. Relación de tamaño y masa de la organometría de los ganglios mesentéricos: (a) 21 días, (b) 28 días.

En la Figura 8 se aprecian los valores para tamaños en milímetros y pesos o masas en gramos de los órganos bazo, timo y ganglios mesentéricos, tanto para los grupos ensayo (T1, T2 y T3), como para los testigos (Ta) que no recibieron infección alguna y fueron tratados con 2 dosis de 1 ml, a concentración de 0,8 ml de apitoxina en solución, cuyes que presentan organometría linfoides muy similar entre sí, producto de la estimulación infectocontagiosa controlada, dada por diluciones simultáneas de bacterias y apitoxina, así como para los testigos Tb1, Tb2 y Tb3, cuyes que recibieron infección oral de 1 ml de cultivo puro de cada cepa bacteriana en estudio, ningún tratamiento adicional más.

Estos últimos grupos testigos marcan la diferencia por la presencia de organometría linfoides, caracterizada por hipotrofia de estos órganos, muy diferentes por peso y tamaño menores a los otros animales objeto de esta investigación.

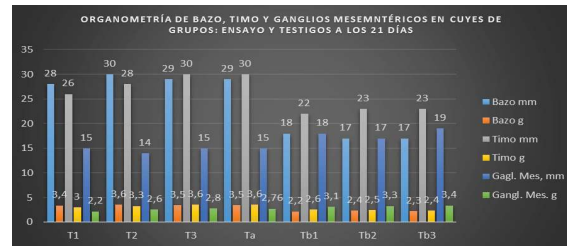


Figura 8. Tamaño y masa de bazo, timo y ganglios linfáticos en grupos de cuyes ensayo y testigos, a los 21 días.

Los resultados presentados en la Figura 9 siguen el mismo patrón de comportamiento organométrico que el comentado para la Figura 8, razón por la que se puede atribuir esta particularidad de peso y tamaño del bazo, el timo y ganglios linfáticos mesentéricos a la acción de la apitoxina, tal como confirman Han *et al.* (2010) y Arteaga *et al.* (2017), quienes se respaldan en investigaciones realizadas con el uso de soluciones de apitoxina y la valoración organométrica linfoides, a tal punto de, referir esta metodología como una práctica de campo de gran confiabilidad y como un referente para la evaluación del sistema inmunológico de los animales tratados con apitoxina1 (Fortoul Van Der Goes, 2017).



Figura 9. Tamaño y masa de bazo, timo y ganglios linfáticos en grupos de cuyes ensayo y testigos, a los 28 días.

CONCLUSIONES

Al evaluar esta alternativa de campo conocida como organometría linfoides, en cuyes inoculados con cepas enterobacterianas atenuadas mediante diluciones simultáneas de apitoxina, vistos los síntomas, reacciones orgánicas y muerte de los animales, se puede concluir que la apitoxina en solución, posiblemente incide en la atenuación de la virulencia o "inteligencia" patógena de las enterobacterias así tratadas, las que al ser inoculadas en el organismos de los cobayos estimularían al sistema inmunológico frente al ataque de estos patógenos, corroborándose así lo reportado por Han *et al.* (2010); Wagner y Manning (2014) y Bartholomew *et al.* (2014) y Arteaga *et al.* (2017), si bien en otra especie animal pero que, en todo caso, constituye un referente en esta línea de investigación. Los resultados logrados en cuanto a organometría linfoides son coincidentes con los presentados por Chauca (2005); INIAP (2002) y Han *et al.* (2010) razón por la cual se establece que el ensayo se encuentra dentro de estándares ya establecidos; además, apoyados también por un coeficiente de correlación muy fuerte, que se encuentra entre el 0,998, para el tamaño y el peso de los órganos linfáticos, como en una mortalidad del 0% de los cuyes, inoculados con patógenos disminuidos en su virulencia y la resistencia a la inducción oral de cepas bacteriana enteropatógenas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, A. K., Linchtman, A. H.; Phillai, S. (2012). *Inmunología Celular y Molecular*, 6ta. Edición, El Servier, México.
- Akbar K.; Farhad, A.; Kazem, P.; Mohammad, N.; Saied, H.; Soharab, I. Hossein, A. (2012). Effect of Honey Bee Venom on Lewis Rats with Experimental Allergic Encephalomyelitis, a Model for Multiple Sclerosis, Department of Biology, *Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran J Pharm Res. Spring;11(2):671-8.*
- Arteaga, V.; Jáuregui, D. (2017). Incidencia de la apitoxina en los órganos linfáticos en pollos broiler. En Avances, desarrollo y sustentabilidad agroambiental en Ecuador y Venezuela, pp. 190-197. Venezuela: Universidad de Los Andes, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Baek, Y. H., Huh, J. E.; Lee, J. D.; Choi, Do, Y, Park, D. S. (2006). Antinociceptive effect and the mechanism of bee venom acupuncture (Apipuncture) on inflammatory pain in the rat model of collagen-induced arthritis: *Mediation by (2- adrenoceptors. Brain Res., 16, 305-310.*
- Bartholomew, M.L., Heffernan, R.T., Wright, J.G., Klos, R.F., Monson, T., Khan, S., Trees, E., Sabol, A., Willems, R.A., Flynn, R., Deasy, M.P., Jones, B., Davis, J.P. (2014). Multistate Outbreak of Salmonella enterica *Serotype Enteritidis Infection Associated with Pet Guinea Pigs. Vector Borne Zoonotic Dis. 2014 Jun;14(6):414-21. doi: 10.1089/vbz.2013.1506*
- Caycedo, A., Zamora-Burbano, A., Echevarry-Potosí, S., Enríquez, R., Ortega-David, E., Burgos, M. Caycedo, M. (2011). Producción sostenible de cuyes. Colombia: Asindetec.
- Cárdenas-Perea, M.E.; Cruz L., López, O.R.; Gándara-Ramírez, J.L.; Pérez-Hernández, M.A. (2014). Factores de Virulencia Bacteriana: La inteligencia de las Bacterias. *Elementos, Revista de Ciencia y Cultura, 21(94). 35. Recuperado de: https://elementos.buap.mx/num94/htm*
- Castro, H.J.; Mendez-Lnocencio, J.I.; Omidvar, B.; Omidvar, J.; Santilli, J.; Nielsen, H.S.; Pavot, A.P.; Richert, J.R.; Bellanti, J.A. (2005), A Phase I Study of the safety of honey bee venom extract as a possible treatment for patients with progressive forms of multiple sclerosis. *Allergy Asthma Pro., 26, 470-476. Recuperado de: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16541972*
- Chauca, L. (2005). Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). *Coordinación de Crianzas Familiares*. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). La Molina- Perú.
- Espíndola, J. L.; Espíndola, M. A. (2005). "La inteligencia". En Editorial Pearson Educación, *Pensamiento crítico*, México: 5-9.
- Fortoul Van Der Goes, T. (2017). *Histología y biología celular*, 3e. McGraw-Hill, Interamericana Editores, S. A. Ciudad de México.
- Guerra, C. (2009). *Potenciando capacidades para el desarrollo sostenible de Chetilla y Magdalena-Cajamarca*. Manual Técnico de Crianza de Cuyes, 16 Perú.
- Gutiérrez, P. J. (2010). *Inmunología Veterinaria*. Editorial Mundo Moderno, S. A. de C.V. México
- Han, S.; Lee, K.; Yeo, J.; Kweon, H.; Woo, S.; Lee, M.; Baek, H.; Kim, S.; Park, K. (2007), *Effect of honey Bee venom on microglial cells nitric oxide and tumor*

- necrosis factor - α production stimulated by LPS. J. Ethnopharmacol.* 111: 176-181.
- Han, S. M.; Lee, K.G.; Yeo, J.H.; Oh, B.Y.; Kim, B.S.; Lee, W.; Baek, H.J.; Kim, S.T.; Hwang, S.J.; Pak, S.C. (2010). Effect of honeybee venom supplementation in drinking water on growth performance of broiler chickens. Poultry Science Association Inc, Korea, 42: 253-268, doi: 10.3382/pp.2010-00915.
- Han, S.M.; Lee, G.G.; Park, K.K. (2012). Skin Sensitization Study of Bee Venom (*Apis mellifera L.*) in Guinea Pigs. *Toxico*, 28:1-4.
- Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) (2002). Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). [en línea], disponible en: <http://iniap.gob.ec>
- Jang, M.H. (2003). Bee venom induces apoptosis and inhibits expression of cyclooxygenase-2 mRNA in human lung cancer cell line NCI-H1299. *J. Pharmacol. Sci.*, 91, 95-104.
- Mahler, M., Berard, M., Feinstein, R., Gallagher, A., Illgen-Wilcke, B., Pritchett-Corning, K.; Raspa, M. (2014). FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Laboratory Animals*.48(3) 178–192.Doi: 10.1177/0023677213516312.
- Matysiaka, J.; Christian, E.H.; Schmelzer, B.; Reinhard, H.H.; Neubert, B.; Zenon, J. K. (2011), Characterization of honeybee venom by MALDI-TOF and nanoESI-QqTOF mass spectrometry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 54 (2011) 273–278.
- Park, M.H.; Choi, M.S.; Kwak, D.H.; Oh, K.W.; Yoon, D.Y.; Han, S.B.; Song, H.S.; Song, M.J.; Hong, J.T. (2010). Anti-cancer effect of bee venom in prostate cancer cells through activation of caspase pathway via inactivation of NF-B. *Prostate*, 17, 801-812.
- Ramírez, I. (2003). Estudio bacteriológico y epidemiológico de un brote infeccioso en cobayos (*Cavia porcellus*). (Tesis pregrado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos).
- Randall, D.; Warren, B.; Eckert, R.; French, K. (2002). *Fisiología Animal: mecanismos y adaptaciones*. Universidad de Stanford. Editorial McGraw Hill, Buenos Aires-Argentina.
- Son, D.J.; Lee, J.W.; Lee, Y.H.; Song, H.S.; Lee, C.K.; Hong, J.T. (2007). Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds, *Pharmacology & Therapeutics*. 115 (2007) 246–270.
- Torres, S. y Tirira, M. (2017). Incidencia de enterobacterias en cuyes de las parroquias de Natabuela y Chaltura. (Tesis de pregrado Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra). Recuperado de://dspace.pucesi.edu.ec/handle/11010/6/browse?
- Wagner, J. E.; Manning, P. J. (2014). *The Biology of the Guinea Pig*. Academic Press, INC (London), NewYork, LTD. ISBN: 0-12-730050-3
- Wang, C.; Chen, T.; Zhang, N.; Yang, M.; Li, B.; Lü, X.; Cao, X.; Ling, C. (2009). Melittin, a major component of bee venom, sensitizes human hepatocellular carcinoma cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) - induced apoptosis by activating CaMKII-TAK1-JNK/p38 and inhibiting Ikappa Balpha kinase-NFkappaB. *J. Biol. Chem.*, 284, 3804-3813.
- Weigel, L.M.; Clewell, D.B.; Gill, S.R.; Clark, N.C.; McDougal, L.K.; Flannagan, S.E.; Kolonay, J.F.; Shetty, J.; Killgore, G.E.; Tenover, F.C. (2003). Genetic analysis of a high-level vancomycin-resistant isolate of *Staphylococcus aureus*. *Science* 302(5650), 1569-1571.