

Evaluación del efecto antibacteriano sinérgico de rifamicina en propóleo sobre bacterias grampositivas

Evaluation of the synergistic antibacterial effect of rifamycin in propolis on gram-positive bacteria

Héctor Alexander Vílchez Cáceda^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-7094-0821>

Luis Adolfo Cervantes Ganoza¹ <https://orcid.org/0000-0001-6090-6750>

¹Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Lima, Perú.

*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: hvilchezc@uigv.edu.pe

RESUMEN

Introducción: En la medicina militar, la aplicación de las sustancias antibacterianas en las infecciones tópicas, es importante en el tratamiento de las tropas.

Objetivos: Evaluar el efecto antibacteriano sinérgico de rifamicina en propóleo sobre bacterias grampositivas.

Métodos: Estudio experimental in vitro y comparativo. Se efectuó el análisis fitoquímico preliminar del propóleo de *Apis mellifera*. Se utilizaron 96 placas de agar Muller Hinton (Britania[®]) (48 placas para cada especie bacteriana) repartidas en 6 grupos (n = 8). grupo I (agua destilada), grupo II (alcohol etílico al 96 %), grupo III (rifamicina al 0,5 %), grupo IV (rifamicina al 1 %), grupo V (propóleo al 20 %) y grupo VI (rifamicina al 1 % en propóleo al 40 %); se empleó la metodología de Kirby - Bauer; las cepas usadas fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 y las mediciones de las zonas de inhibición se efectuaron a las 24 horas.

Resultados: Se detectaron compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides y triterpenoides en propóleo. Se comprobó el efecto antibacteriano del grupo V con $18,627 \pm 0,1008$ mm (92,59 %) y $19,247 \pm 0,0762$ mm (96,74 %), y el efecto antibacteriano sinérgico del grupo VI con $19,316 \pm 0,1202$ mm

<http://scielo.sld.cu>

<http://www.revmedmilitar.sld.cu>

(96,02 %) y $19,613 \pm 0,0820$ mm (98,58 %), comparados con rifamicina al 1 % (100 %) sobre *S. aureus* ATCC 25923 y *S. pyogenes* ATCC 19615.

Conclusiones: La combinación de rifamicina al 1 % unida al propóleo al 40 % presenta una mayor actividad antibacteriana in vitro sobre bacterias grampositivas debido a su efecto sinérgico.

Palabras clave: efecto antibacteriano; Kirby-Bauer; propóleo; rifamicina.

ABSTRACT

Introduction: In military medicine, the application of antibacterial substances in topical infections are important in the treatment of troops.

Objectives: To evaluate the synergistic antibacterial effect of rifamycin in propolis on gram-positive bacteria.

Methods: In vitro and comparative experimental study. Preliminary phytochemical analysis of *Apis mellifera* propolis was carried out. 96 Muller Hinton agar plates (Britania[®]) (48 plates for each bacterial species) divided into 6 groups (n = 8) were used group I (distilled water), group II (96 % ethyl alcohol), group III (rifamycin 0,5 %), group IV (rifamycin 1 %), group V (propolis 20 %) and group VI (rifamycin 1 % in 40 % propolis); Kirby-Bauer methodology was used; the strains used were *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 and the measurements of the zones of inhibition were carried out at 24 hours.

Results: Phenolic compounds, tannins, flavonoids, alkaloids and triterpenoids were detected in propolis. The antibacterial effect of group V was verified with $18,627 \pm 0,1008$ mm (92,59%) and $19,247 \pm 0,0762$ mm (96,74%), and the synergistic antibacterial effect of group VI with $19,316 \pm 0,1202$ mm (96,02%) and $19,613 \pm 0,0820$ mm (98,58%), compared with rifamycin 1% (100%) on *S. aureus* ATCC 25923 y *S. pyogenes* ATCC 19615.

Conclusions: The combination of rifamycin 1% together with propolis 40% has a greater antibacterial activity in vitro on gram-positive bacteria due to its synergistic effect.

Keywords: antibacterial activity; Kirby-Bauer; propolis; rifamycin.

Recibido: 29/03/2021

Aprobado: 31/08/2021

<http://scielo.sld.cu>

<http://www.revmedmilitar.sld.cu>

INTRODUCCIÓN

En el ámbito militar se han investigado procedimientos médicos para mejorar la salud y disminuir las infecciones tópicas de los lesionados en los enfrentamientos bélicos.⁽¹⁾ El propóleo es mencionado en el papiro de Ebers, y en Egipto lo usaban como medicina para desinfectar las heridas.^(2,3) En Grecia lo utilizaban como recurso para tratar las afecciones de la piel; se usó en conflictos bélicos como ungüento tópico antiséptico;⁽³⁾ ha sido conocido por casi todas las civilizaciones y su uso se ha mantenido hasta la actualidad,^(2,3) en formulaciones en las áreas de la medicina, farmacia, odontología, entre otras.^(4,5,6,7)

El propóleo es una resina compuesta, parda oscura, que se disuelve en etanol.^(2,6) Conformada por cera, resinas, etc.^(2,7) las cuales son acopiados de diversas plantas según su ubicación geográfica, diversidad de especies vegetales y trabajados por un equipo particular de abejas, con el propósito de restaurar las fisuras ubicadas en el panal;^(5,8,9) presenta una notable acción antibacteriana sobre todo frente a las bacterias grampositivas, a causa de la compleja mezcla de metabolitos secundarios que posee.^(7,8,9,10) Asimismo se le atribuyen características antiinflamatorias, antiparasitarias, antimicóticas, cicatrizante, entre otras.^(6,10,11,12,13)

Rifamicina forma parte de los macrocíclicos compuestos elaborados por *Streptomyces mediterranei*.⁽¹⁴⁾ Es un antibiótico semisintético, esta adscrito a las “ansamicinas”, del equipo de las rifamicinas, se consigue de la rifamicina B como rifamicina SV para uso tópico; tiene efecto bactericida e impide la fabricación del ADN inhibiendo la transcripción de la enzima ARN-polimerasa de las bacterias sensibles y, como resultado, el comienzo de la cadena polipeptídica del ADN.^(14,15,16) Actúa contra microorganismos grampositivos, posee moderada acción contra gramnegativos; se utiliza en caso de heridas infectadas, quemaduras, furúnculos, piodermitis, dermatitis infectadas, úlceras varicosas y diabéticas y en asociación con apósitos para tratar heridas postquirúrgicas infectadas.^(15,16) Presenta buena inserción sérica y tisular.^(15,17) Es exclusivo para uso intravenoso o tópico.^(16,17) La rifamicina espray comercial, se presenta en 20 mL, cada 100 mL de solución contienen rifamicina SV 1000 mg, equivalente a 1,03186 mg de rifamicina sódica; excipientes: edetato disódico, propilenglicol, ascorbato de sodio, alcohol etílico y agua purificada.^(16,17,18)

Las infecciones bacterianas continúan siendo un importante problema de salud pública en el mundo entero,^(19,20) desde que se descubrieron los antibióticos, estos son utilizados de forma indiscriminada en

los hospitales y clínicas, lo que ha provocado la génesis de cepas microbianas resistentes.^(19,20) La resistencia puede ser adquirida o transmisible.⁽²⁰⁾

Un antibiótico es inhibido por variados mecanismos creados por distintos microorganismos.^(19,20) Por esta razón, en medicina militar se deben buscar alternativas de mezclas de antibióticos semisintéticos con productos naturales, que cuenten con estudios sistematizados y validados, de baja toxicidad,^(1,8,9,10) que no originen resistencia y que puedan erradicar los microorganismos causantes de las infecciones tópicas.^(10,21)

El objetivo de la investigación es evaluar el efecto antibacteriano sinérgico de rifamicina en propóleo sobre bacterias grampositivas.

MÉTODOS

El trabajo de investigación es experimental, in vitro y comparativo. La recolección del propóleo fue artesanal,⁽²⁾ en los meses de junio a agosto del 2019 y aleatorizada, en 15 colmenas de la comunidad campesina de Pargay en Perú.⁽²²⁾

Las muestras fueron clasificadas y estabilizadas en el laboratorio de investigación y desarrollo farmacéutico de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega. El propóleo fue limpiado, pesado, sometido a una temperatura de $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 12 h, luego fue trozado en pedazos pequeños a manera de un polvo fino.^(7,8,9)

Después se procedió a elaborar los extractos etanólicos con alcohol etílico al 96 % por 15 días, con movimiento cada 12 h; luego se realizó la filtración con papel Whatman N° 40 y se dispuso en un horno a $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta consumir el alcohol y lograr un peso seco constante; después se guardó en un envase de vidrio oscuro con tapa de rosca.^(7,9,11) Se conservó en refrigerador a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso.^(9,10,11)

Los metabolitos secundarios se reconocieron mediante la evaluación fitoquímica preliminar, por métodos químicos de reacción por coloración y precipitación, como: Molish (hidrato de carbono), ninhidrina (aminoácidos libres), Dragendorf (alcaloides), Shinoda (flavonoides), tricloruro férrico (compuestos fenólicos), gelatina - sal (taninos), Rosenheim (antocianinas), Lieberman - Burchard (esteroides y triterpenoides), Bornträger (antraquinonas), Legal y Baljet (lactonas sesquiterpénicas), KOH 0,5 M y UV (cumarinas) y el test de espuma (saponinas).^(23,24)

La reactivación del *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615) se realizó según el Clinical and Laboratory Standards Institute,⁽²⁵⁾ se utilizó el Agar Mueller – Hinton (*Britania*[®]),⁽²⁶⁾ se realizó la técnica de siembra por estría escocesa para obtener colonias bien separadas y se llevó a la incubadora en posición invertida a 37 °C por 24 horas.^(13,27) En la elaboración del inóculo, se utilizaron 5 colonias aisladas de la resiembra en Agar Mueller – Hinton suplementado con 5 % de sangre de carnero y detalladas con un hisopo estéril y se transfirieron en 3 mL de medio líquido infusión cerebro corazón (*Britania*[®]),⁽²⁶⁾ a 37 °C por 3 horas hasta alcanzar una opalescencia razonable.^(8,25)

Se normalizó la densidad del inóculo por medio de espectrofotometría a 620 nm correlacionandola con la densidad estándar del tubo 0,5 del patrón Mc Farland en condición de esterilidad, se obtiene como producto una suspensión de $1-2 \times 10^8$ UFC/mL.^(8,25,27)

Para la habilitación de los discos, con anticipación se prepararon soluciones etanólicas de propóleo al 20 %, 40 % y rifamicina al 0,5 % (a partir de rifamicina espray comercial al 1 %); para el caso del grupo VI, se realizó una mezcla de rifamicina al 1 % en propóleo al 40 % (1:1); luego se tomó 1 mL de las soluciones de cada grupo y se llevaron a tubos de ensayo de 13 x 100 mm; después se dispuso dentro de los mismos discos de papel filtro Whatman N° 3 estériles de 6 milímetros de diámetro por 24 horas en refrigeración (4 °C ± 2 °C), con agitación cada seis horas hasta su posterior uso.^(4,8,13)

El ensayo in vitro se hizo en el laboratorio de investigación y desarrollo farmacéutico, se siguieron de manera metódica las directivas de bioseguridad.^(28,29) Se utilizaron placas de Petri que contenían entre 20 a 25 mL de Agar Mueller – Hinton, las cuales fueron preparadas y estandarizadas con antelación según las especificaciones de *Britania*[®].^(26,27,28) Se realizaron

96 siembras (48 siembras para cada especie bacteriana) y se distribuyeron en 6 grupos de n = 8 placas, empleando hisopos estériles, los cuales se sumergieron en los inóculos estandarizados para cada cepa al 0,5 del patrón McFarland.^(25,27) El estriado se realizó de manera paralela y compacta, se rodea todo el diámetro del medio de cultivo, se repite la actividad girando el medio 60 ° dos veces más y se deja en reposo por 10 minutos antes de adicionar los discos.^(8,10,28)

Se dispensaron los discos en los medios, empleando una pinza quirúrgica a 15 mm del borde de la placa de Petri, tocando con poca intensidad la superficie para facilitar su adhesión; se ubicaron 4 discos por placa y todo el proceso se desarrolló en un ambiente estéril.^(10,25,28,29)

Distribución de las siembras en los grupos:

- Grupo I: blanco, discos con agua destilada.
- Grupo II: control negativo, discos con etanol al 96 %.
- Grupo III: control positivo 1, discos con rifamicina al 0,5 %.
- Grupo IV: control positivo 2, discos con rifamicina comercial al 1 % marca Rifocina®
- Grupo V: experimental 1, discos con propóleo al 20 %.
- Grupo VI: experimental 2, discos con rifamicina al 1 % en propóleo al 40 %.

En seguida, las placas que contenían el medio y los discos se colocaron de forma invertida en una incubadora a 37 °C por 24 h.^(8,30) Después del tiempo de incubación, las zonas sin crecimiento que se generaron en torno a los discos, se juzgaron como halos de inhibición y se evaluaron con calibrador Vernier.^(8,13,28)

Para la valoración de tipo cuantitativa se utilizaron las medidas de los diámetros de los halos de inhibición y el porcentaje del efecto inhibitorio relativo respecto al control positivo.^(30,31) El efecto antibacteriano se considera alto cuando su porcentaje de inhibición relativo es > 70 %, intermedia entre el 50 – 70 % y baja cuando es < 50 % y para la interpretación de tipo cualitativa se utilizó como patrón la escala de *Duraffourd*.^(30,31) Nula (-) si es inferior o igual a 8 mm; Sensible = + de 9 a 14 mm; Muy sensible = ++ de 15 a 19 mm; Sumamente sensible = +++ si fue igual o superior a 20 mm.

Los datos de los halos de inhibición fueron expresados como media aritmética ± ES a un nivel de confianza del 95 % y un error relativo del 5 %; se aplicó la prueba de homogeneidad de varianzas de Hartley, Cochran y Bartlett; el ANOVA de una vía y el HSD de Tukey. Se contempló como nivel de significación ($p < 0,05$), mediante el software estadístico IBM SPSS Statistic for Windows versión 25.

RESULTADOS

La evaluación fitoquímica inicial detectó la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides, triterpenoides y glicósidos cardiotónicos (tabla 1).

Tabla 1 - Evaluación fitoquímica del extracto etanólico de propóleo

Metabolito Secundario	Reactivo	Propóleo
Carbohidratos	Molish	+
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	+++
Taninos	Gelatina	++
Flavonoides	Shinoda	++
Antocianinas	Rosenheim	-
Aminoácidos libres	Ninhidrina	-
Alcaloides	Dragendorff	++
Quinonas	Bornträger	+
Triterpenoides	Liebermann	++
Saponinas	Espuma	-
Glicósidos cardiotónicos	Baljet	++
Lactonas	Legal	-
Cumarinas	NaOH 10 %	-

+++ Abundante, ++ Moderado, + Escaso, - No presenta

Los datos obtenidos a las 24 horas (tabla 2) indican que todos los promedios se ubican dentro de los límites establecidos, a un intervalo de confianza del 95 % y un error relativo del 5 %, por esta razón no se excluye ningún dato.

Tabla 2 – Estadística descriptiva del promedio de los halos de inhibición en milímetros de los grupos de ensayo sobre *S. aureus* ATCC 25923 y *S. pyogenes* ATCC 19615

Nº	Grupos	Halos de inhibición en milímetros*	
		<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615
I	Blanco: agua destilada.	0	0
II	Control negativo: etanol al 96 %.	10,125 ± 0,0345	10,159 ± 0,0294
III	Control positivo 1: rifamicina al 0,5 %.	19,769 ± 0,0387	19,759 ± 0,0663
IV	Control positivo 2: rifamicina al 1 %.	20,116 ± 0,0652	19,894 ± 0,0823
V	Experimental 1: propóleo al 20 %.	18,627 ± 0,1008	19,247 ± 0,0762
VI	Experimental 2: rifamicina al 1 % en propóleo al 40 % (1 :1)	19,316 ± 0,1202	19,613 ± 0,0820

*Media ± E.S: media del halo de inhibición de 32 discos en 8 placas por grupo y error estándar para cada cepa bacteriana

En consecuencia, los datos obtenidos a las 24 horas (tabla 3) indican que el grupo VI, experimental 2, rifamicina 1 % en propóleo 40 % (1:1) alcanzó según la escala Duraffourd, muy sensible = ++ y un efecto antibacteriano sinérgico alto, según el porcentaje del efecto inhibitorio sobre *S. aureus* ATCC 25923 y *S. pyogenes* ATCC 19615.

Tabla 3 – Escala Duraffourd y porcentaje del efecto inhibitorio de los grupos de ensayo sobre *S. aureus* ATCC 25923 y *S. pyogenes* ATCC 19615

Grupos	Escala Duraffourd *		Porcentaje del efecto inhibitorio *	
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615
Agua destilada	-	-	-	-
Etanol al 96 %	+	+	50,33	51,06
Rifamicina al 0,5 %	++	++	98,27	99,32
Rifamicina al 1 %	+++	++	100,00	100,00
Propóleo al 20 %	++	++	92,59	96,74
Rifamicina al 1 % en Propóleo al 40 % (1:1)	++	++	96,02	98,58

*De la media del halo de inhibición de 32 discos por grupo.

Al efectuar el test de homogeneidad de varianzas de Hartley, Cochran y Bartlett, se hallaron para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ($p = 0,000$) y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 ($p = 0,385$); se observa que las varianzas son iguales, con excepción de *S. aureus* ATCC 25923.

En la tabla 4 y tabla 5, al realizar el ANOVA de una vía, se determinaron ($p < 0,05$), que indica diferencias significativas entre los grupos de ensayo sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Tabla 4 – Anova de un factor de los grupos de ensayo sobre *S. aureus* ATCC 25923

Comparación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.*
Inter – grupos	10531,672	5	2106,334	12517,750	0,000
Intra – grupos	31,298	186	0,168	-	-
Total	10562,970	191	-	-	-

*De 192 discos por 6 grupos de ensayo

Al aplicar el *post-hoc* T3 de Dunnett, se halló que todos los grupos presentan diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$), sobre *S. aureus* ATCC 25923.

Tabla 5 – Anova de un factor de los grupos de ensayo sobre *S. pyogenes* ATCC 19615

Comparación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.*
Inter – grupos	10689,575	5	2137,915	16318,747	0,000
Intra – grupos	24,368	186	0,131		
Total	10713,942	191			

*De 192 discos por 6 grupos de ensayo

Al aplicar el *post-hoc* HSD de Tukey, se encontró que todos los grupos muestran diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), sobre *S. pyogenes* ATCC 19615, con excepción del grupo III: control positivo 1 con grupo IV: control positivo 2 ($p = 0,674$); grupo III: control positivo 1 con grupo VI: experimental 2 ($p = 0,584$) que son estadísticamente iguales.

DISCUSIÓN

Por sus características geográficas y climáticas, Perú presenta una alta diversidad de recursos naturales, cultivos y plantas medicinales, los cuales aportan facilidades para el desarrollo de una apicultura sostenible.⁽³²⁾ En la comunidad campesina de Pargay, distrito de Chuquibambilla, provincia de Grau, departamento y región de Apurímac en Perú, se promueve la siembra de distintas especies vegetales.^(22,32) Por ello que en la evaluación fitoquímica se detectaron abundantes compuestos fenólicos y mediana cantidad de taninos, flavonoides, alcaloides, triterpenoides y glicósidos cardiotónicos, responsables en conjunto del efecto antibacteriano.^(4,5,7,9)

Al realizar la mezcla rifamicina al 1 % en propóleo al 40 % (1:1), no se apreciaron precipitados ni grumos, debido a que la rifamicina es soluble en alcohol etílico,^(16,18) y la prueba de solubilidad confirmó la amplia solubilidad del propóleo en el mismo solvente.^(3,10,13)

Para *Stepanović* y otros,⁽⁸⁾ *Fernandes* y otros,⁽¹⁰⁾ y *Krol*,⁽²¹⁾ la asociación del propóleo con algunos antibióticos tendría un uso potencial para el tratamiento de afecciones bacterianas resistentes a los

antimicrobianos tópicos tradicionales y podría conducir a una nueva opción para combatir a estos patógenos.⁽³³⁾ En los resultados de las tablas 2 y 3 se puede apreciar que la combinación de rifamicina al 1 % en propóleo al 40 % (1:1) mejoró el efecto antibacteriano del propóleo al 20 % alcanzando $19,316 \pm 0,1202$ mm (96,02 %) y $19,613 \pm 0,0820$ mm (98,58 %) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Los resultados indican que rifamicina al 1 % logró $20,116 \pm 0,0652$ mm y $19,894 \pm 0,0823$ mm (100 %). Es ligeramente superior a la combinación de rifamicina al 1 % en propóleo al 40 % (1:1) sobre las cepas en estudio, de esta forma se verificó el efecto sinérgico.^(12,16) Sin embargo, se consideró como resultados preliminares y es necesario establecer la base molecular del efecto sinérgico sobre los microorganismos en estudio.

En el caso del *S. aureus* ATCC 25923, se utilizó el *post-hoc* T3 de Dunnett, al hallarse ($p = 0,000$) con Hartley, Cochran y Bartlett, indicando que las varianzas no son homogéneas. En relación al ANOVA de una vía y posterior HSD de Tukey se pudo apreciar que el efecto antibacteriano de la rifamicina al 0,5 % es similar a la rifamicina al 1 % y a la combinación de rifamicina al 1 % en propóleo al 40 % (1:1), sobre *S. pyogenes* ATCC 19615.

Oryan y otros,⁽⁶⁾ y Tito y otros,⁽¹¹⁾ han demostrado la efectividad del propóleo en el tratamiento tópico de heridas complejas agudas o crónicas de diferentes etiologías, hasta su rehabilitación definitiva; disminuye el tiempo de cicatrización y puede ser aplicado solo o en asociación. Los resultados así como la de Oryan y otros,⁽⁶⁾ Nazeri y otros,⁽⁹⁾ y Tito y otros,⁽¹¹⁾ son alentadores, para la elaboración de un preparado y por medio de pruebas clínicas estructuradas definir su eficacia real.

Estos estudios podrían determinar el potencial uso clínico del propóleo en combinación con ciertos antibióticos para tratar infecciones tópicas estafilocócicas y estreptocócicas. Dado que las bacterias pueden ser resistentes a diferentes fármacos antimicrobianos, el sinergismo descrito en la investigación es de relevancia y el propóleo puede constituir una alternativa para tratar dichas afecciones.

Se concluye que la combinación de rifamicina al 1 % unida al propóleo al 40 % presenta una mayor actividad antibacteriana in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 debido a su efecto sinérgico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blackbourne LH, Baer DG, Eastridge BJ, Kheirabadi B, Bagley S, Kragh JF Jr, et al. Military medical revolution: prehospital combat casualty care. *J Trauma Acute Care Surg.* 2012 [acceso: 06/07/2021]; 73(6 Suppl 5): S372-S377. Disponible en: https://journals.lww.com/jtrauma/Fulltext/2012/12005/Military_medical_revolution_Prehospital_combat_casualty_care.2.aspx
2. Martínez J, García C, Durango D, Gil J. Caracterización de propóleos provenientes del municipio de Caldas obtenido por dos métodos de recolección. *Rev. MVZ Córdoba.* 2012 [acceso: 01/03/2021]; 17(1): 2861-2869. Disponible en: <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/254/323>
3. Rodríguez L, Miranda A, Escalona A, Góngora W, Batista S, Cobos D. Investigación básica experimental para la definición de los parámetros críticos en el proceso de obtención de soluciones concentradas de propóleos (SCP). *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.* 2016 [acceso: 01/03/2021]; 45(2): 179-200. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v45n2/v45n2a01.pdf>
4. Chen Y, Ye S, Ting C, Yu Y. Antibacterial activity of propolins from Taiwanese green propolis. *Journal of food and drug analysis.* 2018 [acceso: 02/03/2021]; 26(2):761–8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29567247/>
5. Hegazi A, Abd El Hady F, Abd Allah F. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of European Propolis. *Zeitschrift für Naturforschung C.* 2000 [acceso: 02/03/2021]; 55(1-2):70-5. Disponible en: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/znc-2000-1-214/html>
6. Oryan A, Alemzadeh E, Moshiri A. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. *Biomedicine & pharmacotherapy.* 2018 [acceso: 02/03/2021]; 98(1): 469–483. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29287194/>
7. Przybyłek I, Karpiński T. Antibacterial Properties of propolis. *Molecules (Basel, Switzerland).* 2019 [acceso: 02/03/2021]; 24(11): 1-17. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6600457/>
8. Stepanović S, Antić N, Dakić I, Svabić-Vlahović M. In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiol Res.* 2003 [acceso: 03/03/2021];158(4): 353-7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14717457/>

9. Nazeri R, Ghaïour M, Abbasi S. Evaluation of Antibacterial Effect of propolis and its Application in Mouthwash Production. *Frontiers in dentistry*. 2019 [acceso: 03/03/2021]; 16(1): 1–12. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31608331/>
10. Fernandes A, Balestrin E, Betoni J, Orsi R, Da Cunha M, Montelli A. propolis: anti-*Staphylococcus aureus* activity and synergism with antimicrobial drugs. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2005 [acceso: 03/03/2021];100(5): 563-6. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762005000500018
11. Tito H, Amoroso A, Aponte P, Ross N, Olivero F. Utilización de propóleos en heridas complejas. *Rev. Argent. Ciruj. Plást*. 2017 [acceso: 04/03/2021]; 23(2):65-71. Disponible en: http://adm.meducatum.com.ar/contenido/articulos/12200650071_833/pdf/12200650071.pdf
12. Takaisi-Kikuni N, Schilcher H. Electrón microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. *Planta Med*. 1994 [acceso: 04/03/2021]; 6(3): 222-7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8073087/>
13. Okińczyk P, Paluch E, Franiczek R, Widelski J, Wojtanowski K, Mroczek T, et al. Antimicrobial activity of *Apis mellifera* L. and *Trigona* sp. propolis from Nepal and its phytochemical análisis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020 [acceso: 04/03/2021]; 129(1): 1-10. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332220306284>
14. Sáenz E, Sánchez L. Antibióticos tópicos. *Dermatología Peruana*. 2005 [acceso: 05/03/2021];15(1):7-20. Disponible en: https://www.dermatologiaperuana.pe/assets/uploads/revista_a1XZ_a02.pdf
15. Katzung B. *Farmacología Básica y Clínica*. 14 ed. España: Editorial McGraw-Hill; 2019.
16. Centro Nacional de Información Biotecnológica. Rifamicina. USA: PubChem; 2021. [acceso: 05/03/2021]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rifamycin>
17. Dinç C, Tuncer C, Türkođlu ME, Tokmak M, Ocak P, Er U. Effect of topical rifamycin application on epidural fibrosis in rats. *Turk J Phys Med Rehabil*. 2019 [acceso: 05/03/2021]; 65(1):24-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6648180/>
18. Merck KGaA. Rifamycin SV sodium salt. Germany: Sigma-Aldrich; 2021. [acceso: 05/03/2021]. Disponible en:

https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/r8626?lang=en®ion=PE&cm_sp=Insite- -caContent_prodMerch_gruCrossEntropy- -prodMerch10-2

19. González J, Maguiña C, González F. La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. Acta Méd. Perú. 2019 [acceso: 06/03/2021]; 36(2):145-51. Disponible en:

<https://amp.cmp.org.pe/index.php/AMP/article/view/816/375>

20. Serra M. La Resistencia microbiana en el context actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Rev. Haban. Cienc. Méd. 2017 [acceso: 06/03/2021];16(3): 402-19. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011

21. Krol W, Scheller S, Shani J, Pietsz G, Czuba Z. Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of *Staphylococcus aureus*. Arzneimittelforschung. 1993 [acceso: 06/03/2021]; 43(5):607-9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8329008/>

22. Vilchez H, Cervantes L, Inocente M. Uso de la miel de *Apis mellifera* en agar base para diferenciar cepas bacterianas con características oxidativa-fermentadora. Ars Pharmaceutica. 2019 [acceso: 07/03/2021]; 60(2):119-124. Disponible en:

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2340-98942019000200119

23. Bravo L. Farmacognosia. 1ed. Madrid: Editorial Elsevier; 2003.

24. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica: Métodos de estudios de productos naturales. 3ed. Lima: Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.

25. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. M02, 13th ed. USA: CLSI; 2018. [acceso: 07/03/2021]. Disponible en:

[https://kaldur.landspitali.is/focal/gaedahandbaekur/gnhyskla.nsf/5e27f2e5a88c898e00256500003c98c2/94e1f81249a5e5560025756d005a560f/\\$FILE/M02Ed13E%20Performance%20Standards%20for%20Antimicrobial%20Disk%20Susceptibility%20Tests.pdf](https://kaldur.landspitali.is/focal/gaedahandbaekur/gnhyskla.nsf/5e27f2e5a88c898e00256500003c98c2/94e1f81249a5e5560025756d005a560f/$FILE/M02Ed13E%20Performance%20Standards%20for%20Antimicrobial%20Disk%20Susceptibility%20Tests.pdf)

26. Laboratorios Britania. Medios de cultivo deshidratados. Argentina: Britania; 2015. [acceso: 07/03/2021]. Disponible en:

https://www.britanialab.com/productos/filtrar/2/medios_de_cultivo_deshidratados

27. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. Diagnóstico Microbiológico. Texto y atlas color. 6 ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2006.

<http://scielo.sld.cu>

<http://www.revmedmilitar.sld.cu>

28. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100, 30th ed. USA: CLSI; 2020. [acceso: 07/03/2021]. Disponible en: <https://www.nih.org.pk/wp-content/uploads/2021/02/CLSI-2020.pdf>
29. Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3a ed. Ginebra: OMS; 2005.
30. Cruz A, Rodríguez N, Rodríguez C. Evaluación *In vitro* del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana cámara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. Rev. U.D.C.A Act. Div. Cient. 2010 [acceso: 09/03/2021];13(2):117-24. Disponible en: <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/738/788>
31. Duraffourd C, D'hervocourt L, Lapraz J. Cuadernos de fitoterapia Clínica. 1ed. Barcelona: Editorial Masson; 1986.
32. Ministerio de Agricultura y Riego. Plan Nacional de Desarrollo Apícola. 2015-2025. Perú: Minagri; 2015. [acceso: 10/03/2021]. Disponible en: <https://bit.ly/2DXZ5ew>
33. Bearden DT, Allen GP, Christensen JM. Comparative *in vitro* activities of topical wounds care products against community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Antimicrod. Chemother. 2008 [acceso: 11/03/2021]; 62(2): 915-23. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2721705/>

Conflictos de intereses

Los investigadores declaran no tener conflictos de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: *Héctor Alexander Vilchez Cáceda*.

Curación de datos: *Héctor Alexander Vilchez Cáceda*.

Análisis formal: *Luis Adolfo Cervantes Ganoza*.

Investigación: *Héctor Alexander Vilchez Cáceda*.

Metodología: *Héctor Alexander Vilchez Cáceda*.

Administración del proyecto: *Héctor Alexander Vilchez Cáceda*.

<http://scielo.sld.cu>

<http://www.revmedmilitar.sld.cu>

Bajo licencia Creative Commons

Recursos materiales: *Luis Adolfo Cervantes Ganoza.*

Supervisión: *Héctor Alexander Vilchez Cáceda.*

Validación: *Héctor Alexander Vilchez Cáceda.*

Visualización: *Luis Adolfo Cervantes Ganoza.*

Redacción – borrador original: *Luis Adolfo Cervantes Ganoza.*

Redacción – revisión y edición: *Héctor Alexander Vilchez Cáceda.*