

Evaluación preliminar de actividad antibacteriana *in vitro* del veneno de escorpión *Hadruroides charcasus* (Karsch, 1879) contra *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*

Preliminary evaluation of the *in vitro* antibacterial activity of the scorpion venom *Hadruroides charcasus* (Karsch, 1879) against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*

Orlando Pérez-Delgado^{1,a}, Martha Arminda Espinoza-Vergara^{2,b}, Nohora Angélica Castro-Vega^{3,c}, Edgar Antonio Reyes-Montaño^{3,c}

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* veneno de *Hadruroides charcasus* contra a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. **Material y métodos.** Por estimulación eléctrica se obtuvo el veneno del escorpión *H. charcasus* y posteriormente fue cuantificado por el método de relación de absorbancias, [mg/mL] = (1,56 x Abs 280nm) - (0,76 x Abs 260nm). Se realizó electroforesis, en condiciones desnaturantes (PAGE-SDS), usando un gel del 10 % y 12 % de entrecruzamiento. A través del sistema Amicon® Ultra - 0.5, se hizo la concentración de las fracciones de proteínas y péptidos. Para evaluar la actividad antibacteriana se empleó cepas de *P. aeruginosa* y *S. aureus*, se hizo el método de microdilución en microplaca de 96 pozos para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI). **Resultados.** La fracción soluble del veneno total presentó una concentración de 2,26 mg/mL y por PAGE-SDS, se observaron bandas con un rango peso molecular entre 7,0 - 9,1 kDa. Se obtuvo una CMI de 0,07 mg/mL y de 0,565 mg/mL para *P. aeruginosa* y *S. aureus* una CMI de 0,035 mg/mL **Conclusión.** el veneno del escorpión *H. charcasus* mostró actividad antibacteriana, con una concentración mínima inhibitoria diferente para cepas tanto *S. aureus* como para *P. aeruginosa*.

Palabras clave: *Hadruroides charcasus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, antibacteriano, veneno de escorpión (Fuente: DeCS-BIREME).

ABSTRACT

Objective: To evaluate the *in vitro* antibacterial activity of *Hadruroides charcasus* venom against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **Material and methods.** The venom of the scorpion *H. charcasus* was obtained by electrical stimulation and subsequently it was quantified by the absorbance ratio method, [mg / mL] = (1.56 x Abs 280nm) - (0.76 x Abs 260nm). Electrophoresis was performed under denaturing conditions (PAGE-SDS), using a 10% gel and 12% crosslinking. Through the Amicon® Ultra-0.5 system, the concentration of protein and peptide fractions was

made. To evaluate the antibacterial activity, strains of *P. aeruginosa* and *S. aureus* were used; the microdilution method was carried out in a 96-well microplate to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). **Results** The soluble fraction of the total venom showed a concentration of 2,26 mg/mL and by PAGE-SDS, bands with a molecular weight range between 7.0-9.1 kDa were observed. An MIC of 0,07 mg / mL and 0,565 mg / mL for *P. aeruginosa* and *S. aureus* was obtained with a MIC of 0,035 mg/mL. **Conclusion.** The scorpion venom *H. charcasus* showed antibacterial activity, with a different minimum inhibitory concentration for both *S. aureus* and *P. aeruginosa* strains.

Keywords: *Hadruroides charcasus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, antibacterial, scorpion venom. (Source: DeCS-BIREME).

1. Facultad de Medicina, Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, Chiclayo, Perú.
2. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú
3. Grupo de Investigación en Proteínas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
a. Magister en Microbiología.
b. Doctora en Microbiología.
c. Doctor en Ciencias Químicas.

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus y *Pseudomonas aeruginosa*, son bacterias que tienen una gran variedad de factores patogénicos, y causan las infecciones de los tractos respiratorio, urogenital y de la piel. Pueden ocasionar endocarditis y bacteriemia, lo que muestra que se pueden encontrar en los ambientes hospitalarios contaminando equipos, fómites, utensilios, ropa, pisos; etc. Estas bacterias llegan a los pacientes reinfectándolos o causándoles nuevas infecciones que tienen un curso fulminante y una letalidad extremadamente alta a pesar de un tratamiento con antibióticos^(1,2).

La resistencia de dichas bacterias a los antibióticos de uso frecuente, se explica en la hiperproducción de β -lactamasas, modificación de las proteínas de unión a la penicilina (PBPs) y en la resistencia intrínseca a la metilicina⁽³⁾, en el caso de *S. aureus*. Para *P. aeruginosa*, se explica en mutaciones y en la adquisición de nuevos genes plasmidiales que portan una resistencia adquirida⁽⁴⁾. Por ello, para el tratamiento de las diferentes infecciones que provocan, se aplican nuevos y más potentes antibióticos.

En Perú, a través del Instituto Nacional de Salud y con los aportes de los diferentes laboratorios de los principales hospitales se ha reportado la resistencia antibiótica en bacterias tales como *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* en comparación con otras cepas también aisladas, pero con poca frecuencia en resistencia antibiótica⁽⁵⁾. En Lambayeque existen reportes sobre resistencia antibiótica de *S. aureus* y *P. aeruginosa*^(6,7).

Algunos estudios han mostrado que el veneno de escorpión posee actividad antibacteriana *in vitro* frente a diferentes cepas de importancia en salud, se ha reportado que el veneno del escorpión chino *Mesobuthus martensii* (Karsch, 1879), posee el péptido denominado BmKn2, que tiene una mayor actividad microbiana frente a bacterias Gram positivas⁽⁸⁾, también fracciones del veneno del escorpión *Centruroides tecomanus* (Hoffmann, 1932) poseen actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *P. aeruginosa*⁽⁹⁾, además los péptidos denominados AamAP1 y AamP2 del escorpión norafricano *Androctonus amoreuxi* (Audouin, 1826), presentaron una mayor actividad contra *S. aureus*⁽¹⁰⁾. El veneno del escorpión *Vaejovis mexicanus* (Koch, 1836), fue más eficaz con bacterias Gram negativas, entre ellas *P. aeruginosa*, incluso con cepas multidrogorresistentes⁽¹¹⁾.

En el Perú se han realizado trabajos de investigación sobre toxinas de veneno de escorpión⁽¹²⁾, aislando péptidos con actividad antimicrobiana del veneno de los escorpiones *Hadruroides mauryi* (Francke y Soleglad, 1980) y *Centruroides margaritatus* (Gervais, 1841) frente *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Bacillus cereus* y *S. aureus*⁽¹³⁾. Además, en la región Lambayeque,

particularmente en el distrito de Chongoyape existe la presencia de una de las especies de escorpión, identificado como *H. charcasus*, en el cual se ha reportado mediante un estudio de PAGE-SDS la presencia de proteínas y péptidos⁽¹⁴⁾. Su estudio es de gran importancia para buscar alternativas terapéuticas contra microorganismos resistentes a los antibióticos. El propósito de este estudio fue evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del veneno de escorpión *H. charcasus* contra *S. aureus* y *P. aeruginosa*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo y diseño de estudio: estudio experimental

Población:

Cuarenta escorpiones de la especie *H. charcasus*, de ambos sexos fueron colectados en cerros aledaños del distrito de Chongoyape ubicado en la latitud 6° 37' 40.0" y longitud 79° 25' 21.4" y las especies fueron mantenidos en el laboratorio en frascos de plástico y alimentados con *Acheta domesticus* (grillos). Para su identificación se empleó la clave para géneros de escorpiones peruanos⁽¹⁵⁾ y, las orientaciones para la identificación de la especie y el sexo fueron realizadas por el Dr. José Ochoa Cámara, taxónomo y docente de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Obtención del veneno

El veneno se obtuvo por estimulación eléctrica de cada uno de los escorpiones, sobre la parte dorsal y en la glándula productora de veneno⁽¹⁶⁾, utilizando un impulso de 23 voltios. La muestra de veneno fue colectada en cinco tubos eppendorf de 0,2 mL (Figura N°1) y posteriormente diluida con agua desionizada, se centrifugó a 6000 rpm durante 5 minutos y el pellet fue resolubilizado con agua desionizada. El procedimiento fue repetido cinco (5) veces con el objetivo de obtener una mayor cantidad de material soluble. Las fracciones solubles fueron almacenadas en un pool a -20 °C.

Cuantificación, identificación y estimación de pesos moleculares de los componentes proteicos del veneno La cuantificación de la proteína se realizó por el método de absorción (SmartSpec Plus Spectrophotometer - BioRad) empleando la relación: [mg/mL] = (1,56 x Abs 280nm) - (0,76 x Abs 260nm)⁽¹⁷⁾. Cada una de las muestras cuantificadas por este método eran incoloras y traslucidas por lo tanto no se presentaron interferentes en la región de 220-280nm.

Para la identificación y estimación de los pesos moleculares de las bandas de los componentes proteicos del veneno^(18,19) se emplearon 50 μ g de proteínas totales, se realizó una PAGE-SDS-tricina en condiciones desnaturantes, usando geles de 10 % y 12 % de entrecruzamiento y con un marcador de peso molecular (Bio-Rad) constituido con un mezcla de 10 proteínas recombinantes de pesos moleculares precisos (10-250 kDa), la corrida electroforética se realizó a voltaje constante, (100 voltios) durante 90 minutos. Se

empleó el método de ultrafiltración a través del sistema Amicon® Ultra - 0,5, para concentrar las fracciones del veneno. La tinción de los geles se realizó con plata y los geles se analizaron usando el programa Quantity One 4.6.7

Actividad antibacteriana del veneno *Hadruroides charcasus* contra cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*

Para la preparación del agente antibacteriano, se empleó el pool de las fracciones solubles del veneno y la concentración de proteínas fue de 2,26 mg/mL se realizaron diluciones doble seriadas, obteniendo concentraciones de 1,13 mg/mL 0,565 mg/mL 0,283 mg/mL 0,141 mg/mL 0,07 mg/mL 0,035 mg/mL 0,017 mg/mL 0,008 mg/mL y 0,004 mg/mL.

En los ensayos se emplearon dos cepas de *S. aureus* y dos cepas de *P. aeruginosa*, que fueron obtenidas de un Laboratorio de Investigación de un Hospital de la región Lambayeque, Chiclayo, Perú.

Se preparó una suspensión bacteriana, se tomaron 3 Unidades Formadores de Colonia (UFC) de 24 h CLSI. Se suspendieron en 5 mL de caldo Mueller-Hinton y con ayuda del espectrofotómetro (Spectrophotometer UNICOTM UV/VIS) a una longitud de onda de 625 nm, se ajustó a una densidad óptica de 0,08 - 0,1 equivalente a la turbidez del tubo N° 0,5 de la escala de Mc Farland equivalente a una concentración aproximadamente de 1-2 x 10⁸ UFC/mL. Posteriormente se realizó una dilución 1:20 para alcanzar una concentración de 5 x 10⁶ UFC/mL⁽²⁰⁾.



Figura N°1. Veneno de escorpión *Hadruroides charcasus*

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria⁽²⁰⁾, se realizaron ensayos por triplicado sembrando 50 µL del inóculo conteniendo 5x10⁵ UFC/mL en cada pocillo, luego se repartieron 50 µL de cada dilución del veneno en cada pocillo de la microplaca, después se incubaron las microplacas a 37 °C durante 24 horas. Los controles positivos se hicieron con el caldo más inóculo, y los controles negativos con sólo caldo. El crecimiento del control positivo se determinó por un botón de crecimiento de ≥ 2 mm o una turbidez definida.

Análisis estadístico: Para determinar la relación de la actividad antibacteriana in vitro del veneno del escorpión *H. charcasus* en el crecimiento de *P. aeruginosa* y *S. aureus*, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación de P < 0,05.

Aspectos éticos: fue revisado y aprobado por la facultad de medicina de la Universidad Santo Toribio de Mogrovejo.

RESULTADOS

En la figura N°2 de la electroforesis PAGE-SDS-tricina al 10%, se muestra un perfil electroforético en cinco carriles (C1, C2, C3, C4 y C5) con la presencia entre 15 a 18 bandas proteicas, siendo de interés las bandas de 8,0; 9,0 y 10 KDa y la figura 3 se muestran el número de bandas agrupados de acuerdos a sus pesos moleculares

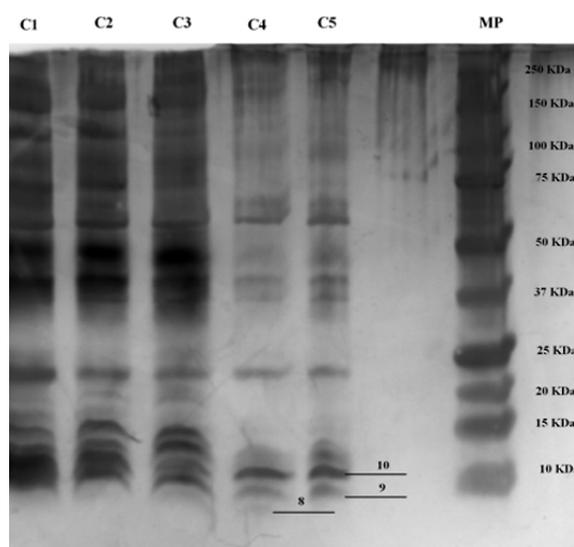


Figura N°2. Perfil electroforético de proteínas del veneno de *H. charcasus* en PAGE-SDS-tricina al 10 % en condiciones desnaturalantes. En los carriles del C1 - C5, son las fracciones solubles del veneno crudo de los cinco tubos eppendorf de 0,2 mL; en carril MP el marcador de peso molecular Bio-Rad (10 - 250 KDa).

siendo de alto, intermedio y bajo.

En la figura N°4 de la electroforesis PAGE-SDS-tricina al 12% se muestra un perfil electroforético en el carril del difusato del centricon Amicon® Ultra - 0,5 de 10K, se encontró la presencia de tres bandas de bajo peso molecular de 7,0; 8,3 y 9,1 KDa.

Actividad antibacteriana

En la tabla 1 para la evaluación de la actividad antibacteriana el veneno del escorpión *H. charcasus* presenta una CMI de 0,07 mg/mL y de 0,565 mg/mL contra las dos cepas de *P. aeruginosa*. Fue diferente para las dos cepas de *S. aureus* mostrando una CMI a una concentración de 0,035 mg/mL para una sola cepa.



Figura N°3. Diferente clases de bandas proteicas del veneno del escorpión *H. charcasus* en relación a sus pesos moleculares.

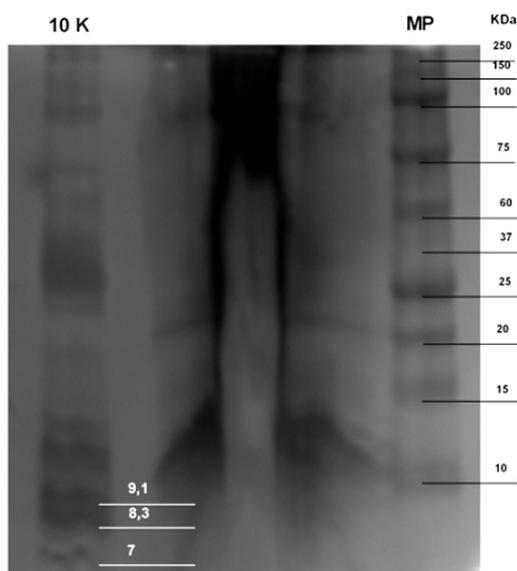


Figura N°4. Perfil electroforético de proteínas del veneno de *H. charcasus* del difusato de 10K en PAGE-SDS-tricina al 12%, en condiciones desnaturalantes. En el carril MP patrón de peso molecular Bio-Rad (10 - 250 KDa).

Tabla N° 1. Concentración mínima inhibitoria (CMI) para las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Cepas	CMI [mg/mL]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CEPA1	0,07
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CEPA2	0,565
<i>Staphylococcus aureus</i> CEPA1	0,035
<i>Staphylococcus aureus</i> CEPA2	NP

NP: no presentó CMI

DISCUSIÓN

La resistencia antibacteriana de *P. aeruginosa* viene evolucionando de manera intrínseca y adquirida frente a diferentes antibióticos, que hace imposible su erradicación y es responsable del 10% de todas las infecciones adquiridas en el hospital en todo el mundo⁽²¹⁻²³⁾, por otro lado *S. aureus* también puede adquirir resistencia a antibióticos, lo que puede convertirse en un problema de salud pública, siendo responsables las meticilino resistente (SARM)^(24,25). Por tal motivo varios estudios informaron opciones de tratamiento complementarias y alternativas para combatir las infecciones ocasionadas por estas bacterias, como los péptidos antimicrobianos presentes en el veneno de los escorpiones^(11,12).

En el presente estudio, en el veneno de *H. charcasus*, se determinó la presencia de péptidos de 7,0; 8,3; 9,1 KDa, lo cual es característico de otros venenos de escorpiones con péptidos que contienen cisteínas y suelen tener 3 o 4 puentes disulfuro y se han caracterizado por interactuar con los canales iónicos Na⁺, K⁺, Ca²⁺ y Cl⁻, tal como de *Heterometrus laoticus* con el péptido Heteroscorpina de 8,3 KDa como también las bactridinas de *Tityus discrepans* Bact-1 de 6,9 KDa y Bact-2 de 7,4 KDa y las opiscorpinas de *Opisththalmus carinatus*, Opiscorpina-1 de 8,4 KDa, Opiscorpina-2 de 8,3 KDa, Opiscorpina-3 de 8,3 KDa, Opiscorpina-4 de 8,4 KDa, de los péptidos mencionados son considerados como péptidos antimicrobianos denominados también como defensinas^(26,27,28).

Por otra parte, se evaluó el efecto antibacteriano in vitro del veneno del escorpión *H. charcasus* frente a cepas de *S. aureus* y *P. aeruginosa*, dicho efecto resultó ser tanto inhibitorio del crecimiento. Es probable que el efecto sea por la presencia de los péptidos presentes en el veneno, los cuales debido a su naturaleza catiónica pueden interactuar por interacciones tipo electrostática con la membrana plasmática de bacterias, hongos u otras células y formar poros que dañan la permeabilidad celular⁽²⁹⁾, como también tienen la característica de ser anfipáticos de carga positiva y se clasifican en tres categorías de acuerdo a

sus propiedades estructurales: péptidos conteniendo cisteína con puentes disulfuro, péptidos con una α -hélice anfipática y otros sin residuos de cisteína y ricos en otros aminoácidos como prolina y glicina⁽³⁰⁾.

Se encontró que en el veneno de *H. charcasus* hay bandas de bajo peso molecular, lo que sugiere la existencia de péptidos probablemente con efecto antimicrobiano variable sobre las cepas probadas. En otros estudios, se determinó que péptidos presentes en el veneno de *Opisthacanthus madagascariensis* de 1,5 kDa inhiben el crecimiento tanto de bacterias Gram positivas como las de Gram negativas⁽³¹⁾. Otro ejemplo se evidencia con péptidos de 4,8 kDa presentes en el veneno de *Vaejovis mexicanus*, los cuales inhiben de cepas de *P. aeruginosa*⁽¹¹⁾. La variabilidad de los pesos moleculares de los péptidos con actividad antibacteriana presentes en los venenos, se pone de manifiesto en el veneno del escorpión de *Centruroides margaritatus* donde péptidos de 7,3 kDa tiene efectos más bacteriostáticos que bactericidas⁽³²⁾ y finalmente los estudios del veneno de *Hadrurus aztecus* demostraron que péptidos de 4,4 kDa en altas concentraciones inhiben completamente el crecimiento de *P. aeruginosa*⁽³³⁾.

Los resultados nos muestran que las cepas de *P. aeruginosa* fueron más sensibles al veneno del escorpión *H. charcasus* que las cepas de *S. aureus* esto es observado en otros estudios^(34,35) pero a la actualidad se desconoce la predilección de estos componentes tanto envolturas de bacterias gram negativas y gram positivas, lo que se conoce que los componentes del veneno pueden dañar o destruir la membrana mediante la formación de canales (poros)⁽³⁰⁾.

En otros estudios se han encontrado que los péptidos antimicrobianos del veneno de escorpión poseen carga positiva, como en la especie *Heterometrus spinifer* llamado HsAp, HsAp2, HsAp3 y HsAp4⁽³⁶⁾. Algunos péptidos tienen puentes disulfuro, otros forman una α -hélice anfipática y no tienen residuos de cisteína y también hay péptidos ricos en aminoácidos tales como prolina y glicina⁽²⁹⁾. De acuerdo con la estructura de los péptidos que componen los venenos se presentan una mayor actividad antimicrobiana sobre bacterias Gram positivas que sobre Gram negativas⁽³³⁾, otros sobre Gram negativas⁽³⁷⁾ y algunos sobre Gram positivas y Gram negativas^(28,37,38), incluso se ha demostrado que las fracciones de un mismo veneno difieren en su efecto sobre distintas especies bacterianas^(13,31). Por tanto, una caracterización del veneno sería de gran utilidad para explicar con mayor precisión su efecto⁽³⁹⁻⁴¹⁾.

Conflictos de interés: Los autores no declaramos no presentar conflictos de interés potenciales con respecto a la investigación, autoría y/o publicación de este artículo.

Financiamiento: Autofinanciado.

Agradecimiento: Agradecimiento al Grupo de Investigación en Proteínas de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, por el apoyo técnico, científico y logístico realizado a la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Luján DA, Ibarra JO, Mamani E. Resistencia a los antibióticos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital universitario en Lima, Perú. *Rev Biomed*. 2008; 19: 156-160.
2. Bustos JA, Hamdan A, Gutiérrez M. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Rev Biomed*. 2006; 17: 287-305.
3. Gil M. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. *Rev Chil Infect*. 2000; 17(2): 145-152.
4. Nouér SA. Aspectos clínicos e fatores de risco relacionados com colonização ou infecção por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente [Tesis]. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Río de Janeiro, Brasil. 2005. [Citado el 10 de marzo del 2019]. Disponible en: http://pct.capes.gov.br/teses/2005/919673_5.PDF
5. Instituto Nacional de Salud. Informe de la Resistencia Antimicrobiana en Hospitales en Perú [Informe]. 2007. [Citado el 10 de marzo del 2019]. Disponible en: [https://rpmesp.ins.gob.pe/public/journals/1/imágenes/Simpósio/2018-1/Resistencia antimicrobiana Martin Yagui.pdf](https://rpmesp.ins.gob.pe/public/journals/1/imágenes/Simpósio/2018-1/Resistencia%20antimicrobiana%20Martin%20Yagui.pdf)
6. Gastelo-Acosta RM, Díaz-Sipián RS, Maguiña-Vargas C. Carbapenemasas en bacterias Gram negativas no fermentadoras aisladas en servicios críticos del Hospital Regional de Lambayeque, diciembre 2014 - julio 2015. *Acta Med. Perú*. 2016; 33(3): 183-188.
7. Aguilar FR, Niño J, Moreno M. Portadores nasofaríngeos de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* en personal de salud del hospital provincial docente belén de Lambayeque. *Rev Exp Med*. 2015; 1(2): 47-51.
8. Cao L, Dai C, Li Z, Fan Z, Song Y, Wu Y, Cao Z, Li W. Antibacterial Activity and Mechanism of a Scorpion Venom Peptide Derivative In Vitro and In Vivo. *Plos One*. 2012; 7(7): 1-11.
9. Valdez-Velazquez LL, Romero-Gutierrez MT, Delgado-Enciso I, Dobrovinskaya O, Melnikov V, Quintero-Hernández V, et al. Comprehensive analysis of venom from the scorpion *Centruroides tecomanus* reveals compounds with antimicrobial, cytotoxic, and insecticidal activities. *Toxicon*. 2016; 118: 95-103.
10. Almaaytah A, Zhou M, Wang L, Chen T, Walker B, Shaw C. Antimicrobial/cytolytic peptides from the venom of the North African scorpion, *Androctonus amoreuxi*: Biochemical and functional

- characterization of natural peptides and a single site-substituted analog. *Peptides*. 2012; 35: 291-299.
11. Hernández CA, Silva J, Quintero V, Rodríguez A, Balderas C, Possani LD, Gurrola GD. Vejovine, a new antibiotic from the scorpion venom of *Vaejovis mexicanus* *Toxicon*. 2011; 57: 84-92.
 12. Escobar E, Velasquez L, Rivera C. Separación e identificación de algunas toxinas del veneno de *Centruroides margaritatus* (Scorpiones: Buthidae) *Rev. peru. biol.* 2003; 10(2): 217 - 220.
 13. Escobar E, Flores L, Rivera C. Péptidos antibacterianos de los venenos de *Hadruridos mauryi* y *Centruroides margaritatus*. *Rev. Peru. biol.* 2008; 15(1): 139-142.
 14. Pérez O. Patrón Electroforético de Proteínas del veneno de escorpión *Hadruridos charcasus*. *Rev. Tzhoecon*. 2013; 5(1): 17 - 33.
 15. Francke O. Escorpiones y escorpionismo en el Perú VI, Lista de especies y claves para identificar las familias y los géneros, *Rev. Peru. Ento.* 1977; 20(1): 73-76.
 16. Zavaleta A. El veneno del escorpión: Bioquímica y Farmacología, *Boletín de Lima* 30. 1983: 75-88
 17. Fernández E, Galván A. Métodos para la cuantificación de proteínas. [Informe]. 2017. [Citado el 10 de marzo del 2019]. Disponible en: https://www.academia.edu/13509511/27_M%C3%A9todos_para_la_cuantificaci%C3%B3n_de_prot%C3%ADnas
 18. Schägger H. Tricine-SDS-PAGE *Nature protocols* 2006; 1(1):16 - 23.
 19. Shevchenko A, Wilm M, Vorm O, Mann M. Mass Spectrometric Sequencing of Proteins from Silver-Stained Polyacrylamide Gels. *Anal. Chem.* 1996; 68: 850 - 858.
 20. Clinical and Laboratory Standards Institute. Métodos de dilución para determinar la sensibilidad a los antimicrobianos de bacterias que crecen en condiciones aeróbicas. [Informe]. 2012. [Citado el 10 de marzo del 2019]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>
 21. Sanz-García F, Hernando-Amado S, Martínez JL. Mutational Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* Resistance to Ribosome-Targeting Antibiotics. *Front Genet.* 2018; 9: 451.
 22. Panga Z, Raudonis R, Glick BR, Tong-Jun L, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv.* 2019; 37: 177 - 192.
 23. Chatterjee M, Anju CP, Biswas L, Kumar VA, Mohan CG, Biswas R. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. *Inter. Jour. Med. Microb.* 2016 306: 48-58.
 24. García A, Martínez C, Juárez RI, Téllez R, Paredes MA, Herrera MR. et al. Resistencia a metilicina y producción de biopelícula en aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativa en México. *Biomed.* 2018 39(3): 1-28.
 25. Castro-Orozco R, Villafañe-Ferrer L, Rocha-Jiménez J, Alvis-Guzmán N. Resistencia antimicrobiana en *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*: tendencia temporal (2010-2016) y fenotipos de multirresistencia, Cartagena (Colombia). *Rev. Biosalud.* 2018; 17 (2): 25-36.
 26. Uawonggul N, Sukprasert S, Incamnoi P, Patramanon R, Thammasirak S, Preecharam S, Bunyatratchata W, Kuaprasert B, Daduang J, Daduang S. Bacterial overexpression of recombinant heteroscorpine-1 (rHS-1), a toxin from *Heterometrus laoticus* scorpion venom: trends for antibacterial application and antivenom production. *Biochem Genet.* 2014; 52(11-12): 459 - 73.
 27. Díaz P, D'Suze G, Salazar V, Sevcik C, Shannon JD, Sherman NE, Fox JW. Antibacterial activity of six novel peptides from *Tityus discrepans* scorpion venom. A fluorescent probe study of microbial membrane Na⁺ permeability changes. *Toxicon.* 2009; 54: 802 - 817.
 28. Zhu S, Tytgat J. The scorpine family of defensins: gene structure, alternative polyadenylation and fold recognition. *Cell. Mol. Life Sci.* 2004; 61: 1751e1763.
 29. Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature.* 2012; 415: 389-395.
 30. Harrison PL, Abdel MA, Miller K, Strong PN. Antimicrobial peptides from scorpion venoms. *Toxicon.* 2014; 88: 115 - 137.
 31. Dai L, Corzo G, Naoki H, Andriantsiferana M, Nakajima T. Purification, structure-function analysis, and molecular characterization of novel linear peptides from scorpion *Opisthacanthus madagascariensis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; 293: 1514 - 1522.
 32. Rivera C, Flores L, Pantigoso C, Escobar E. Aislamiento y caracterización de un péptido antibacteriano del veneno de *Centruroides margaritatus*. *Rev. Peru. Biol.* 2010; 17(1): 129 - 132.
 33. Torres A, Gurrola GB, Zamudio FZ, Possani DL. Hadrurin, a new antimicrobial peptide from the venom of the scorpion *Hadrurus aztecus*. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267: 5023-5031.
 34. Zeng CC, Zhou L, Shi W, Luo X, Zhang L, Nie Y, Wang J, Wu Sh, Cao B, Cao H. Three new antimicrobial peptides from the scorpion *Pandinus imperator*. *Peptides.* 2013; 45: 28 - 34.
 35. Guo X, Ma Ch, Du Q, Wei R, Wang L, Zhou M, Chen T, Shaw C. Two peptides, TsAP-1 and TsAP-2, from the venom of the Brazilian yellow scorpion, *Tityus serrulatus*: Evaluation of their antimicrobial and

- anticancer activities. *Biochimie*, 2013; 95; 1784 - 1794.
36. Nie Y, Chun X, Yang Y, Luo F, Luo X, Wu S, Zhang L, Zhou J. A novel class of antimicrobial peptides from the scorpion *Heterometrus spinifer*. *Peptides*. 2012; 38: 389 - 394.
37. Corzo G, Escoubas P, Villegas E, Barnham KJ, Weilan HE, Norton RS, Nakajima T. Characterization of unique amphipathic antimicrobial peptides from venom of the scorpion *Pandinus imperator*. *Biochem. Journal*. 2000; 359: 35-45.
38. Moerman L, Bosteels S, Noppe W, Willems J, Clynen E, Schoofs L, Thevissen K, Tytgat J, Van Eldere J, Van Der Walt J, Verdonck F. Antibacterial and antifungal properties of α -helical, cationic peptides in the venom of scorpions from southern Africa. *Eur. J. Biochem*. 2002; 269: 4799 - 4810.
39. Cao L, Li Z, Zhang R, Wu Y, Li W, Cao Z. StCT2, a new antibacterial peptide characterized from the venom of the scorpion *Scorpiops tibetanus*. *Peptides*. 2012; 36: 213-220.
40. Ramírez S, Jiménez JM, Rivas B, Corzo G, Possani LD, Becerril B, Ortiz E. Peptides from the scorpion *Vaejovis punctatus* with broad antimicrobial activity. *Peptides*. 2015; 73: 51-59.
41. Targino E, Bergamo A, Gomes EC, Lima PR, Silva KJ, Melo T, et al. Structural characterization of a novel peptide with antimicrobial activity from the venom gland of the scorpion *Tityus stigmurus*: Stigmurin. *Peptides*. 2015; 68: 3 - 10. .

Correspondencia

Orlando Pérez-Delgado.

Teléfono: +51985718100

Correo: operezd@gmail.com

Revisión de pares

Recibido: 28/01/2019

Aceptado: 20/03/2019