

Actividad de la miel de abeja y avispa en el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*

Delgado Cervantes Ángel Andrés, Betanzos Corona Pedro Ángel, López Rizo María Fernanda,
Domínguez Olivares Melina, Dorantes Sánchez Lorena Mayela, Jiménez Matías Saraí

Universidad Nacional Autónoma de México. Laboratorio de METODOLOGÍA Científica I. Av. De los
Barrios No. 1. Colonia los reyes Iztacala. Tlalneptla, Edo. De México, CP 54090.

ecojc@unam.mx

Fecha de aceptación: 5 de agosto de 2015

Fecha de publicación: 23 de septiembre de 2015

RESUMEN

La presencia de una alta concentración azúcares como glucosa y fructosa, ácidos orgánicos como el ácido glucónico, flavonoides y la enzima glucosa-oxidasa; sumado a la presencia de bacterias lácticas, son algunos de los factores a los que se les atribuye el efecto antimicrobiano. Se determinó el efecto de dos tipos de miel de abeja, tipo mantequilla originaria de Xico Veracruz, y una originaria de Guerrero y la miel de avispa también de Guerrero en el crecimiento de *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* empleando la técnica de difusión de Kirby-Bauer modificada. La bacteria *S. aureus* resultó ser sensible a la miel tipo mantequilla y con sensibilidad intermedia a la miel de abeja proveniente de Guerrero. *S. typhi* y *E. coli* mostraron una sensibilidad intermedia ante la miel de abeja miel tipo mantequilla y la miel proveniente de Guerrero. Las tres bacterias resultaron resistentes a la miel de avispa.

Palabras clave: bacterias lácticas, bacteriocinas, efecto inhibitorio.

ABSTRACT

The presence of a high concentration of sugars like glucose and fructose, organic acids such as gluconic acid, flavonoids and the enzyme glucose oxidase, coupled with the presence of lactic acid bacteria, are some of the factors that are attributed the antimicrobial effect. The effect of two types of honey, butter originating type Xico Veracruz, and originally from Guerrero and honey wasp Guerrero also in the growth of *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* using diffusion technique of Kirby was determined -Bauer modified. *S. aureus* bacteria proved to be sensitive to the type honey butter and intermediate sensitivity to honey from Guerrero. *S. typhi* and *E. coli* showed an intermediate sensitivity to honey bee honey type butter and honey from Guerrero. The three bacteria were resistant to honey bee.

Key words: lactic bacteria, bacteriocins, inhibitory effect.

INTRODUCCIÓN

En México, las enfermedades respiratorias y del tracto gastrointestinal ocupan los primeros lugares en morbilidad en la población y son la principal causa de consulta médica a nivel de atención primaria y de prescripción antibiótica. Las enfermedades gastrointestinales representan el 20% de la demanda de las consultas en los servicios de salud, afectan principalmente a la población infantil, de tal forma que el 10% corresponde a hospitalizaciones pediátricas, su incidencia como su prevalencia dependen del nivel socioeconómico de los pacientes.

Se estima que en México el 48.09% de las muertes ocasionadas por enfermedades infecciosas intestinales, es en la población de 0 a 14 años. En 2007, 42,940.074 casos de enfermedades nuevas, de las cuales 5,912,952 correspondieron a enfermedades infecciosas intestinales, de lo cual el 46.64% fueron atribuibles al agua, lo que significa que el 6.4% de la morbilidad, se debió a la falta de agua limpia, saneamiento básico y hábitos de higiene adecuados Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) de la Secretaría de la salud. Los patógenos más incidentes son *Aeromonas*; *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Vibrio*, *Campylobacter* y *Yersinia*; se transmiten ya sea por vía fecal-oral, o bien por el consumo de agua y alimentos contaminados.

El género *Salmonella* es el agente causal de la salmonelosis, una enfermedad de gran importancia en salud pública debido al impacto socioeconómico que ocasiona tanto en los países en desarrollo, con importancia en áreas que no han alcanzado las condiciones de saneamiento e higiene adecuados y no cuentan con medidas de salud pública óptimas. Afecta a todos los grupos de edad, con mayor incidencia en los extremos de la vida, en menores de cinco años y mayores de 60 años de edad. Es una enfermedad aguda de distribución mundial, con variaciones en la frecuencia de serotipos de un país a otro, en México, su frecuencia en relación a los meses del año, se ha visto que se intensifica a partir de los meses de abril y mayo alcanzando un pico en julio, con una disminución en septiembre y octubre. Los estados más afectados han sido Tabasco, Coahuila, Chiapas y Quintana Roo (Mead, 1999). La salmonelosis es una enfermedad transmitida por los alimentos, causada por cualquiera de los casi 2 500 serotipos que existen del género *Salomonella*. En México, las especies que se aíslan con mayor frecuencia son *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* y *Salmonella typhi*. La especie *S. typhi* es la responsable de la fiebre entérica o fiebre tifoidea, es una infección sistémica, debido a la invasividad de la bacteria, no siempre ocurre la diarrea, pero generalmente hay ulceración en el epitelio de la submucosa del intestino, después de lo cual entra al torrente circulatorio y se disemina por el cuerpo. Esta septicemia o invasión generalizada puede confirmarse por el cultivo de la bacteria de la sangre, lo cual refleja una bacteremia (Zaidi, 2006).

La fiebre puede ser cíclica, es decir, la temperatura puede incrementarse por las tardes, acompañada de escalofríos, convulsiones y delirio. De hecho, el nombre de la enfermedad proviene del griego *typhus*, o "neblina o humo", que probablemente se usó para describir enfermedades febriles que causan alteraciones mentales. La Organización Mundial de la Salud estima que unos 17 millones de personas se contagian de fiebre tifoidea cada año, de manera particular en países en desarrollo con condiciones sanitarias deficientes.

Escherichia coli, es una bacteria responsable de aproximadamente 630 millones de casos de diarrea en el mundo y entre 5 a 6 millones de muertes al año, afectando principalmente a la población infantil de países en desarrollo (OMS y UNICEF, 2003), pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, se caracteriza por ser una bacteria facultativa, es comensal de animales vertebrados e invertebrados. La mayoría de los tipos, no causan problemas, pero algunos pueden producir enfermedades y causar diarrea, como la diarrea del viajero, otros tipos causan diarrea hemorrágica y a veces puede causar insuficiencia renal y hasta la muerte, generalmente en niños y en adultos con sistemas inmunológicos debilitados. La vía de transmisión es por consumir alimentos que la contienen, los síntomas pueden

incluir náuseas o vómitos, fuertes cólicos abdominales, diarrea líquida o con mucha sangre, cansancio y fiebre (Iguchi *et al.*, 2009).

Otra especie de mayor interés sanitario es *Staphylococcus aureus*, causante de la enfermedad estafilocócica transmitida por alimentos, resulta de la ingestión de enterotoxinas termoestables preformadas por una cepa toxigénica de *S. aureus* que se desarrolla en el alimento; es una de las causas de enfermedad transmitida por alimentos más frecuentes. Generalmente ocurren brotes predominantemente en verano, se ha aislado de manera general de personas involucradas en la preparación de los alimentos. Casi todas las cepas producen un grupo de enzimas y citotoxinas que incluyen 4 hemolisinas (alfa, beta, gamma y delta) nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasas y colagenasa. Se argumenta que la principal función de estas proteínas es convertir los tejidos del huésped en nutrientes requeridos para el desarrollo bacteriano; algunas cepas producen una o más exoproteínas adicionales que incluyen la toxina-1 del shock tóxico estafilocócico (TSST-I) (Paganini, 2006).

La contaminación de alimentos por *S. aureus*, está asociada con una forma de gastroenteritis que se manifiesta clínicamente por un cuadro caracterizado por vómitos (76% de casos) y diarrea (77% de casos). El corto período de incubación de 1-6 horas orienta a la sospecha de enfermedad producida por ingestión de una o más enterotoxinas preformadas en el alimento que ha sido contaminado con cepas de *S. aureus* productor de la misma. Raramente se observan signos de toxicidad sistémica, tales como fiebre e hipotensión, en general es un cuadro autolimitado que típicamente se resuelve en 24- 48 horas desde el inicio. *S. aureus* también se le asocia con enfermedades respiratorias, ocupan los primeros lugares de morbilidad y mortalidad en los países en vías de desarrollo. Las enfermedades respiratorias agudas (ERA) son afecciones del tracto respiratorio que se transmiten de persona a persona. Aunque generalmente son de origen infeccioso, aunque los factores ambientales como la contaminación atmosférica pueden afectar su evolución y gravedad (OMS, 2010). La población con mayor riesgo de fallecer por estas enfermedades son los bebés, los niños, las personas de la tercera edad y las que tienen el sistema inmunológico comprometido, predominantemente en los países de bajos y medianos ingresos (OMS, 2010).

En México, las ERA (también denominadas por la Secretaría de Salud como infecciones respiratorias agudas, IRA) presentan históricamente el mayor número de casos entre las enfermedades transmisibles, lo que las convierte en la primera causa de atención médica, seguidas por las enfermedades diarreicas y las infecciones de vías urinarias (Salud, 2013). Entre 2000 y 2012, el promedio de las tasas de morbilidad (incidencia) fue de 25 505 casos por cada 100 mil habitantes. El repunte observado en 2009 se relacionó con la pandemia de influenza A/H1N1 que se presentó en el país ese año. Si se analiza por entidad federativa, en 2012 las que registraron las menores tasas de morbilidad fueron Chiapas (13 139 casos por 100 mil habitantes), Baja California (15 741) y Veracruz (17 318). En contraste, Sinaloa, Zacatecas y Aguascalientes presentaron los mayores números con 32 743, 34 386 y 35 224 casos por cada 100 mil habitantes, respectivamente (Salud, 2013).

Entre las bacterias de importancia clínica que con mayor frecuencia causan infecciones respiratorias es *Streptococcus pyogenes* y, en los de infecciones respiratorias altas y bajas, el *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* y *S. aureus*. Durante los últimos 20 años se ha observado un aumento de la resistencia antibiótica en cepas de estas bacterias patógenas respiratorias y de afecciones gastrointestinales, asociado a una disminución de la respuesta bacteriológica ante el tratamiento antimicrobiano. Esto sucede por el uso masivo y frecuente de los antimicrobianos, que selecciona cepas resistentes, y luego son portadas en la cavidad nasofaríngea del paciente, transmitidas entre familiares y compañeros de trabajo o escuela, creando un círculo vicioso, aumentando aún más la resistencia y disminuyendo la respuesta clínica, y así incrementando nuevamente el uso de antimicrobianos (Plascencia *et al.*, 2005).

En este nuevo escenario, es importante buscar nuevos metabolitos que pudieran evaluarse ante estos mecanismos principales de resistencia antimicrobiana y opciones terapéuticas, es en este sentido, que el consumo de la miel de abeja recobra importancia en la medicina tradicional; esta se ha sido utilizado en la medicina desde tiempos antiguos, su uso empírico está documentado por muchas culturas a lo largo de la historia y es conocida por sus bondades en infecciones del tracto respiratorio superior y en el tratamiento de heridas, traumatismos, quemaduras, úlceras, infecciones oculares entre otras (Estrada *et al.*, 2005). En Grecia desde tiempos de Hipócrates ya se recomendaba para tratamiento de heridas. En la India, los médicos vedas empleaban vendajes de miel y mantequilla fermentada para curar las heridas infectadas, la costumbre se ha conservado hasta nuestros tiempos, durante la segunda guerra mundial, particularmente en Shanghai, que se utilizó para las heridas de los soldados.

La miel se define como una sustancia dulce sin fermentar, producida por las abejas obreras a partir del néctar de las flores o de exudación de otras partes vivas de las plantas, que las abejas recogen, la transforman y la combinan con otras sustancias específicas dándole una maduración en el panal. La proporción de sus componentes varía según el tipo de néctar con la que ha sido producida, lo cual está directamente relacionado con la flora apícola de la región y las condiciones climáticas (Piana *et al.*, 1988). Se tiene documentada la existencia de una alta concentración de ácidos orgánicos, entre ellos el ácido glucónico en un 3%, producto de la acción de la enzima glucosa-oxidasa; su contenido hídrico oscila entre el 16% al 18%; los azúcares representan del 95% al 99% de la materia seca de la miel (80-82% del total), siendo los dos monosacáridos glucosa y fructosa los más abundantes de un 85-95% de los azúcares totales (Piana, 1988), además de proteínas, minerales, aminoácidos, vitaminas, enzimas como glucosa-oxidasa, amilasa, catalasa y fosfatasa ácida (Olofsson, 2014). Su notable efecto antiséptico se debe a factores físicos y químicos que pueden estar relacionados con diferentes fuentes florales y abejas de diferentes orígenes, en donde su viscosidad provee una barrera contra las infecciones, y por otro lado su osmolaridad provoca la salida de líquidos de los tejidos, creando un ambiente húmedo aséptico que inhibe microorganismos patógenos. Algunos autores atribuyen también su efecto antimicrobiano a su pH ácido y a la presencia de flavonoides, ácidos aromáticos, antioxidantes fenólicos, reconocidos por inhibir un amplio rango de bacterias Gram positivas y Gram negativas (Estrada *et al.*, 2005), y al contenido de peróxido de hidrógeno, resultado de la acción de la enzima oxidasa peroxidasa producida por la abeja melífera.

Se postula que existen dos tipos de cualidades antimicrobianas, la primera tienen su carácter en el peróxido de hidrógeno, producido por la glucosa oxidasa, y la segunda dada por componentes diferentes al peróxido de hidrógeno. Son varios los autores que resaltan su actividad antibacteriana no peróxido como la más importante, debido a que se ha observado que en mieles maduras, la glucosa oxidasa es inactiva, por tanto el peróxido de hidrógeno es insuficiente para inhibir el crecimiento bacteriano, además de que la miel no es sensible a la luz y al calor y puede almacenarse por largos periodos de tiempo. Es así que la presencia de bacterias ácido lácticas, las cuales, se supone, brindan un efecto protector contra poblaciones microbianas externas, las cuales pudieran alterar sus propiedades, se cree también que estas BAL pueden estar estableciendo una simbiosis con las abejas, las cuáles secretan determinados compuestos químicos que pudieran ser los responsables del efecto protector de la miel.

Se sugiere que estas bacterias producen proteínas, como la defensina-1 (Kwakman *et al.*, 2010) además de otros compuestos antimicrobianos, como el ácido láctico, que quizás sean los responsables de la actividad antimicrobiana de la miel. Las bacterias ácido lácticas (BAL) está involucradas en el proceso que siguen las abejas para producir miel desde el inicio de la colecta del néctar. En su estudio, estos autores reconocieron 13 especies de BAL, las cuales varían en concentración, dependiendo del origen del néctar, salud de las abejas y la presencia de otros microorganismos en el néctar. (Olofsson *et al.*, 2014).

Estrada (2005) evaluó el efecto de la miel al diferentes concentraciones de 75, 50, 25, 12.5 y 6.25% (v/v) en *S. aureus*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *Staphylococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus niger*, mostrando un mayor efecto inhibitorio en *S. aureus* a una concentración del 25%, mientras que *L. monocytogenes* mostró resistencia; *A. niger* no fue inhibida al igual que *E. coli* y *S. epidermis* a una concentración del 25 % v/v, mientras que si inhibió a *S. enteritidis* y *P. aeruginosa*.

Zamora (2011) evaluó el efecto antibacteriano de diferentes tipos de miel en *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. enteritidis* y *L. monocytogenes*, con 120 μ L de diluciones de miel al 75, 50, 25, 12.5 y 6.25% (p/v). En sus resultados, el 90% de las muestras de miel pura ejercieron un efecto inhibitorio sobre *S. aureus* y *S. epidermidis*, y el 87% sobre *E. coli*, contrario a *L. monocytogenes* donde sólo el 67% de las mieles lograron algún tipo de inhibición. Muestras de miel diluidas al 25% presentaron actividad contra *S.aureus*, *S.epidermidis*, *E. coli* y *L. monocytogenes*, y aún a 12.5% contra esta última.

Cabrera *et al.* (2003) utilizaron miel de abeja *Apis mellifera scutellata* colectada en dos épocas del año, a diferentes concentraciones desde 50 hasta 5%, diluidas y no diluidas en agua en *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *S. faecalis* y *L. monocytogenes*. Los resultados mostraron un mayor halo de inhibición fue en *L. monocytogenes* con 24 mm, mientras que la cepa de *E. coli* resultó menos afectada con valores de inhibición de 10 mm. *P. aeruginosa* y *S. aureus* resultando menos afectadas en la época seca.

Kwakman *et al.* (2010) aislaron la proteína defensina-1 en la miel, tras el análisis, los científicos concluyeron que las propiedades antibacterianas de la miel, provienen en gran medida por la presencia de esa proteína.

Silici *et al.* (2010) probaron una variación en la actividad antimicrobiana de diferentes muestras de miel, obtenida de plantas de la misma especie pero de diferente origen; las propiedades antibacterianas de las muestras de miel fueron comprobadas contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Las bacterias Gram-positivas, especialmente *S. aureus* y *S. epidermidis*, resultaron ser más resistentes.

Patel *et al.* (2013) trabajaron con miel de abeja diluida en agua destilada en concentraciones de 5, 10, 20, 40, y 60% (v/v) en *S. mutans*, empleando una solución de carbohidratos como control negativo; la zona de inhibición se observó con concentración al 60%, teniendo 10.0 mm de zona diámetro de inhibición; la solución de carbohidratos no mostró efecto inhibitorio.

Olofsson *et al.* (2014) identificaron un grupo único de 13 bacterias ácido lácticas procedentes del estómago de las abejas, las cuales también se hallaron en la miel fresca, lo que sugieren que estas son las responsables de la producción de una gran variedad de compuestos antimicrobianos activos.

El origen del néctar en cuanto al tipo de flor y la zona geográfica son factores que influye en la diversidad de flavonoides y otros posibles compuestos activos como el ácido fenólico y los antioxidantes presentes en la miel, los que le da los diferentes nombres. En México se habla de la miel multifloral, miel de naranjo, miel virgen, miel de avispa y miel tipo mantequilla, por citar algunos ejemplos, todas presentan características diferentes en cuanto a su viscosidad, sabor, olor y las bondades que se les atribuyen.

La miel de avispa es poco conocida, es escasa la información en la literatura, los hechos se restringen casi siempre a relatos en sociedades indígenas acerca de su consumo, y se hace referencia de la miel de la avispa de la especie *Brachygastra lecheguana* (Posey, 1986). Según Richards (1951) citado en (Costa, 2004), *B. lecheguana* es mantenida en un nivel de domesticación en México, a pesar de que ocasionalmente ese véspido puede producir una miel ponzoñosa debido a la colecta de néctar de ciertas plantas tóxicas. La miel tipo mantequilla de abejas, es también poco conocida en la población, se caracteriza por tener una consistencia espesa, color amarillo claro y un bajo contenido de agua, a

la fecha no existen estudios sobre su propiedades fisicoquímicas y no se tienen antecedentes científicos respecto a sus propiedades antibacterianas, solo por conocimiento tradicional se conoce que se utiliza ampliamente contra afecciones respiratorias y digestivas, se consume en té, también se emplea para problemas de cicatrización, sobre todo en pacientes con enfermedades terminales que presentan úlceras de la piel o en pacientes que han tenido una cirugía.

Es por ello que bajo estos antecedentes de uso tradicional, y los pocos conocimientos que se tienen sobre la presencia de bacterias ácido lácticas, presentes desde la cosecha hasta la etapa de maduración, y a las cuales se les atribuye la síntesis de compuestos químicos como el ácido láctico y las bacteriocinas, sustancias responsables del carácter antibacteriano, se planteó determinar el efecto de la miel tipo mantequilla a partir de abeja y la miel de avispa en el crecimiento de *S. typhi*, *E. coli* y *S. aureus*.

METODOLOGÍA

Miel

Se obtuvo miel de abeja originaria de Guerrero (tipo 1), miel tipo mantequilla de abeja originaria de Xico, Veracruz (tipo 2) y miel de avispa proveniente del municipio de Chilpancingo, Guerrero.

Bacterias

Las cepas bacterianas *E. coli* (ambiental), *S. aureus* (clínica) y *S. typhi* (ambiental) fueron proporcionadas por el Laboratorio de Bacteriología de la Unidad de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias de la Salud y la Educación (UIICSE) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Se realizaron resiembras en agar nutritivo, manteniendo los cultivos a 4 °C.

Prueba de sensibilidad antibacteriana

Se llevó a cabo la técnica de difusión de Kirby-Bauer modificada, a partir de un cultivo de 24 horas de crecimiento. Se elaboró una suspensión celular 1.5×10^8 UFC /ml en solución salina, de cada una de las cepas, comparando con el patrón de turbidez 0.5 de la escala de McFarland (Koneman, 2004). Se inoculó cada bacteria con ayuda de un hisopo estéril sobre placas de agar Müeller-Hinton con un espesor de 4 mm, se dejó reposar 15 minutos.

Se realizaron tres pocillos, y se aplicaron los tratamientos: pozo uno con miel de abeja proveniente de Guerrero (tipo 1); pozo dos con miel de abeja tipo mantequilla proveniente de Xico, Veracruz; y pozo tres, miel de avispa proveniente de Oaxaca. Cada pozo con 30 µL de miel, se emplearon 6 µl de cloranfenicol con 30 µg para un cuarto pozo. Se llevaron a cabo cinco repeticiones de cada cepa y se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

Se midieron los diámetros de los halos de inhibición y se analizaron los resultados con el estadístico ANOVA y LSD con una significancia de 0.05.

Se utilizaron los criterios de Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio estandar (CLSI) por sus siglas en inglés.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con el estadístico de prueba, no se presentaron diferencias significativas entre el efecto de la miel de abeja proveniente de Guerrero y Xico (tipo mantequilla) para las bacterias *S. typhi* y *S. aureus*, en donde se presentaron diámetro del halo de inhibición de 10 y 13 mm respectivamente para *S. typhi* y de 17 mm y 21 mm respectivamente para *S. aureus*. En tanto que para *E. coli* si hubo diferencias significativas, se observaron halos de inhibición de 13 y 15 mm respectivamente (miel de Guerrero y miel de Xico, tipo mantequilla).

Comparando el efecto con la miel de avispa, esta fue la que mostró la menor inhibición de las tres, las diferencias significativas se dieron con la miel de Guerrero para la bacteria *E. coli*, con halos de inhibición de 8 mm, mientras que para *Salmonella* y *Staphylococcus* no hubo diferencias significativas, los halos que se presentaron fueron de 10 mm para ambas.

Si se presentaron diferencias significativas entre la miel de avispa y la miel tipo mantequilla para las tres bacterias, se observaron halos de inhibición de 21, 16 y 17 mm para *S. aureus*, *E. coli* y *S. typhi* respectivamente por parte de la miel tipo mantequilla (Figuras 1 y 2).

El efecto del cloranfenicol mostró diferencias significativas con el resto de los tratamientos, para las tres bacterias, con halos de inhibición de 28 y 29 mm de diámetro.

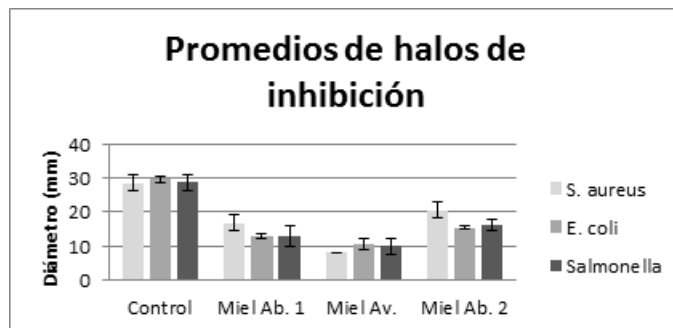


Figura 1. Halos de inhibición mostrados para los tres tipos de miel.

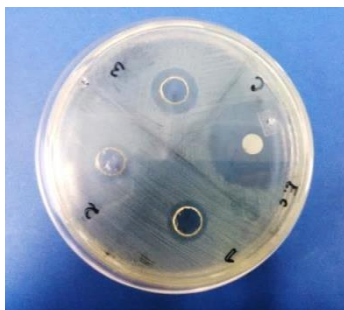


Figura 2. Halos de inhibición para *E. coli*. 1) miel tipo 1, 2) miel de avispa y 3) miel tipo mantequilla.

De acuerdo con el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI) el diámetro de inhibición igual o menor de 12 mm es resistente, entre 13 y 17 mm es de sensibilidad intermedia, y mayor a 18 mm es susceptible, en este sentido podría decirse que *S. aureus* con un halo de 21 mm resultó ser sensible a la miel tipo mantequilla y con sensibilidad intermedia a la miel de abeja proveniente de Guerrero (16.8 mm resultando) y resistente a la miel de avispa. En tanto que *E. coli* resultó ser de sensibilidad intermedia para la miel tipo mantequilla y la miel de Guerrero (16 y 13 mm), y resistente a la miel de avispa (10 mm).

S. typhi mostró una sensibilidad intermedia a miel tipo mantequilla y miel de Guerrero (17 y 13 mm) y resistente a la miel de avispa (10 mm).

De acuerdo con Estrada *et al.* (2005), el efecto inhibitorio podría atribuirse a la solución concentrada de azúcares, principalmente glucosa y fructosa que de alguna manera cambian el potencial osmótico del medio, impidiendo así el crecimiento de las bacterias, según el autor, los azúcares presentan del 95 al 99% de la materia seca de la miel y el principal ácido orgánico presente en la miel es el ácido glucónico, producto de la acción de la glucosa-oxidasa, lo que genera principalmente la actividad antimicrobiana junto con la presencia de peróxido de hidrógeno, producto de la misma.

También los principios fitoquímicos, especialmente los flavonoides y ácidos aromáticos y los antioxidantes fenólicos son reconocidos por inhibir un amplio rango de bacterias Gram positivas y Gram negativas la presencia del ácido láctico y peróxido de hidrogeno junto con la posible presencia de bacteriocinas como la proteína defensina-1 (Kwakman *et al.*, 2010), compuestos antimicrobianos producidos por bacterias ácido lácticas (Olofsson *et al.*, 2014).

También podría explicarse el hecho al fenómeno propio de ósmosis, proceso mediante el cual el agua se mueve a través de las membranas, parte del agua que se encuentra en la zona interna de la bacteria habrá pasado a la zona externa en donde se halla un alto contenido de azúcar, así se pensaría que el agua paso de la zona de baja concentración a la de alta concentración de osmolitos externos, bajo este argumento, se pensaría que los osmolitos presentes en la miel provocaron la salida del agua del interior celular de los microorganismos y de esta manera deshidratándolos y por ende inactivándolos (Ball, 2007).

Por otro lado, el hecho de que la miel tipo mantequilla haya tenido un mayor efecto inhibitorio que la miel proveniente de Guerrero y la miel de avispa de Oaxaca, precisamente se puede atribuir a que la miel tipo mantequilla presenta un menor porcentaje de agua, concentrando así los principios activos, lo que probablemente favoreció una mayor deshidratación las bacterias, aunado a la presencia de las bacteriocinas Kwakman *et al.* (2010).

Los resultados obtenidos en cuanto al efecto inhibitorio concuerdan con los descritos por varios autores; Estrada (2005) mostró el efecto inhibitorio de miel a diferentes concentraciones de 75, 50, 25, 12.5 y 6.25% (v/v) en *S. aureus*, *E. coli*, *S. enteritidis*. Zamora (2011) evaluó el efecto antibacteriano de diferentes tipos de miel en *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella*, el 90% de las muestras de miel pura ejercieron un efecto inhibidor sobre *S. aureus* y el 87% sobre *E. coli*. Cabrera *et al.* (2003) utilizaron miel de abeja *Apis mellifera scutellata* colectada en dos épocas del año, presentando un mayor efecto en *E. coli*.

Las bacterias Gram negativas se caracterizan por presentar una membrana externa rica en polisacáridos y proteínas altamente selectivas llamadas porinas además de la pared de peptidoglicano, esta propiedad podría ser uno de los factores por lo que resultan ser más resistentes a diferencia de las bacteria Gram positivas que carecen de esta membrana, los datos difieren con los obtenidos por Silici *et al.* (2010) quienes mostraron el efecto de diferentes muestras de miel obtenida de plantas de la misma especie pero de diferente origen; ellos encontraron que las bacterias Gram-positivas, como *S. epidermidis* y especialmente *S. aureus* resultaron ser más resistentes. Esto se puede atribuir al origen mismo de las cepas bacterianas y al tipo de miel de la zona.

Como perspectiva, proponemos continuar con el trabajo, ampliando el estudio fitoquímico de los tipos de miel analizadas, hacer una determinación de proteínas y los derivados metabólicos de como ácido láctico y peróxido, a la vez también sería conveniente en trabajos futuros aislar bacterias lácticas y probarlas de manera independiente contra bacterias de interés médico, para validar los conocimientos propuestos en la literatura.

CONCLUSIONES

S. aureus resultó ser sensible a la miel tipo mantequilla y con sensibilidad intermedia a la miel de abeja proveniente de Guerrero.

S. typhi y *E. coli* mostraron una sensibilidad intermedia ante la miel de abeja miel tipo mantequilla y la miel proveniente de Guerrero.

Las tres bacterias resultaron resistentes a la miel de avispa.

REFERENCIAS

- Cabrera, L. (2003). *Actividad antibacteriana de miel de abejas multiflorales (Apis Mellifera Scutellata) del estado Zulia*. Venezuela.
- Cabrera, L. (2006). *Actividad antibacteriana no-peróxido de mieles zulianas*.
- Costa, N. E. M. (2004). *La etnoentomología de las avispas (Hymenoptera, Vespoidea) en el poblado de Pedra Branca, estado de Bahia, nordeste de Brasil*. Universidad Estatal de Feira de Santana. Departamento de Ciencias Biológicas. 34: 247–262. Recuperado de http://www.sea-entomologia.org/PDF/BOLETIN_34/B34-056-247.pdf
- Estrada, H. (2005). *Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermis, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Salmonella enteritidis, Listeria monocytogenes y Aspergillus niger*.
- Koneman, E. W. (2004). *Diagnóstico microbiológico*. Estados Unidos: Editorial Panamericana.
- Kwakman, P. H. S., te Velde, A. A., de Boer, L., Speijer, D., Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E., Zaat, S. A. J. (2010). *How honey kills bacteria*. *The FASEB Journal*. 24: 2576 – 2582.
- Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L., Bresee, J., Shapiro, C., Griffin, P., Tauxe, R. (1999). *Food-Related illness and death in the United States*. *Emerg Infect Dis*. 5: 607–25.
- Olofsson, T. C., Butler, È., Markowicz, P., Lindholm, C., Larsson, L., Vásquez, A. (2014). *Lactic acid bacterial symbionts in honeybees – an unknown key to honey’s antimicrobial and therapeutic activities*. *International Wound Journal*. 11(5).
- Paganini, D. H., Verdaguer, V., Rodríguez, A. C., Latta, P. D., Hernández, C., Berberian, G., Pinheiro, J. L., Rosanova, M. T. (2006). *Infecciones causadas por Staphylococcus aureus resistentes a la meticilina en niños provenientes de la comunidad en niños de la Argentina*. *Arch. Argent. Pediatr Arch*. 104: 295-300. Recuperado de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-00752006000400004&lng=es&nrm=iso.
- Patel H. R., Krishnan C. G. A., Thanveer K. (2013). Antimicrobial effect of honey on *Streptococcus mutans* – an in vitro study. *International Journal of Dental Science and Research*, 1: 46–49.
- Piana, L., Ricciardelli, D. G., Isola, A. (1988). *Identification of some antibacterial constituents of New Zealand Manuka honey*. *Journal of Agricultural and Food*.
- Plascencia, B. L., Aldama, L. O., Vázquez, J. H. A. (2005). *Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México*. *Salud Pública de México*. 47: 219-226.
- Posey, D. A. (1986). *Etnoentomología de tribos indígenas da Amazônia. Suma etnológica brasileira: etnobiología*. D. Ribeiro (ed.). pp. 251-271.
- Silici S., Sagdic O., Ekici L. (2010). Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of Rhododendron honeys. *Journal of Food Chemistry*, 121: 238–243.
- Zaidi, M. B., López, C. M., Calva E. (2006). *Estudios mexicanos sobre Salmonella: epidemiología, vacunas y biología molecular*. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 48: 121–125.
- Zamora, L. G., Arias, M. L. (2011) *Calidad microbiológica y actividad antimicrobiana de la miel de abejas sin aguijón*. *Revista Biomed*. 22: 59-66. Recuperado de <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb112223.pdf>