

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



DETERMINACIÓN DE LA INHIBICIÓN BACTERIANA “*in vitro*” DE LA MIEL Y TINTURA DE PROPÓLEO AL 10% DE ABEJA DONCELLITA (*Tetragonisca angustula*) CONTRA LA CEPA DE *Pseudomonas aeruginosa*

SILVIA ARRECHEA DÁVILA

Médica Veterinaria

GUATEMALA, FEBRERO DE 2019

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA INHIBICIÓN BACTERIANA “*in vitro*” DE LA
MIEL Y TINTURA DE PROPÓLEO AL 10% DE ABEJA DONCELLITA
(*Tetragonisca angustula*) CONTRA LA CEPA DE *Pseudomonas
aeruginosa***

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

SILVIA ARRECHEA DÁVILA

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, FEBRERO DE 2019

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA**

DECANO:	M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
SECRETARIO:	Dr. Hugo René Pérez Noriega
VOCAL I:	M.Sc. Juan José Prem González
VOCAL II:	Lic. Zoot. Edgar Amílcar García Pimentel
VOCAL III:	Lic. Zoot. Alex Rafael Salazar Melgar
VOCAL IV:	Br. Yasmin Adalí Sian Gamboa
VOCAL V:	Br. Maria Fernanda Amézquita Estévez

ASESORES

M.A. DORA ELENA CHANG DE JÓ

LIC. ZOOT. EDGAR AMÍLCAR GARCÍA PIMENTEL

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

DETERMINACIÓN DE LA INHIBICIÓN BACTERIANA “*in vitro*” DE LA MIEL Y TINTURA DE PROPÓLEO AL 10% DE ABEJA DONCELLITA (*Tetragonisca angustula*) CONTRA LA CEPA DE *Pseudomonas aeruginosa*

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO A:

- A DIOS:** Su bondad y amor me conducen por el camino del bien.
- A MIS PADRES
Y ABUELA:** Sus sacrificios, sus oraciones, su amor, sus enseñanzas, sus consejos, su apoyo incondicional me permiten ser quien soy.
- A MIS HERMANAS:** Unidas siempre. Su ejemplo, sus consejos, su apoyo, su amor, su complicidad, son mi tesoro.
- A MIS SOBRINOS:** Son mi gran orgullo.
- A YAGO:** Reiniciaste mi vida brindándome y enseñándome el verdadero amor, entregándote incondicionalmente.
- A PEACHY:** Colmas mi vida de amor, felicidad y asombro, mi compañera fiel, mi complemento.
- A MIS ÁNGELES:** Viven en mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

- A DIOS:** Por sus bendiciones, su infinita misericordia y por darme la fuerza para seguir adelante.
- A MI FAMILIA:** Por estar conmigo en todo momento brindándome su amor y apoyo.
- A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA:** Por abrir sus puertas y acogerme como estudiante, devolviéndome a la sociedad como una profesional con principios y valores.
- A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA:** Por esa excelencia académica forjándome como como profesional integral y competente.
- AL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, FMVZ:** Por su apoyo en la realización de esta investigación.
- A MIS ASESORES:** Por su tiempo, su ayuda, su motivación, su confianza y profesionalismo para culminar este trabajo.
- A MIS CATEDRÁTICOS:** Por toda esa enseñanza llena de conocimientos, retos, experiencias a lo largo de mi formación profesional.
- A MIS COMPAÑEROS:** Por tantos momentos vividos que forman parte de mis más gratos recuerdos en la carrera.
- A MIS AMIGOS:** Por ser parte de este sueño.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	HIPÓTESIS.....	3
III.	OBJETIVOS.....	4
	3.1 Objetivo general.....	4
	3.2 Objetivos específicos.....	4
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
	4.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
	4.1.1 Morfología y características nutricionales <i>P. aeruginosa</i>	5
	4.1.2 Características de cultivo de <i>P. aeruginosa</i>	6
	4.1.3 Factores que contribuyen al crecimiento de <i>P. aeruginosa</i>	6
	4.1.4 Epidemiología.....	7
	4.1.5 Patogénesis.....	8
	4.1.6 Enfermedades causadas por <i>P. aeruginosa</i>	9
	4.1.7 Diagnóstico.....	10
	4.1.7.1 Aislamiento e identificación de <i>P. aeruginosa</i>	
	4.1.8 Tratamiento y prevención.....	10
	4.2 Resistencia a los antimicrobianos.....	11
	4.2.1 Natural o intrínseca.....	11
	4.2.2 Mutacional.....	11
	4.2.3 Adquirida.....	12
	4.2.3.1 Conjugación.....	12
	4.2.3.2 Transformación.....	12
	4.2.3.3 Transducción.....	13
	4.2.4 Elementos participantes en la transferencia de genes de resistencia.....	13
	4.2.4.1 Plásmidos.....	13
	4.2.4.2 Transposones.....	13

4.2.4.3	Integrone	14
4.3	Métodos de detección de susceptibilidad antimicrobiana	16
4.3.1	Difusión en disco	16
4.3.2	Dilución en medio líquido o caldo	17
4.3.3	Dilución en medio sólido con agar	17
4.3.4	Concentración inhibitoria mínima	17
4.4	Las abejas sin aguijón en Guatemala	18
4.4.1	Clasificación de los meliponinos	19
4.4.2	Miel	20
4.4.3	Miel de abejas nativas	20
4.4.4	Otros componentes químicos de la miel	21
4.4.5	Extracción de la miel de las colmenas	22
4.4.6	Propóleo	23
4.4.7	Composición química del propóleo	23
4.4.8	Otros compuestos identificados en el propóleo	24
4.4.9	Propiedades atribuidas	25
4.4.9.1	Antioxidantes	25
4.4.9.2	Acción fungicida	26
4.4.9.3	Acción antibacteriana	26
4.4.9.4	Antiviral	26
4.4.9.5	Antiinflamatoria	27
4.4.10	Técnicas de extracción del propóleo	27
4.4.10.1	Técnica de raspado	27
4.4.10.2	Técnica de malla plástica	27
4.5	Tintura de propóleo	28
4.6	Recursos alimenticios de las abejas sin aguijón	29
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	30
5.1	Materiales	30
5.1.1	Recursos humanos	30
5.1.2	Recursos de campo	30

5.1.3	Recurso biológico.....	30
5.1.4	Recurso de laboratorio.....	31
5.2	Metodología.....	31
5.2.1	Área de trabajo.....	32
5.2.2	Obtención y selección de cepa bacteriana.....	32
5.2.3	Reactivación de la cepa bacteriana y preparación del inóculo...	33
5.2.4	Selección del antibiótico.....	33
5.2.5	Obtención de miel.....	33
5.2.6	Preparación del agar miel.....	33
5.2.7	Obtención del propóleo.....	34
5.2.8	Elaboración de tintura de propóleo.....	34
5.2.9	Preparación del agar propóleo.....	34
5.3	Preparación de los grupos controles.....	35
5.3.1	Control positivo (A Inhibición).....	35
5.3.2	Control negativo (A Inhibición).....	35
5.4	Siembra de la cepa bacteriana en el agar.....	36
5.5	Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de tintura de propóleo.....	36
5.5.1	Técnica a macrodilución.....	36
5.5.2	Interpretación de resultados o variables a medir.....	37
5.6	Análisis de datos.....	37
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
VII.	CONCLUSIONES.....	48
VIII.	RECOMENDACIONES.....	49
IX.	RESUMEN.....	50
	SUMMARY.....	52
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
XI.	ANEXOS.....	63

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.

Composición fisicoquímica de la miel de Meliponas propuesta a la Comisión del Codex Alimentarius21

Cuadro 2.

Usos terapéuticos de la miel de abejas nativas22

Cuadro 3.

Composición química del propóleo23

Cuadro 4.

Resultados de inhibición del crecimiento bacteriano *in vitro* de miel pura de Abeja Doncellita contra *P. aeruginosa*..... 39

Cuadro 5.

Resultados inhibición del crecimiento bacteriano *in vitro* de tintura de propóleo al 10% de Abeja Doncellita contra *P. aeruginosa*.....42

Cuadro 6.

Resultados inhibición del crecimiento bacteriano *in vitro* de miel pura y tintura de propóleo al 20% de Abeja Doncellita contra *P. aeruginosa*.....44

Cuadro 7.

Grupo control positivo (A Inhibición)..... 46

Cuadro 8.

Grupo control negativo (A Inhibición).....47

I. INTRODUCCIÓN

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria que se encuentra dentro de la lista de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de las especies cuya resistencia es más preocupante desde el punto de vista de salud pública y en la lista de patógenos con prioridad crítica que necesitan investigación y desarrollo de nuevos antibióticos. Puede ser encontrada en heridas de tipo quirúrgico, quemaduras en piel e infecciones dérmicas en humanos. Estudios realizados la ubican como una de las principales causantes de infecciones de tipo nosocomial pues aun siendo oportunista su ocurrencia en sinergismo con otras bacterias provoca afecciones difíciles de tratar. Trabanino (2013), realizó un estudio en el Hospital General de Enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) sobre la incidencia de infecciones nosocomiales, obteniendo como resultado que el microorganismo más frecuentemente aislado fue *Pseudomonas aeruginosa*. (*P. aeruginosa*). En un estudio realizado en la unidad de cuidados intensivos de pediatría del Hospital Regional de Cuilapa, Santa Rosa se determinó que los gérmenes aislados son 100% sensibles a los antibióticos que se utilizan en la unidad según antibiogramas excepto la *P. aeruginosa* que fue reportada multiresistente (Sagastume, 2013).

Este bacilo gramnegativo está relacionado con abscesos, diarreas, infecciones urinarias, genitales, respiratorias, heridas e infecciones intrahospitalarias en todas las especies animales, (Stanchi et al., 2007). Es una de las bacterias más comúnmente aisladas en otitis e infecciones dérmicas en perros presentando resistencia a diferentes antibióticos (Chávez, 2010).

En Guatemala existe una gran variedad de abejas sin aguijón las cuales pertenecen a la tribu Meliponini de la subfamilia Apinae y aunque su crianza y comercialización es a baja escala, la miel y propóleo que producen estas abejas es utilizada popularmente para el tratamiento de algunas afecciones respiratorias,

oculares, dérmicas, estomacales, tratamiento de heridas, entre otras pero existe poca investigación acerca de las propiedades de estos productos y su uso se limita a la alimentación y uso popular. En varios países latinoamericanos se han llevado a cabo estudios para determinar algún tipo de actividad antimicrobiana, y debido a la creciente aparición de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos ha surgido la necesidad de hacer uso de tratamientos alternativos.

El uso de la miel y propóleo de abejas nativas en Medicina Veterinaria es de suma importancia, ya que representa una alternativa de medicina natural que puede ser empleada por sectores de la población cuyo acceso a los antibióticos es limitado por factores socioeconómicos y permite el tratamiento alternativo de afecciones que difícilmente responden a protocolos terapéuticos convencionales.

El presente trabajo de investigación tiene la finalidad de determinar la inhibición bacteriana "*in vitro*" de la miel pura y la tintura de propóleo al 10% de la abeja doncellita contra la bacteria *P. aeruginosa* mediante la técnica de macrodilución en placa y encontrar nuevas alternativas terapéuticas para el control de esta cepa bacteriana, motivando así a la crianza de abejas nativas y la comercialización de sus productos.

II. HIPÓTESIS

La miel pura de abeja Doncellita (*Tetragonisca angustula*) inhibe el crecimiento de la cepa *Pseudomonas aeruginosa*.

La tintura de propóleo al 10% de abeja Doncellita (*Tetragonisca angustula*) inhibe el crecimiento de la cepa *Pseudomonas aeruginosa*.

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

- Generar información con base científica sobre la actividad antibacteriana de la miel y tintura de propóleo de una especie de abeja nativa de Guatemala.

3.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto inhibitorio del crecimiento “*in vitro*” de la miel de abeja Doncellita (*Tetragonisca angustula*) sobre la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* por medio de la técnica de macrodilución en placa.
- Evaluar el efecto inhibitorio del crecimiento “*in vitro*” de la tintura de propóleo al 10% de abeja Doncellita (*Tetragonisca angustula*) sobre la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* por medio de la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM).

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pertenece al filo proteobacteria, de la clase Gammaproteobacteria, orden pseudomonadales, familia Pseudomonadaceae, género *Pseudomonas*, tienen una amplia distribución en el suelo, el agua, las plantas y los animales. *Pseudomonas aeruginosa* a menudo está presente en la microbiota intestinal y en la piel del ser humano y es el principal microorganismo patógeno del grupo. Tiene una amplia distribución en la naturaleza y suele estar presente en medios húmedos en los hospitales (Brooks, Butel y Morse, 2002). Es la causa más frecuente de infecciones nosocomiales en pacientes hospitalizados por 10 días o más (Walker, 2000).

Entre las enfermedades o situaciones en donde se ha encontrado esta bacteria podemos mencionar a todos los animales en infecciones de heridas, abscesos, diarrea, infecciones urinarias y genitales, infecciones hospitalarias; a equinos en abortos, infertilidad, infección corneal, y abscesos pulmonares; a bovinos en mastitis, aborto, esterilidad y granulomas cutáneos y subcutáneos; a caninos y felinos en prostatitis, cistitis, dermatitis, septicemia postoperatoria, otitis externa, conjuntivitis, piómetra y endocarditis; aves de corral en septicemias e infecciones respiratorias; cerdos en procesos respiratorios y enteritis; ovinos en dermatitis y al hombre en infecciones urinarias, corneales y del oído interno, infecciones de heridas e infecciones mortales de tráquea, pulmones, válvulas cardíacas, meninges y cerebro; diarrea por infecciones intestinales e infecciones hospitalarias (Carter y Chengappa, 1994; Stanchi et al., 2007).

4.1.1. Morfología y características nutricionales de *P. aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo gramnegativo de 0,5 a 1 μm por 3 a 4 μm , móvil por la presencia de uno a tres flagelos polares, posee pili y fimbrias, no

forma esporas. Algunas cepas están rodeadas de una capa de mucus o polisacárido extracelular denominado slime, con capacidad de formar biofilm. Es un bacilo aerobio estricto, utiliza el oxígeno como aceptor final de electrones, aunque puede crecer en un ambiente anaeróbico empleando nitratos o arginina (ya que posee la enzima arginina dihidrolasa) como aceptor terminal de electrones (Stanchi et al., 2007; Murray, Rosenthal y Pfaller, 2014).

4.1.2. Características de cultivo de *P. aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa no tiene exigencias nutritivas y crece en medios comunes de laboratorio. En medios sólidos puede formar dos tipos de colonias: una grande, de 3 a 5 mm de diámetro, lisa con centro elevado y bordes ondulados (parecido a un huevo frito), y otra pequeña, de 2 mm, rugosa y convexa (Stanchi et al., 2007). Los cultivos desprenden un aroma dulce parecido al de las uvas (Brooks et al., 2002; Stanchi et al., 2007). Suele producir el pigmento azulado no fluorescente, piocianina, que se difunde hacia el agar (Brooks et al., 2002). Este pigmento es responsable del característico pus azul de las heridas y posee actividad antibacteriana e incluso fungicida. En caldo, el cultivo se traduce por un enturbiamiento homogéneo, con una película grisácea o capa fina en la superficie, que se engrosará durante los días siguientes, se fragmentará y caerá al fondo del tubo (Stanchi et al., 2007).

4.1.3. Factores que contribuyen al crecimiento de *P. aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa es quimioorganotrofa y se considera mesófila. Se desarrolla entre los 10°C y 42°C, siendo la temperatura óptima de crecimiento 35°C. (Stanchi et al., 2007) Su crecimiento a 42°C ayuda para diferenciarla de otras especies que integran el género. Se desarrolla en 24-48 horas a pH 7 (Brooks et al., 2002; Stanchi et al., 2007).

4.1.4. Epidemiología

El hábitat primario de *P. aeruginosa* es el medio ambiente, se encuentra en agua, tierra y diversos tipos de vegetación en todo el mundo. Se ha aislado de faringe, piel y aparato digestivo de aproximadamente 2 a 10% de personas sanas (Walker, 2000; Ryan, y Ray, 2010). Las tasas de portadores en individuos hospitalizados quizás excedan el 20% (Walker, 2000). *P. aeruginosa* al presentar requerimientos nutricionales mínimos puede prosperar en ambientes húmedos, tanto en hospitales veterinarios como en los de humanos. Es un verdadero patógeno oportunista que causa enfermedades nosocomiales en pacientes debilitados o con inmunosupresión. Los microorganismos son sensibles a la resequedad, de modo que no se diseminan con facilidad sobre fómites, en vez de ello se diseminan a través del agua de limpieza para respiradores mecánicos, mangueras de aparatos de anestesia, nebulizadores, quirófanos, equipos de diálisis, lavamanos, recipientes para orina, baños, pisos, entre otros, también resisten soluciones antisépticas y jabones desinfectantes, así como ciertos antibióticos. Estas características aumentan las posibilidades de infección de un paciente comprometido, colonizando tracto respiratorio, digestivo y contaminando heridas, fundamentalmente pacientes que han recibido antibióticos intravenosos, quienes padecen diabetes mellitus, leucemia, neutropenia, fibrosis quística, quemaduras de tercer grado, úlceras oculares, lesiones traumáticas (Walker, 2000; Stanchi et al., 2007).

Se realizó un estudio en el Departamento de Pediatría del Hospital General de Enfermedades del IGSS sobre la incidencia de infecciones nosocomiales, obteniendo como resultado que el microorganismo más frecuentemente aislado fue *Pseudomonas aeruginosa* con un 17% seguido de *Escherichia coli* en un 10.7% (Trabanino, 2013).

4.1.5. Patogénesis

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista y posee una virulencia particular. El microorganismo por lo común requiere de una alteración significativa en las líneas de defensa primarias (p. ej., una herida) o una vía para esquivarlas (p. ej., una solución contaminada o una sonda endotraqueal) para iniciar la infección. La unión a las células epiteliales es el primer paso en la infección y probablemente esté mediada por pilosidades, flagelos y una cubierta de polisacáridos extracelulares. Los receptores incluyen ácido siálico y N-acetilglucosamina que se originan en los glucolípidos de la superficie celular. La unión es favorecida por la pérdida de fibronectina de superficie, lo que explica en parte la propensión en pacientes debilitados. Una vez que se ha establecido, la virulencia de *P. aeruginosa* parece obvia, dada la gran cantidad de enzimas y de otros factores. La importancia de la Exotoxina A (ExoA) se apoya en estudios en humanos y animales, que correlacionan su presencia con malos resultados y la presencia de anticuerpos contra ésta con supervivencia. El efecto de la ExoA no es inmediato, porque diversos factores se activan a través de un sistema sensor en el cual varios productos químicos (lactonas, quinolonas) producen señales de célula a célula. Cuando la población de *P. aeruginosa* alcanza cierto umbral, la señal favorece la traducción del gen de citotoxina y la toxina se secreta por toda la población al mismo tiempo (Ryan y Ray, 2010).

La elastasa y fosfolipasa desdoblan proteínas y lípidos, respectivamente, lo que permite que el microorganismo adquiera nutrientes del hospedador y se disemine a partir del sitio local. Muchos sustratos de importancia biológica de elastasa, hacen evidente su importancia, en particular el que le da su nombre, elastina. La elastina se encuentra en algunos sitios con ataque preferente por *P. aeruginosa*, como los pulmones y vasos sanguíneos. La destrucción hemorrágica incluye las paredes vasculares, característica histológica distintiva de la infección por *Pseudomonas*. La disfunción intracelular causada por Exotoxina S (ExoS) y por

otros factores inyectados por un sistema de secreción inicia inmediatamente después del contacto con la célula del hospedador. ExoS se asocia con diseminación a partir de heridas de quemaduras y con acciones de destrucción de las células, lo que incluye su acción sobre el citoesqueleto. El pigmento azuloso piocianina, se ha detectado en lesiones en seres humanos y parece tener efectos tóxicos en la función de las células ciliares respiratorias (Ryan y Ray, 2010).

4.1.6. Enfermedades causadas por *P. aeruginosa*

Los pacientes animales más expuestos a infecciones son, los animales jóvenes, inmunodeprimidos, con quemaduras graves y extensas, heridas traumáticas, con procesos respiratorios, neoplasias, antecedentes de tratamientos con corticoides y antibióticos. En todas las especies animales, *P. aeruginosa* es responsable de abscesos e infecciones purulentas, diarreas, infecciones urinarias, genitales, respiratorias, de heridas e infecciones intrahospitalarias. En bovinos causa mastitis, en cerdos enteritis y neumonías. En perros otitis crónica con infecciones mixtas así como pioderma superficial (Martínez, 1995; Soler, Tello, Moreso y Riera, 2000; Ettinger y Feldman, 2002; Stanchi et al., 2007; López, 2008; Mansilla, 2011).

En humanos pueden ocurrir infecciones de heridas por quemaduras, heridas abiertas (punción con clavos), vías urinarias, piel (foliculitis cutánea, úlceras necróticas), ojo (conjuntivitis, queratitis y endoftalmitis), oído (otitis externa) y vías respiratorias que pueden progresar a bacteriemia, asociado a necrosis alveolar, invasión vascular, osteomielitis posterior a fractura expuesta (Ryan y Ray, 2010).

En humanos la mayoría de las infecciones se producen en pacientes internados, en especial los debilitados o inmunocomprometidos. La *P. aeruginosa* es una causa frecuente de infecciones en las unidades de cuidados intensivos. Los pacientes infectados por HIV, especialmente los que están en etapas avanzadas,

tienen riesgo de adquirir infecciones por *P. aeruginosa* extrahospitalaria. Las infecciones pueden aparecer en muchos sitios anatómicos, entre ellos, la piel (fístulas, celulitis, foliculitis, ectima gangrenoso en pacientes neutropénicos) los tejidos subcutáneos, el hueso (osteomielitis), los oídos (otitis externas en pacientes diabéticos), los ojos (úlceras de córnea), vías aéreas (neumonía asociada con el respirador, neumonías o sinusitis en pacientes con HIV, bronquitis en etapas avanzadas de fibrosis quística) tracto urinario y las válvulas cardíacas (endocarditis bacteriana aguda en pacientes con prótesis valvulares o cirugías cardíacas abiertas (Bush y Pérez, s.f.).

4.1.7. Diagnóstico

4.1.7.1. Aislamiento e identificación de *P. aeruginosa*

El aislamiento y la identificación se realizan sembrando la muestra (raspados en superficie de tejidos infectados, pus, orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, esputo y otros exudados) en medios simples durante 24 – 48 horas a 35°C, en aerobiosis. El desarrollo en medio sólido se manifiesta por la aparición de colonias traslúcidas, extendidas, con bordes ondulados semejantes a un huevo frito. La mayoría de las cepas produce piocianina que, al difundirse al medio de cultivo, aparece de color azul verdoso, lo cual facilita la identificación. En agar sangre produce B-hemólisis. Los cultivos tienen un olor característico a uvas. Los bacilos son oxidasa positiva, licúan la gelatina, peptonizan la leche tornasol, utilizan el citrato, reducen el nitrato, no producen indol. La prueba de óxido-fermentación (O/F) es positiva para oxidación (Stanchi et al., 2007).

4.1.8 Tratamiento y prevención

Pseudomonas aeruginosa presenta una característica inherente a su fisiología: resistencia a varios antibióticos. Durante el tratamiento, muchas cepas

sensibles se vuelven resistentes al adquirir enzimas inactivantes por medio de plásmidos de resistencia al mutar las proteínas de los canales porínicos o inducir alteraciones en el sitio diana, aunado a que algunos antibióticos, como los aminoglucósidos se inactivan en sitios de infección con pH ácido, como ocurre en los abscesos. Con las consideraciones anteriores y los resultados de antibiogramas se podrá indicar el tratamiento con algunos de los siguientes agentes.

- Aminoglucósidos: gentamicina, amikacina, tobramicina
- Polimixina B o colistina
- Cefalosporinas de tercera generación
- Quinolonas- fluoroquinolonas: ciprofloxacina, levofloxacina

(Bush y Pérez, s.f.; Stanchi et al., 2007)

4.2. Resistencia a los antimicrobianos

4.2.1 Natural o intrínseca

Es la consecuencia de la estructura y la fisiología natural de la especie, y está codificada en el cromosoma de todas las cepas. Los mecanismos de resistencia natural pueden producirse por impermeabilidad al antibiótico, eflujo o presencia de enzimas inactivantes. La membrana externa de los gramnegativos supone una barrera natural, que hace que muchas bacterias de este grupo sean insensibles a varios antibióticos. *P. aeruginosa* es naturalmente resistente a cloranfenicol, aminopenicilinas, macrólidos, tetraciclinas, cefalosporinas de primera y segunda generación, glicopéptidos y ácido nalidíxico (Stanchi et al., 2007; Sumano, 2007).

4.2.2 Mutacional

Es la derivada de mutaciones espontáneas en la información contenida en el cromosoma (por alteración de la secuencia natural de nucleótidos en el ADN). Las

mutaciones pueden ocurrir en genes preexistentes en las células o en genes adquiridos (Stanchi et al., 2007; Sumano, 2007).

4.2.3 Adquirida

Es la adquisición de un carácter de la resistencia previamente ausente en la bacteria. Las resistencias adquiridas son evolutivas y su frecuencia depende a menudo de la utilización de los antibióticos. La transferencia del material genético responsable de la resistencia, puede ocurrir por conjugación, transducción y transformación, procesos básicos de transferencia de genes entre bacterias (Stanchi et al., 2007; Sumano, 2007).

4.2.3.1. Conjugación

Es el proceso más importante, extendido en bacterias gramnegativas e incluso en grampositivas. La célula donadora transfiere a la célula receptora, a través del pili sexual, copias de genes de resistencia mediados por plásmidos. (Stanchi et al., 2007).

4.2.3.2. Transformación

Es la transferencia de DNA desnudo de una bacteria a otra. Las células deben ser competentes para poder incorporar el DNA y recombinarlo. En general se produce entre géneros muy relacionados, debido a la necesidad de una alta homología de secuencias de nucleótidos para que ocurra la recombinación. Se presenta principalmente en los géneros *Streptococcus* spp. y *Neisseria* spp. (Stanchi et al., 2007).

4.2.3.3. Transducción

Es el proceso por el cual el DNA del plásmido es incorporado por un bacteriófago y luego transferido a otra bacteria, por ejemplo, la transferencia del gen de B-lactamasa de estafilococos resistentes a otro estafilococo sensible. Este mecanismo de transferencia de DNA es poco importante en la diseminación de resistencia, debido a la especificidad de los bacteriófagos (Stanchi et al., 2007).

4.2.4. Elementos participantes en la transferencia de genes de resistencia

Los elementos genéticos que participan en la transferencia de genes de resistencia son los plásmidos, los trasposones, ADN de bacteriófagos y recientemente los integrones y casetes genéticos de resistencia (Stanchi et al., 2007).

4.2.4.1. Plásmidos

Son ADN circulares extracromosómicos que se automultiplican, son heredables, pueden tener otras funciones (factores de virulencia, cambios metabólicos; resistencia a metales pesados) y pueden estar presentes en bacteria filogenéticamente distintas (Stanchi et al., 2007).

4.2.4.2. Transposones

Son secuencias cortas de ADN, conocidas como “genes saltarines”. Pasan de un plásmido a otro, de un plásmido al cromosoma o viceversa. La propiedad de todos los elementos transportables en la capacidad de moverse e integrarse dentro de secuencias del ADN extraño, mediante una recombinación no homóloga. Este tipo de recombinación determina que el mismo transposón pueda estar en plásmidos o cromosomas de bacterias no emparentadas, con genes de

antibioticoresistencias idénticos. Los transposones a diferencia de los plásmidos no se autoduplican y la mayor parte de ellos están contenidos en plásmidos, los que pueden ser pasados entre especies bacterianas, con una rápida diseminación de resistencia (Stanchi et al., 2007).

4.2.4.3. Integrones

Son una familia de elementos genéticos móviles, capaces de integrar y expresar genes de resistencia a antibióticos. Los integrones no pueden realizar autotransposición, pero se asocian a plásmidos y transposones que median como vehículos, para su transmisión intra o interespecie. Un integrón es un sistema de recombinación de sitio específico, que contiene una enzima integrasa y un sitio específico de captura de uno o varios genes de resistencia. Los genes capturados se presentan como casetes genéticos móviles. Estos casetes contienen un gen de antibioticoresistencia y un sitio de recombinación específico. Las integrasas catalizan la integración o excisión del casete de resistencia en el sitio específico del integrón. En el integrón, existen dos promotores: uno transcribe la integrasa y otro, dirige la transcripción de los casetes genéticos integrados. Hasta el momento no se han encontrado casetes con promotores propios. Los casetes genéticos codifican resistencia para antibióticos B-lactámicos, aminoglucósidos, sulfas, eritromicina, tetraciclinas y rifampicina (Stanchi et al., 2007).

Con los mecanismos expuestos anteriormente las bacterias logran la producción de enzimas que destruyen el medicamento. Los estafilococos resistentes a la penicilina G producen una beta lactamasa que destruye el medicamento. Los bacilos gramnegativos producen otras β -lactamasas. Las bacterias gramnegativas resistentes a los aminoglucósidos (debido a los plásmidos) producen enzimas adenililantes, fosforilantes o acetilantes que destruyen el medicamento. Las bacterias gramnegativas pueden ser resistentes al cloranfenicol

si producen una cloramfenicolacetiltransferasa (Brooks, 2002; Stanchi et al., 2007; Sumano, 2007).

Cambio en la permeabilidad o disminución en la captación del medicamento por la célula o por alguna parte especial de la célula; por ejemplo, como ocurre con las tetraciclinas y polimixinas (Carter y Chengappa, 1994). Los estreptococos tienen una permeabilidad que funciona como barrera natural contra los aminoglucósidos, esta puede superarse en parte por la presencia simultánea de algún medicamento activo contra la pared celular; por ejemplo, la penicilina. La resistencia a la amikacina y a algunos otros aminoglucósidos puede depender de la falta de permeabilidad a los medicamentos, al parecer debido a un cambio en la membrana externa que altera el transporte activo al interior de la célula (Brooks, 2002; Stanchi et al., 2007; Sumano, 2007).

Desarrollan un blanco estructural alterado para el medicamento. La resistencia a los aminoglucósidos está asociada con la pérdida o alteración de alguna proteína específica sobre la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, el cual sirve como sitio eslabonante en microorganismos sensibles. Los microorganismos resistentes a la eritromicina tienen un receptor alterado sobre la unidad 50S del ribosoma receptor resultante de la metilación de un ARN ribosómico 23S. La resistencia a algunas penicilinas y cefalosporinas puede depender de la pérdida o alteración de las PBP (Carter y Chengappa, 1994; Brooks, 2002; Sumano, 2007).

Desarrollan una vía metabólica alterna para esquivar la reacción inhibidora (Carter y Chengappa, 1994). Algunas bacterias resistentes a las sulfonamidas no requieren PABA extracelular, sino que, a semejanza de las células de los mamíferos, pueden utilizar el ácido fólico preformado (Brooks, 2002; Sumano, 2007).

Producción de una enzima que degrada al antibiótico, por ejemplo, penicilinas (beta-lactamasa) por *Staphylococcus aureus* o producción de enzimas por algunas bacterias que inactivan medicamentos por acetilación, adenilación o fosforilación (Carter y Chengappa, 1994). En bacterias resistentes al trimetoprim, el ácido dihidrofólico reductasa se inhibe, con mucha menor eficiencia que en bacterias susceptibles a trimetoprim (Brooks, 2002).

4.3. Métodos de detección de susceptibilidad antimicrobiana

Los métodos de susceptibilidad antimicrobiana o antibiogramas son métodos “in vitro” que determinan la susceptibilidad de los microorganismos a una variedad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio específica y estandarizada (Palavecino, 1997). El Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio por sus siglas en inglés (CLSI), reconoce los siguientes tres métodos como los únicos que dan resultados reproducibles y repetibles de forma fiable cuando se siguen correctamente: Difusión en disco, Dilución en medio líquido y Dilución en medio sólido con agar Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2012).

4.3.1 Difusión en disco

Se basa en la determinación de una zona de inhibición del crecimiento que es proporcional a la sensibilidad de la bacteria al antimicrobiano presente en el disco. Es la difusión que experimenta un agente antimicrobiano a una determinada concentración a partir de discos, que se depositan en un medio de cultivo sólido que ha sido sembrado con la cepa del inóculo seleccionado en un cultivo aséptico. El diámetro de esta zona de inhibición alrededor del disco antimicrobiano se corresponde con la concentración mínima inhibitoria (MIC) para esa combinación concreta de bacteria y antimicrobiano. En general, cuanto mayor es la zona de

inhibición, menor es la concentración del antimicrobiano que se requiere para inhibir el crecimiento de los microorganismos (OIE, 2012).

4.3.2 Dilución en medio líquido o caldo

La dilución en medio líquido es una técnica en la que se analiza una suspensión de bacterias de una concentración predeterminada, óptima y apropiada frente a varias concentraciones de un agente antimicrobiano (normalmente mediante diluciones seriadas a la mitad) en un medio líquido de formulación documentada y predeterminada. El método se puede realizar tanto en tubos con un contenido mínimo de 2 ml (macrodilución) como en volúmenes más pequeños, utilizando placas de microtitulación (microdilución) (OIE, 2012).

4.3.3 Dilución en medio sólido con agar

La dilución en medio sólido implica la incorporación de concentraciones variadas de agentes antimicrobianos, en un medio solidificado con agar, utilizando generalmente diluciones seriadas dobles y la aplicación de un inóculo bacteriano definido a la superficie de la placa que contiene el agar. A menudo, los resultados derivados de estos ensayos se consideran como los más fiables para la determinación del valor MIC para una determinada combinación bacteria/antimicrobiano en una prueba concreta (OIE, 2012).

4.3.4 Concentración inhibitoria mínima

La Concentración inhibitoria mínima (CIM) es la mínima concentración del agente antimicrobiano que inhibe la multiplicación y producción de un crecimiento visible de una cepa bacteriana dada en el sistema de prueba. Se determina la concentración en el laboratorio incubando una cantidad conocida de bacterias con diluciones definidas del agente antimicrobiano. Utilizando los criterios de

interpretación del CLSI y los resultados se interpreta como susceptible, o resistente para el caso de *P. aeruginosa*. Las pruebas de la CIM pueden ser realizadas usando como medios de cultivo en caldo o agar, pero la microdilución en caldo es el método más utilizado en los laboratorios clínicos (Coyle, 2006).

4.4. Las abejas sin aguijón en Guatemala

Las abejas (Insecta: Hymenoptera: Apoidea) son uno de los grupos de insectos de mayor abundancia en el mundo, se conocen alrededor de 20,000 especies, distribuidas en 7 familias. La familia Apidae incluye a las subfamilias Apinae y Anthophorinae. Dentro de las Apinae se encuentran las tribus Apini (abejas de la miel), Euglossini (Abejas de las orquídeas), Bombini (abejorros) y Meliponini (abejas sin aguijón). Los Meliponinos se distribuyen en las zonas tropicales y subtropicales del mundo y presentan mayor riqueza en el neotrópico, en Brasil se han encontrado más de 300 especies de abejas sin aguijón distribuidas de acuerdo a sus requerimientos climáticos, en Costa Rica se han identificado hasta 50 especies, en México 46 especies y en Guatemala se ha reportado la presencia de 11 géneros y 32 especies, sin embargo se estima que la diversidad de este grupo debe ser muy similar a la de México o Costa Rica, mientras en la región Indo-Malaya se reportan 60 y en África 50, en otras regiones la diversidad es mucho menor. Las abejas sin aguijón presentan como característica anatómica principal la ausencia de un aguijón funcional; comparado con otros grupos de abejas, la venación en sus alas es débil y son verdaderamente sociales (Enriquez, Yurrita y Dardón, 2006). Pertenecen al grupo de abejas corbiculadas nativas de América que posee comportamiento altamente social, colonias numerosas y perennes que se reproducen por medio de enjambres y que cuentan con diferenciación de castas (reina, obreras y zánganos), y una comunicación altamente desarrollada entre los miembros de la colonia (Nates, 2005).

4.4.1 Clasificación de los meliponinos

Con fines prácticos, los Meliponinos suelen ser divididos en dos grupos Meliponas y Trigonas. Las Meliponas (especies del género *Melipona*) se distribuyen en la región neotropical de América y cuentan con alrededor de 40 especies. Las Trigonas (géneros *Trigona*, *Scaptotrigona*, *Partamona*, etc.) presentan cerca de 20 géneros con más de 200 especies y están distribuidos en las áreas tropicales y subtropicales de todo el mundo, principalmente en el neotrópico. En Guatemala las abejas más populares son: *Melipona beecheii* (Criolla o Colmena Grande), *Scaptotrigona pectoralis* (Magua alazán, Congo Canche o Congo Alazán), *Scaptotrigona mexicana* (Magua Negro o Congo Negro), *Trigona (Tetragonisca) angustula* (Chumelo o Doncellita) y *Geotrigona acapulconis* (Talnete). El precio de la miel oscila entre \$ 10.00 (Q80.00) a los \$ 33.00 (Q 250.00) la botella (760ml), dependiendo de la especie de abeja y la demanda del producto (Enríquez et al., 2006).

Las obreras *Tetragonisca angustula* (*T. angustula*) son abejas de 4 mm. de longitud, cuerpo fino o alargado, abdomen amarillo, cabeza y tórax negro brillante y con escaso pelo. Las patas posteriores se destacan porque las tibias son negras y brillantes y poseen una corbícula o canasta de polen. Los machos no tienen corbícula, la cara tienen manchas conspicuas, las antenas son más largas que las hembras y el tórax es más voluminoso. Las reinas vírgenes generalmente son muy parecidas a las obreras, pero una vez son fecundadas y están en postura, el abdomen se desarrolla mucho debido a la activación de sus ovarios, pudiendo ser diferenciadas fácilmente de las obreras (Nates, 2005).

La abeja *T. angustula* mantiene una producción de miel desde los 500 ml. Hasta 1 litro al año. En un estudio realizado por Agostini y Sazima (2003), se evaluó el número de especies de abejas Apinae y Meliponinae, que visitan con mayor frecuencia las flores de las plantas, así como también la diversidad de plantas;

resultó que la *T. angustula* fue la abeja que visitó mayor diversidad de plantas; después de *Trigona spinipis Fabricius* y *A. mellifera L.* Las *meliponas* tienen un gran potencial como abejas polinizadoras. Según Aidar (1999), las especies vegetales más importantes para las abejas *T. angustula* son el mango (*Magnifera indica L.*), guayaba (*Psidium guajava*), limón (*Citrus limón Burm*) y maracuyá (*Pasiflora edulis Sims*). El radio de colecta de polen varía según la especie de *meliponas*, puede ir desde los 200 metros hasta los 600 metros para *T. angustula* (Gamero, 2006).

4.4.2 Miel

Solamente se conoce la definición que el “Codex Alimentarius” asigna a la miel de *Apis mellifera* “Se entiende por miel la sustancia dulce natural producida por abejas *Apis mellifera* a partir del néctar de las plantas o de secreciones de partes vivas de éstas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure y añeje” (Codex Alimentarius, 2001).

4.4.3 Miel de abejas nativas

La miel de abejas varía de acuerdo a factores como el recurso floral disponible para la obtención de polen y néctar, área geográfica y especie de abejas en cuestión. (Enríquez, y Maldonado, 2008). La miel de abeja *Melipona beecheii* es llamada en Guatemala “miel blanca de colmena grande Criolla”, la población rural la utiliza para curar problemas gastrointestinales, enfermedades del tracto respiratorio, golpes y otros (Enríquez, Yurrita, Aldana, Ocheíta, Jáuregui y Chau, 2004). Se ha utilizado con éxito en Medicina Veterinaria en el tratamiento de conjuntivitis (Comunicación personal, García, 10 de junio de 2017). La miel de *T. angustula* es tradicional y ampliamente utilizada en el tratamiento de varias afecciones, especialmente de las vías respiratorias y los ojos, debido a que es una

de las abejas más limpias que se conocen (Nates, 2005). En el cuadro 1 se observa los componentes fisicoquímicos de la miel de abejas sin aguijón propuestos a la Comisión del Codex Alimentarius.

Cuadro 1. Composición fisicoquímica de la miel de Meliponas propuesta a la Comisión del Codex Alimentarius

Composición de la miel	Estándares		
	<i>Melipona</i>	<i>Scaptotrigona</i>	<i>Trigona</i>
Humedad (g/100g)	Max. 30.0	Max. 30.0	Max. 30.0
Azúcares reductores (g/100g)	Min. 50.0	Min. 50.0	Min. 50.0
Sucrosa (g/100g)	Max. 6.0	Max. 2.0	Max. 6.0
Acidez (meq/100g)	Max. 70.0	Max. 85.0	Max. 75.0
Cenizas (g/100g)	Max. 0.5	Max. 0.5	Max. 0.5
Hidroximetilfurfural (mg/Kg)	Max. 40.0	Max. 40.0	Max. 40.0
Actividad de la Diastasa (DN)	Min. 3.0	Min. 3.0	Min. 7.0

Fuente Vit, Medina, y Enríquez, 2004

4.4.4 Otros componentes químicos de la miel

La composición bioquímica de la miel de abejas sin aguijón está determinada principalmente por una alta cantidad de monosacáridos, que constituyen del 53 al 80% de la miel; agua, alrededor de un 23 al 31%; minerales y sustancias nitrogenadas; ácidos orgánicos los cuales confieren a la miel un pH de 3.6 a 4.2, entre otros compuestos (Enríquez, et al., 2006). En el cuadro 2 se menciona algunos de los usos que se le da a la miel de abejas sin aguijón.

Cuadro 2. Usos terapéuticos de la miel de abejas nativas

Nombre científico	Utilidad
<i>Melipona beecheii</i>	Afecciones estomacales (Diarrea, gastritis, dolor de estómago); llagas y heridas en la piel; alimento energizante; dolores menstruales; insomnio; manchas en cara; afecciones respiratorias (bronquitis); golpes; afecciones en oculares.
<i>Tetragonisca angustula</i>	Afecciones oculares (catarata y pterigión); úlceras; golpes; malestares estomacales y como energizante.
<i>Geotrigona acapulconis</i>	Fracturas; golpes; afecciones oculares; limpieza de riñones; purgante.
<i>Plebeia</i> sp.	Afecciones oculares (catarata, pterigión); golpes; dolor estomacal.

Fuente Vit, Medina y Enríquez, 2004

4.4.5 Extracción de la miel de las colmenas

Se abre la caja y cortar con la ayuda del cuchillo los potes de miel en un solo paquete. Evitar romper los potes de polen porque atraen a los fíridos. Se colocan los potes de miel en un recipiente y se exprimen para sacar la miel, la cual se cuela con un cedazo o manta fina para luego colocarla en la botella de vidrio, para almacenarla en un lugar fresco y seco. Otra técnica es extraer la miel, directamente de los potes con ayuda de una jeringa (Enríquez et al., 2006).

4.4.6 Propóleo

El propóleo es una sustancia resinosa de color pardo rojizo o amarillo verdoso producido por las abejas a partir de resinas y que tiende a oscurecerse. Este polímero balsámico resinoso de las abejas contiene, fundamentalmente, cera y aceites esenciales, y es una sustancia muy compleja, (Tringale, 1989; Asís, 2007). Soluble en alcohol y en solventes, tales como, éter, cloroformo, acetona, benceno, tricloroetileno y otros (Root, 1959; Tringale, 1989; Saiz y Serrano, 2003). Es sumamente inestable en frío, se comienza a ablandar a partir de los 15° C. tiene su punto de fusión en los 62 – 70° C (Root, 1959; Asís, 2007; Saiz y Serrano, 2003). El propóleo es un subproducto, que sirve a las abejas para protegerse de agentes externos, lo recolectan de exudaciones de los árboles, le adicionan cera por medio de sus glándulas y lo utilizan como sellador de la colmena (Enríquez, et al., 2004).

4.4.7 Composición química del propóleo

La composición química del propóleo es compleja y depende de la flora de la región donde es recolectado, los microorganismos presentes en el entorno geográfico, la técnica de obtención y de factores climatológicos que influyen, además, en las características microscópicas y organolépticas del propóleo (Noriega y Rodríguez, 2014). En el cuadro 3 se describe la composición química del propóleo.

Cuadro 3. Composición química del propóleo

Composición química del propóleo	%
Resinas	40-80
Ceras	50
Aceites esenciales	4,5 - 15

Minerales simples	5-11
Impurezas mecánicas	< 15
Sustancias tánicas	4 – 10,5
Polen	5 – 11

Fuente: Saiz y Serrano, 2003; Asís, 2007

4.4.8 Otros compuestos identificados en el propóleo

En el propóleo han sido identificados más de 300 componentes: polifenoles que incluyen flavonoides, flavonas (destacando la crisina y fundamentalmente la galangina), flavonoles (principalmente quercitina), flavononas como la pinocembrina, agliconas, ácidos benzoicos, ácidos cinámicos, aldehído cinámico, y alcohol cinámico, ácidos fenólicos y sus ésteres. En el propóleo existe una gran cantidad de ácidos grasos, como el ácido undecanóico, ácido neurónico y los ácidos insaturados. Se han encontrado cantidades variables de las siguientes vitaminas: A1, B1, B2, B6, C, E, ácido nicotínico y ácido pantoténico. En el propóleo han sido detectados los siguientes microelementos: aluminio, bario, bismuto, calcio, potasio, sodio, cobalto, cobre, estroncio, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plata, silicio, vanadio, boro, cromo, selenio, molibdeno y zinc (Tringale, 1989; Saiz y Serrano, 2003; Asís, 2007).

Los flavonoides son pigmentos vegetales, similares a las antocianinas, cuya función en las plantas es realizar una acción de protección y estimulación de las funciones metabólicas básicas, tales como la respiración. Las flavonas se encuentran en grandes cantidades en los cogollos de las plantas que ejercen una acción protectora eficaz contra la adversidad parasitaria y los rigores del invierno, las acciones de protección se acentúan aún más por la capa de cera-resinosa de las gemas del mismo (Tringale, 1989).

Los ácidos aromáticos, ésteres y otros derivados tales como el cafeato de fenetilo, cinamato de bencilo, metilcinamato, ácido cafeico, cinamato de cinamilo y

cinamoglicina, son responsables por las propiedades antifungales, antivirales, antiinflamatorias y anticancerígenos del propóleo. El propóleo no contiene albúmina, ácidos nucleicos, lípidos ni hormonas (Asís, 2007).

En 1960 comienzan las primeras investigaciones, donde Lavie demuestra la actividad bacteriostática del propóleo, evidenciando una alta actividad sobre *Bacillus subtilis*, *Bacillus alves* y *Proteus vulgaris*; una actividad media sobre *Salmonella* y *Bacillus larvae*. La actividad fue nula sobre *Escherichia coli* y *Pseudomonas pyocyanea* (Saiz y Serrano, 2003).

Varios equipos de investigadores han examinado la acción del propóleo contra el desarrollo de la bacteria *H. pylori*. Darren Morton y su equipo del Hospital General de Rotterdam, en el Reino Unido, han presentado en el Congreso sobre Enfermedades Intestinales celebrado en San Diego (Estados Unidos), una investigación sobre la efectividad del propóleos sobre este patógeno (Saiz y Serrano, 2003).

4.4.9 Propiedades atribuidas

4.4.9.1. Antioxidantes

Los flavonoides son poderosos antioxidantes capaces de eliminar los radicales libres y proteger la membrana celular contra la peroxidación lipídica. (Noriega y Rodríguez, 2014). Los antioxidantes más potentes del propóleo son la querceina, kampferol, miricetina, naringenina y hesperetina, especialmente la primera y en general el consumo de flavonoides como los contenidos en el propóleo de diferentes plantas está relacionado con una mejor ocurrencia de trastornos isquémicos, enfermedad cerebrovascular, cáncer prostático y de los pulmones, diabetes de tipo 2 y asma (Asís, 2007).

4.4.9.2. Acción fungicida

La Guardia (2011), realizó un estudio validando la actividad biológica de las tinturas de los propóleos contra hongos causantes de dermatitis micóticas en perros ya que todas las tinturas de propóleo al 10.5% (CIM) y concentraciones superiores, tuvieron actividad antimicótica y antilevadura “in vitro”.

4.4.9.3. Acción antibacteriana

Las propiedades del propóleo pueden ser atribuidas principalmente, a los flavonoides pinocembrina, galangina, pinobanksina, pinobanksina-3-acetato y éster bencil del ácido p-cumárico. También intervienen el ácido benzoico, ferúlico y cafeico. El ácido cafeico es uno de los compuestos que intervienen en la actividad del propóleo contra *Streptococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Helminthosporium sp.* El propóleo es activo frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Bacillus anthracis* y *Erisipeothrix rusihepatiae*; es muy poco activo frente a *Bacillus bombicis*, el *Streptococcus bombicis* y es inactivo frente a *Escherichia coli*, *Streptococcus apis* y *Bacillus larvae* (Asís, 2007).

4.4.9.4. Antiviral

Los flavonoides revelan una actividad antiviral bien definida, en particular la apigenina, acacetina y pectolinarigenina están presentes en las yemas del álamo y del abedul. El propóleo inactiva los virus de Aujeszky y la cepa vacunal La Sota, pero no al de la encefalomiocarditis; además el propóleo es inocuo para los animales de laboratorio y los embriones de pollo (Asís, 2007).

Amoros y Sauvager de la Facultad de Medicina de Rennes, (citado en Fierro, 2000) confirmaron la acción virulicida frente al herpes tipo 1 y 2, y frente al

Poliovirus, estableciendo que los flavonoides, que actúan en sinergismo con un éster del ácido cafeico y el ácido ferúlico, reducen la síntesis del ADN viral.

4.4.9.5. Antiinflamatoria

En estudios "in vivo" la actividad antiinflamatoria observada podría estar relacionada con varios mediadores de la inflamación como son las prostaglandinas, leucotrienos y la histamina (Saiz y Serrano, 2003). Song et al., 2002 (citado en Saiz y Serrano, 2003), conocida la evidencia de la codependencia existente entre la angiogénesis y la inflamación crónica investigan "in vivo" varios extractos de propóleo, así como CAPE, un principio activo de esta sustancia, observando que la presencia de los compuestos mencionados inhibe la angiogénesis. Estos resultados sugieren que esta actividad antiangiogénica es también responsable de los efectos antiinflamatorios del propóleo.

4.4.10. Técnicas de extracción del propóleo

4.4.10.1. Técnica de raspado

Consiste en raspar con una rasqueta (espátula de metal con agarrador de madera) el propóleo depositado por las abejas sobre los marcos, bordes, tapadera, etc. En este sistema pueden aparecer restos de madera, alas de abejas, entre otros, por lo que debe ser sometido a un proceso de purificación (Dussart, 2007; Lacalle, 2008).

4.4.10.2. Técnica de malla plástica

Se realiza mediante la colocación de una rejilla o malla (tela mosquitera o plástica) sobre la última alza con el fin de despertar el instinto de las abejas obreras, invitándolas a cubrir los agujeros de las diferentes mallas depositando propóleo en

ellos. Estos agujeros pueden ser de cualquier formato, pero no han de superar los 4 mm de diámetro puesto que ésta es la medida del ancho de una obrera, y de ser así las abejas podrían atravesarlo, convirtiéndolo en un lugar de paso, y olvidándose por tanto de cubrirlo. Una vez colectadas las mallas se introducen en un congelador para facilitar la liberación del producto. Posteriormente se introducen en un balde de agua para separar posibles impurezas (ceras, astillas y abejas muertas) del propóleo en sí. Una vez separado el propóleo, se seca a temperatura ambiente o en la nevera para retirarle la humedad adquirida durante el paso de lavado y se almacena en recipientes de vidrio o en papel aluminio protegido de la luz y el aire (Dussart, 2007; Lacalle, 2008).

4.5. Tintura de propóleo

Es una preparación obtenida por maceración del propóleo en alcohol etílico al 70 ó 96% ya que mejora la extracción de sus compuestos. Comúnmente el título de la tintura varía de 15 a 30%, es decir que 100 g de tintura contienen respectivamente 85 a 70 g de alcohol y 15 a 30 g de propóleo. Aunque el propóleo no es completamente soluble en alcohol, este es uno de sus disolventes de elección. La solubilidad del propóleo se reduce de 80 a 50%, ya que aumenta su concentración. Para facilitar esta solubilidad es necesario su pulverización, almacenándolo previamente en la nevera para favorecer el endurecimiento, con un pequeño mortero. Una vez triturado se deja en remojo en alcohol durante unos 15 a 30 días, agitando la solución al menos cada 2-3 días para facilitar el contacto entre las partículas de propóleo y alcohol. Luego se filtra la solución suavemente evitando moverla demasiado para no ocluir los poros del filtro. La tintura de propóleos se conserva bien a temperatura ambiente (20-25°C). Especialmente en aquellos que son para la venta se debe evitar el almacenamiento en lugares demasiado fríos porque la temperatura inferior a 12°C altera algunos compuestos insolubles ocasionando la turbidez de la solución. La luz también puede ser perjudicial para la

tintura por lo que es recomendable utilizar recipientes de vidrio oscuro (Tringale, 1989).

4.6. Recursos alimenticios de las abejas sin aguijón

Los recursos alimenticios de las abejas incluyen polen, néctar, savia, lípidos florales, entre otros. La savia de las plantas es una sustancia acuosa con un pH alto, contiene sacarosa y otros azúcares, aminoácidos, vitaminas, minerales y en algunas ocasiones proteínas, recurso muy utilizado en los trópicos por especies del género *Trigona*. Los lípidos florales son aceites que secretan algunas plantas y que visitan exclusivamente las abejas, contienen aminoácidos, glucosa, carotenoides, fenoles, glicósidos, isoprenoides no volátiles y saponinas que proporcionan altas cantidades de energía. El néctar suele aportar principalmente azúcares y es a base de éste que las abejas producen la miel, al disminuir la cantidad de agua y aportarle enzimas. El polen presenta una gran cantidad de proteínas, vitaminas (A, B, C, D, E y K), minerales, carbohidratos y aminoácidos esenciales, además de elementos como el fósforo, manganeso, azufre, cobre, calcio, potasio, etc. También poseen agentes antibióticos muy poderosos y una provitamina llamada caroteno (Enríquez et al., 2006).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

5.1.1 Recursos humanos

- Investigadora.
- Asesores de investigación.
- Personal de laboratorio.

5.1.2 Recursos de campo

- Frascos de vidrio opaco de 50 ml.
- Papel aluminio.
- Rasqueta.
- Colador.
- Papel filtro.
- Recipientes plásticos.
- Miel pura.
- Propóleo en bruto.
- Alcohol al 70%.
- Hojas de papel.
- Lapiceros.
- Calculadora.

5.1.3 Recursos biológicos

- Colonias de abejas *Tetragonisca angustula*.
- Cepa de *Pseudomonas aeruginosa* (aislada de caninos con otitis).

5.1.4 Recursos de laboratorio

- Plantilla para siembra.
- Cristalería (probetas, beakers, erlenmeyers, tubos de ensayo).
- Papel filtro.
- Disolventes: agua desmineralizada.
- Placas de petri descartables simples y triples.
- Asa bacteriológica.
- Quemador de asas.
- Campana bacteriológica con flujo laminar.
- Balanza analítica.
- Medios de cultivo: Agar sangre, Caldo tripticasa soya, Agar Müller Hinton.
- Discos de sensibilidad: Amikacina, Gentamicina, Cefotetán, Enrofloxacin.
- Agitador magnético y eléctrico.
- Nefelómetro.
- Autoclave.
- Incubadoras a 37°C.
- Refrigeradora a 5°C.
- Enrofloxacin (solución al 2.5%).

5.2. Metodología

Se realizó un estudio “in vitro” para la determinación, mediante la técnica de macrodilución en placa, del efecto inhibitorio de crecimiento de la miel pura de abeja Doncellita (*Tetragonisca angustula*) sobre la cepa de *P. aeruginosa*. Por ser un producto que se utiliza puro, no se determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) evitando alterar su efecto al diluirlo. Por otro lado se realizó el estudio “in vitro” para la determinación, mediante la técnica de macrodilución en placa, del efecto

inhibitorio de crecimiento de tintura de propóleo de abeja *Doncellita* (*Tetragonisca angustula*) al 10% sobre la cepa de *P. aeruginosa*. Se trabajó con un grupo control positivo (a inhibición), para ello se utilizó enrofloxacin al 2.5% que fue el antibiótico que presentó inhibición del crecimiento bacteriano en el antibiograma de disco. Se trabajó un grupo control negativo (a inhibición) al cual solamente se le añadió alcohol etílico al 70% que fue la concentración utilizada para elaborar la tintura.

5.2.1. Área de trabajo

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología y la Granja Experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. La granja experimental tiene una extensión de 14 hectáreas, está localizada en la Ciudad Universitaria de la zona 12, ciudad de Guatemala. Se encuentra dentro de la zona de vida “bosque húmedo subtropical templado”, a una altitud de 1551.5 m.s.n.m., con una temperatura que oscila entre 20°C – 26°C y una precipitación pluvial entre 1,100 – 1,345 mm / año distribuidas de mayo a noviembre, la humedad relativa media anual es de 78%. (De la Cruz, 1976)

5.2.2. Obtención y selección de cepa bacteriana

Se empleó la cepa de *P. aeruginosa* perteneciente al cepario del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia la cual fue aislada de pacientes caninos con otitis. Esta bacteria fue seleccionada en base a la incidencia de la misma en infecciones de oído y piel de perros, así como en infecciones nosocomiales en humanos y por la resistencia que presenta a diferentes antimicrobianos.

5.2.3. Reactivación de la cepa bacteriana y preparación del inóculo

Para la preparación del inóculo se reactivó la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, sembrándola en agar sangre e incubándola a 37°C por 24 horas en aerobiosis. Luego se tomó una asada de ese cultivo, y se inoculó en caldo Trypticasa Soya para ser incubada a 37°C por 24 horas. De esta solución se tomó 0.05 ml y se diluyó en 4.95 ml de solución salina estéril, luego se procedió a homogenizar.

5.2.4. Selección del antibiótico

Se determinó por medio de un antibiograma el antibiótico que produjo mayor inhibición en el crecimiento de esta cepa bacteriana para ser utilizado como control positivo (a inhibición). Para ello se utilizó gentamicina 10 µg, amikacina 30 µg, cefotetán 30 µg y enrofloxacin 5 µg por estar disponibles en el laboratorio siendo enrofloxacin el antibiótico al que la *P. aeruginosa* presentó mayor susceptibilidad.

5.2.5. Obtención de miel

Se obtuvo miel pura directamente de las colmenas de abeja Doncellita del meliponario ubicado en la Granja Experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, haciendo uso de la técnica de extracción de miel de los potes con jeringa estéril, colocándola en recipientes de vidrio estériles y almacenándola en refrigeración (6°C).

5.2.6. Preparación del agar miel

Se preparó en un erlenmeyer estéril agar Müller-Hinton en forma líquida y se reservó para permitir que bajara la temperatura a 50°C y luego mezclarlo con la miel. En una placa de petri estéril simple se depositó 1.5 ml de miel pura, luego se depositó 13.5 ml del agar preparado previamente, se homogenizó y fue incubada a

37°C por 24 horas para determinar su esterilidad. Las placas fueron incubadas en posición directa (no invertida) ya que en un ensayo previo se determinó que al invertir la placa, la miel se derramaba. Se realizó 5 repeticiones de este procedimiento.

5.2.7. Obtención de propóleo

El propóleo crudo se obtuvo de las colmenas de abeja Doncellita del meliponario ubicado en la Granja Experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia mediante técnica de raspado y de malla plástica (Dussart, 2007; Lacalle, 2008) según fue necesario, colocándolo en papel aluminio para que no fuera afectado por la luz. Se mantuvo el propóleo crudo en congelación por 48 horas, hasta el momento de la elaboración de la tintura.

5.2.8. Elaboración de tintura de propóleo

Luego de pasar 48 horas en el congelador se procedió a extraer el propóleo para macerarlo o triturarlo. Se pesó 10g. de propóleo en un frasco de vidrio opaco y se le agregó 90g. de alcohol etílico al 70% para obtener una concentración de propóleo al 10%. Para la concentración al 20% se agregó 20g. de propóleo y 80g. de alcohol etílico al 70%. Se almacenó la mezcla a temperatura ambiente en lugar fresco y se agitó 30 minutos diarios durante 15 días para favorecer la extracción del propóleo. Se procedió entonces a filtrar la preparación para separar la cera y otros solutos presentes (Tringale, 1989).

5.2.9. Preparación del agar propóleo

Para determinar la actividad antimicrobiana de la tintura de propóleo se tomó como base el método de dilución descrito por (Mitscher et al., 1972). Primero se realizó la fase de tamizaje que consistió en preparar en un Erlenmeyer estéril agar

Müeller-Hinton en forma líquida y se reservó para que bajara su temperatura 50°C y luego mezclarlo con la tintura.

- Tintura al 10%: en una placa de petri estéril de triple compartimiento (se identificó A, B, C), se depositó en el compartimiento “A” 1 ml de tintura de propóleo al 10%, luego se depositó 9 ml del agar preparado previamente, se homogenizó y fue incubada en posición invertida a 37°C por 24 horas para determinar su esterilidad.
- Tintura al 20%: en una placa de petri estéril de triple compartimiento (se identificó A1, D, E), se depositó en el compartimiento “A1” 1 ml de tintura de propóleo al 20%, luego se depositó 9 ml del agar preparado previamente, se homogenizó y fue incubada en posición invertida a 37°C por 24 horas para determinar su esterilidad. Se realizó 5 repeticiones de este procedimiento.

5.3. Preparación de los grupos controles

5.3.1. Control positivo (A inhibición)

Se preparó en un Erlenmeyer estéril agar Müeller-Hinton en forma líquida y se reservó para permitir que bajara la temperatura a 50°C y mezclarlo con el antibiótico seleccionado en el antibiograma. En la placa de petri estéril triple se depositó en el compartimiento “C” 1 ml de enrofloxacin al 2.5% y luego se depositó 9 ml del agar preparado anteriormente, se homogenizó para posteriormente incubarla en posición invertida a 37°C por 24 horas. En el control positivo no se esperaba crecimiento bacteriano. Se realizó cinco repeticiones de este procedimiento.

5.3.2. Control negativo (A inhibición)

Se preparó en un Erlenmeyer estéril agar Müeller-Hinton en forma líquida y se reservó para permitir que bajara la temperatura a 50°C y mezclarlo con etanol al

70%. Esto con la finalidad de demostrar que el alcohol presente en la tintura no tuvo efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano. En la placa de petri triple se depositó en el compartimiento “B” 1 ml. de alcohol al 70% y luego se depositó 9 ml del agar preparado anteriormente, se homogenizó para posteriormente incubarla en posición invertida a 37°C por 24 horas. En el control negativo si se esperaba crecimiento bacteriano. Se realizó cinco repeticiones de este procedimiento.

5.4. Siembra de la cepa bacteriana en el agar

Este procedimiento se realizó tanto para el grupo miel como para el grupo propóleo y los respectivos controles. La inoculación se llevó a cabo tomando una azada de la solución salina estéril, obtenida de la reactivación de la cepa y preparación del inóculo, con la *P. aeruginosa*, se inoculó en las placas de Petri con los respectivos agares haciéndolo en forma radial siguiendo la dirección de las agujas del reloj, para ello se utilizó una plantilla como guía quedando 8 posiciones por placa, se dejó incubar a 37°C por 24 horas en aerobiosis.

5.5. Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de tintura de propóleo

5.5.1. Técnica de macrodilución

De determinar actividad positiva de la tintura de propóleo al 10% en la fase anterior se procedería a determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) realizando diluciones seriadas (5%, 2.5% 1.25%, 0.625%) hasta encontrar la concentración mínima que fuera capaz de inhibir el crecimiento visible de la bacteria a 37°C por 24 horas. Al no encontrar actividad positiva en la concentración propuesta (10%), en la fase anterior, se procedió a evaluar el efecto en concentración de 20% para determinar posteriormente la CIM. Al no encontrar

efecto inhibitorio de crecimiento a esta última concentración, no se evaluó a una concentración más alta debido a su alto costo.

5.5.2. Interpretación de resultados o variables a medir

- Positivo a inhibición de crecimiento: no hay crecimiento bacteriano a lo largo de la inoculación (+).
- Negativo a inhibición de crecimiento: si hay crecimiento bacteriano a lo largo de la inoculación (-).
- Contaminación: hay crecimiento bacteriano fuera de la inoculación.

5.6. Análisis de datos

Para analizar los datos obtenidos del efecto antibacteriano de la miel y tintura de propóleo de la abeja Doncellita (*Tetragonisca angustula*) se utilizó estadística descriptiva anotando en hojas de registro previamente elaboradas los resultados de la inhibición o no del crecimiento bacteriano observado en las siembras realizadas y la presentación de resultados se realizó por medio de tablas. Se realizó 5 repeticiones de cada grupo para validar el estudio y poder obtener porcentajes de los resultados.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este estudio evaluó el efecto antibacteriano de productos naturales que están al alcance de la sociedad, son económicos, accesibles y pueden ser una alternativa para el tratamiento de infecciones causadas por *P. aeruginosa*, para la cual se ha reportado resistencia a varios antibióticos, (Trabanino, 2013; OMS, 2017). En esta investigación se observó que la miel pura de abeja Doncellita inhibió el 100% del crecimiento de la bacteria *P. aeruginosa* por medio de la técnica de macrodilución en placa, utilizando como base el método de dilución Mitscher, por lo tanto, se acepta la hipótesis planteada. La tintura de propóleo al 10% y 20% de abeja Doncella presentó 0% de inhibición de crecimiento de la *P. aeruginosa*, por lo que se rechaza la hipótesis planteada. El agar Müeller Hinton es el mejor medio para las pruebas de sensibilidad de rutina de la mayoría de bacterias ya que permite obtener resultados confiables, tiene baja cantidad de inhibidores para sulfonamidas, trimetoprim y tetraciclinas, permite buen crecimiento de la mayoría de patógenos y existe evidencia experimental sobre pruebas de sensibilidad realizadas con este medio (OIE, 2012).

Para el grupo miel se realizó cinco repeticiones es decir cinco placas individuales y en cada una de ellas se realizó 8 inoculaciones según la plantilla de siembra utilizada. En el cuadro 4 se observa como la miel pura presentó el 100% de inhibición de crecimiento *in vitro* de la *P. aeruginosa* ya que, de las cinco repeticiones realizadas, en ninguna de las ocho posiciones inoculadas se observó crecimiento bacteriano.

Cuadro 4. Resultados de inhibición del crecimiento bacteriano *in vitro* de miel pura de Abeja Doncellita contra *P. aeruginosa*

POSICIONES INOCULADAS	BACTERIA	REPETICIONES				
		1	2	3	4	5
1	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	+
2	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	+
3	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	+
4	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	+
5	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	+
6	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	+
7	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	+
8	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	+
Porcentaje de positivo	100%					
Porcentaje de negativo	0%					

Fuente: Datos Experimentales

- Positivo a inhibición: no hay crecimiento bacteriano a lo largo de la inoculación (+).
- Negativo a inhibición: si hay crecimiento bacteriano a lo largo de la inoculación (-).

En este estudio se obtuvo resultados similares a los obtenidos en países Latinoamericanos donde Zamora y Arias (2011), demostraron en Costa Rica, sensibilidad de *P. aeruginosa* a la miel de abejas sin aguijón. Gamboa y Figueroa (2008), mediante pruebas *in vitro* determinaron la capacidad antibacteriana de 37 mieles de *Tetragonisca angustula* de siete regiones de Colombia, siendo efectiva contra bacterias Gram positivas y negativas.

A pesar de los pocos estudios que existen en Guatemala sobre las propiedades que posee la miel de abejas nativas, se tiene antecedentes de la miel de *Melipona beecheii* contra *Staphylococcus aureus* en donde Dardón (2005) mediante la técnica de macrodilución en placa determinó actividad antibacteriana de esa miel y relacionó la diversidad del recurso floral de las abejas con la misma.

Dardón y Enríquez, (2008), Fallas, Solórzano, Zamora, Arias, Umaña, y Aguilar, (s.f.) determinaron que la miel de mayor diversidad de especies florales fue la que presentó mayor capacidad para inhibir el crecimiento de *P. aeruginosa*. En este estudio se obtuvo el efecto de inhibición del crecimiento de *P. aeruginosa*, bacteria gramnegativa con resistencia a antibióticos como cefalosporinas, amikacina, ciprofloxacina, lincomicina, ampicilina, entre otros (Bernal, Osorio y Torres, 2015).

Asís (2007) relaciona la actividad antibacteriana de la miel de abeja con su osmolaridad por el alto contenido de azúcares, el pH bajo, el cual puede ser neutralizado al diluir la miel con sustancias neutralizantes, y el peróxido de hidrógeno, producido por la enzima glucosa oxidasa, la cual puede ser inactivada por el calor y la luz. La miel evaluada en este estudio tenía un pH 4 que es menor a la reportada por Dardón y Enríquez en 2008, esto podría contribuir con la inhibición del crecimiento de *P. aeruginosa* que crece a un pH 7.

Romero y Gómez (2013), sugieren que la miel de la abeja *Tetragonisca angustula*, posee propiedades antibacteriales que la hacen efectiva para detener el crecimiento *in vitro* de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo y que el efecto antibacterial de esta se debe a su alto contenido de humedad, mayor acidez y peróxido de hidrógeno. Sin embargo, Estrada, Gamboa, Chaves y Arias, (2005) mencionan que, aunque las propiedades antimicrobianas de la miel comúnmente se le han atribuido a su alta osmolaridad y a la acidez, esto no es aplicable cuando la miel ha sido diluida, ya que cuando la miel es diluida, ni la osmolaridad ni el pH son suficientes como agentes antimicrobianos y es allí es donde cobran importancia el peróxido de hidrógeno y los componentes fitoquímicos contenidos en ella. Esto lo apoya un estudio de Taormina, Niemira y Beuchat, (2001), donde determinaron que el principal factor antibacteriano de la miel es el peróxido de hidrógeno, que es producido por la glucosa oxidasa procedente de las glándulas hipofaríngeas de las abejas. También agregan que otros factores que no son peróxidos como lisozima, los ácidos fenólicos y flavonoides presentes en la miel también pueden contribuir

como antimicrobianos. Esto lo confirma Fallas, et al, (s.f.) quienes encontraron los flavonoides (Quercetina, Kaemferol, Naringenina y Leutolina) en miel especies de *T. angustula* y *M. beecheyi*.

Los resultados obtenidos en este estudio difieren con lo reportado por Sgariglia, Vattuone, Sampietro, Soberón y Sampietro (2010) en donde una de las dos cepas de *P. aeruginosa* evaluadas, presentó resistencia a la miel de *T. angustula*; por otra parte, ellos sugieren que el contenido de los azúcares en la miel no interfiere con el crecimiento bacteriano por lo que la actividad antibacteriana de la miel se debe a otros componentes y no a los azúcares.

Este estudio abre las puertas a la realización de nuevos trabajos de investigación y experimentación sobre la miel pura de abeja Doncella y muestra la posibilidad de utilizarla como un inhibidor del crecimiento de la *P. aeruginosa*, bacteria gramnegativa que es de importancia en la medicina humana y animal por la resistencia que ha demostrado a varios antibióticos.

Para el grupo propóleo al 10% se realizó 5 repeticiones las cuales fueron colocadas cada una en el compartimiento "A" de cada una de las cinco placas triple utilizadas, en cada compartimiento "A" se realizó 4 inoculaciones. En el cuadro 5 se observa que la tintura de propóleo en concentración al 10% presentó un 0% de inhibición del crecimiento *in vitro* de la *P. aeruginosa*, ya que, de las cinco repeticiones realizadas, en las 20 posiciones se observó crecimiento.

Cuadro 5. Resultados inhibición del crecimiento bacteriano *in vitro* de tintura de propóleo AL 10% de Abeja Doncellita contra *P. aeruginosa*

REPETICIONES	BACTERIA	POSICIONES INOCULADAS			
		1	2	3	4
1	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
2	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
3	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
4	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
5	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
Porcentaje de positivo	0%				
Porcentaje de negativo	100%				

Fuente: Datos Experimentales

- Positivo a inhibición: no hay crecimiento bacteriano a lo largo de la inoculación (+).
- Negativo a inhibición: si hay crecimiento bacteriano a lo largo de la inoculación (-).

El propóleo es una sustancia de composición compleja elaborada por las abejas, a partir de resinas de plantas que las mismas modifican por glucólisis con enzimas de las glándulas de su hipofaringe y mezclan con cera y polen, es usado en la colmena como material de sellado durante el invierno y mantiene un ambiente aséptico en la misma (Bankova, De Castro y Marcucci, 2000). Bankova y Popova (2007), indican que la composición de las resinas que conforman el propóleo, colectado en diferentes meses del año puede significar diferencias en cuanto a la actividad antimicrobiana del mismo, así también que el origen vegetal de los propóleos en las abejas sin aguijón es distinto al de la especie *Apis mellifera* en un mismo hábitat, y más aún que hay variación en la composición química de los propóleos entre las diferentes especies de los meliponinos. Martínez, García, Durango y Gil (2012) por su parte revelan en un estudio, mayor actividad antibacteriana del propóleo extraído con la técnica de malla plástica que con la de raspado, así mismo indican en ella menor contenido de humedad, cera y de cenizas y mayor contenido de resinas con actividad biológica. El propóleo utilizado en este

estudio fue colectado durante el mes de noviembre, recién finalizada la época de invierno en nuestro país y cabe mencionar que a pesar de haber colocado láminas plásticas dentro de las colmenas para promover en las abejas la elaboración de propóleo al cubrir dichas láminas, se extrajo muy poco por lo que se completó la muestra con la técnica de raspado.

Hay estudios que evidencian la efectividad del propóleo de *A. mellifera* contra bacterias enteropatógenas (Gil, Perelli, Alvarado, Arias y Blumenthal, 2012) y bacterias Gram positivas y Gram negativas incluyendo *P. aeruginosa* (Tolosa y Cañizares, 2002). Mayta y Sacsquispe (2010), encontraron efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de propóleo al 10% y 30% de Oxapampa-Perú frente al *S. mutans* y *S. aureus*. Meresta y Meresta (citado en Marcucci, 1995), encontraron sensibilidad de 69 cepas bacterianas de *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp. a extractos de propóleos.

Con el resultado obtenido al evaluar la tintura de propóleo al 10% se procedió a realizar el estudio a una concentración de 20%. Se utilizó una placa de tres compartimientos, en un compartimiento se introdujo agar Müller Hinton que fue utilizado como control negativo, en el otro compartimiento se introdujo agar miel y en el otro agar propóleo al 20%. Se realizó 5 repeticiones es decir 5 placas triples y en cada uno de los compartimientos se realizó 4 inoculaciones respectivas. Como se observa en el cuadro 6 se determinó los siguientes resultados: la miel inhibió el crecimiento del 100% de las siembras de *P. aeruginosa*, pues, de las 20 inoculaciones, en ninguna se observó crecimiento bacteriano. La tintura de propóleo al 20% no inhibió el crecimiento de *P. aeruginosa* ya que en las 20 inoculaciones realizadas se observó crecimiento bacteriano. Cabe mencionar que en el crecimiento bacteriano en esta concentración las colonias presentaron las siguientes características: pequeñas, convexas y rugosas, comparado con la concentración de tintura al 10% en donde las colonias fueron grandes, lisas y elevadas, por lo que se piensa que a una concentración mayor a la evaluada en

este estudio es probable que el resultado sea diferente. En el grupo control negativo con agar Müeller Hinton únicamente, si hubo crecimiento bacteriano.

Cuadro 6. Resultados inhibición del crecimiento bacteriano *in vitro* de miel pura y tintura de propóleo al 20% de Abeja Doncellita contra *P. aeruginosa*

REPETICIONES POSICION INOCULADA				TINTURA PROPÓLEO AL 20%				REPETICIONES POSICION INOCULADA				A. MÜELLER HINTON				REPETICIONES POSICION INOCULADA				MIEL PURA			
1								1								1							
1	2	3	4	-	-	-	-	5	6	7	8	-	-	-	-	9	10	11	12	+	+	+	+
2								2								2							
1	2	3	4	-	-	-	-	5	6	7	8	-	-	-	-	9	10	11	12	+	+	+	+
3								3								3							
1	2	3	4	-	-	-	-	5	6	7	8	-	-	-	-	9	10	11	12	+	+	+	+
4								4								4							
1	2	3	4	-	-	-	-	5	6	7	8	-	-	-	-	9	10	11	12	+	+	+	+
5								5								5							
1	2	3	4	-	-	-	-	5	6	7	8	-	-	-	-	9	10	11	12	+	+	+	+
Porcentaje negativo				100%				Porcentaje negativo				100%				Porcentaje negativo				0%			
Porcentaje positivo				0%				Porcentaje positivo				0%				Porcentaje positivo				100%			

Fuente: Datos Experimentales

Según Carrillo, Castillo y Mauricio (2011), los extractos etanólicos tienen una mayor actividad antibacteriana en comparación con los extractos acuosos, esta actividad depende de la procedencia de los propóleos, del tipo de solvente empleado en su extracción y de la especie bacteriana estudiada siendo las bacterias Gram positivas más susceptibles que las Gram negativas. En este estudio se evaluó el efecto inhibitorio del crecimiento del extracto etanólico, es decir, tintura de propóleo al 10 y al 20%, contra la cepa *P. aeruginosa*, en las dos concentraciones evaluadas, se obtuvo que el 0% inhibió el crecimiento bacteriano. Esto conlleva a la necesidad de realizar estudios más profundos en cuanto a factores que pudieran influir en la propiedad antibacteriana que si demostró tener contra *Staphylococcus aureus* según Manrique y Santana, 2008. El resultado obtenido en la concentración de propóleo al 20% mostró que el crecimiento bacteriano fue diferente al de la

concentración 10% pues éstas fueron pequeñas, convexas y rugosas siendo esto una posibilidad de que a una concentración mucho mayor a ésta, la *P. aeruginosa* sea incapaz de crecer, aunque esto representaría poca rentabilidad debido a la mayor cantidad de propóleo en bruto necesario para elaborar la tintura, pues las abejas nativas producen en menor cantidad comparado con las abejas *A. mellifera*.

Yamamoto (citado en Fierro, 2000), establece que el componente responsable de la acción antibacteriana del propóleo es un derivado del ácido cinámico. Mirzoeva, Grishanin y Calder (citado en fierro, 2000), sugieren que el ácido cinámico y algunos flavonoides desactivan la energía de la membrana citoplasmática, inhibiendo la motilidad bacteriana, haciéndola más vulnerable al ataque del sistema inmunológico y potenciando los antibióticos. Takaisi y Schilcher (citado en fierro, 2000), sugieren que el propóleo desorganiza el citoplasma, la membrana citoplasmática y la pared celular causando bacteriolisis parcial e inhibiendo la síntesis proteica. Estos datos nos obligan a realizar estudios profundos sobre la composición del propóleo de abejas nativas en nuestro país para poder establecer las variaciones en su composición en diferentes épocas de recolección y comparar los efectos de esa acción bacteriana reportada. La información generada en este estudio indica que la miel pura de abeja *T. angustula* nativa en Guatemala inhibe el crecimiento bacteriano de la bacteria *P. aeruginosa*, al mismo tiempo estimula el desarrollo de nuevos estudios para validar esta propiedad atribuida y así contar con una alternativa natural en la medicina tanto veterinaria como humana.

En el antibiograma realizado se determinó que *P. aeruginosa* fue sensible a la enrofloxacin al 2.5% por lo que se utilizó este antibiótico adicionado en agar Müeller Hinton como grupo control positivo. Se realizó 5 repeticiones las cuales fueron colocadas cada una en el compartimiento “C” de cada una de las cinco placas triple utilizadas, en cada compartimiento “C” se realizó 4 inoculaciones. Como se observa en el cuadro 7, en las 20 posiciones inoculadas no hubo crecimiento por el efecto antibacteriano de la enrofloxacin al 2.5%.

Cuadro 7. Grupo control positivo (A Inhibición)

CONTROL POSITIVO (ENROFLOXACINA 2.5%)					
REPETICIONES	BACTERIA	POSICIONES INOCULADAS			
		9	10	11	12
1	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+
2	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+
3	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+
4	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+
5	<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+
Porcentaje positivo		100%			
Porcentaje negativo		0%			

Fuente: Datos Experimentales

- Positivo a inhibición: no hay crecimiento bacteriano a lo largo de la inoculación (+).
- Negativo a inhibición: si hay crecimiento bacteriano a lo largo de la inoculación (-).

El grupo control negativo se realizó con agar Müeller Hinton al cual se le agregó etanol al 70%, que fue la concentración utilizada para elaborar la tintura de propóleo, con el propósito de descartar un posible efecto por parte de éste en el estudio. Se realizó 5 repeticiones las cuales fueron colocadas cada una en el compartimiento "B" de cada una de las cinco placas triple utilizadas, en cada uno de los compartimientos "B" se realizó 4 inoculaciones. Como se observa en el cuadro 8, el etanol no causó efecto alguno en el crecimiento bacteriano pues en las 20 inoculaciones realizadas se observó crecimiento de la bacteria.

Cuadro 8. Grupo control negativo (A Inhibición)

CONTROL NEGATIVO (ETANOL AL 70%)					
REPETICIONES	BACTERIA	POSICIONES INOCULADAS			
		5	6	7	8
1	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
2	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
3	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
4	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
5	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
Porcentaje positivo		0%			
Porcentaje negativo		100%			

Fuente: Datos Experimentales

- Positivo a inhibición: no hay crecimiento bacteriano a lo largo de la inoculación (+).
- Negativo a inhibición: si hay crecimiento bacteriano a lo largo de la inoculación (-).

VII. CONCLUSIONES

- La miel pura de abeja Doncellita, *Tetragonisca angustula* inhibió el 100% del crecimiento *in vitro* de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*.
- La tintura de propóleo al 10 y 20% de abeja Doncellita, *Tetragonisca angustula* no inhibió el crecimiento *in vitro* de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*.

VIII. RECOMENDACIONES

- Evaluar el efecto inhibitorio de crecimiento *in vitro* contra *P. aeruginosa* de las mieles de otras especies de abejas nativas sin aguijón de las diferentes regiones de Guatemala.
- Realizar estudios *in vivo* para comprobar la efectividad de la miel pura de abeja Doncellita sobre la bacteria *P. aeruginosa*.
- Evaluar el efecto inhibitorio de crecimiento *in vitro* de la miel de abeja Doncellita contra bacterias resistentes a los antibióticos en Medicina Veterinaria y en humanos.
- Realizar estudios químicos en el propóleo para evaluar su composición según la época de recolección, método de obtención, recurso floral, y determinar si éstos influyen en dicha composición.

IX. RESUMEN

Pseudomonas aeruginosa es una de las bacterias cuya resistencia es más preocupante desde el punto de vista de salud pública y es uno de los patógenos con prioridad crítica que necesitan investigación y desarrollo de nuevos antibióticos según la Organización Mundial de la Salud. En medicina veterinaria es una de las bacterias más comúnmente aisladas en otitis e infecciones dérmicas en perros presentando resistencia a diferentes antibióticos. En Guatemala la miel de abejas sin aguijón es utilizada para problemas gastrointestinales, oculares, del tracto respiratorio, golpes y otros, en medicina veterinaria para problemas de conjuntivitis y cicatrización. Las propiedades atribuidas al propóleo son antibacteriana, antiviral, antiinflamatoria, fungicida, antioxidante, antiparasitaria, entre otras. Esta investigación tuvo como propósito determinar el efecto antimicrobiano “*in vitro*” de la miel pura y la tintura de propóleo al 10% y 20% de la abeja *Tetragonisca angustula* contra la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* por medio de la técnica de macrodilución en placa añadiendo en agar Müeller Hinton miel pura y tintura de propóleo para la obtención del agar miel y agar propóleo respectivamente. Se trabajó con un grupo control positivo (a inhibición), utilizando enrofloxacina al 2.5%, así como un grupo control negativo al cual solamente se le añadió etanol al 70%. Para el grupo miel se realizó un total de sesenta inoculaciones, se determinó que el 100% presentó inhibición del crecimiento bacteriano. Para el grupo propóleo al 10% se realizó un total de veinte inoculaciones, en el 100% de ellas no se observó inhibición del crecimiento bacteriano. Para el grupo propóleo al 20% se realizó un total de 20 inoculaciones, en el 100% de ellas no se observó inhibición del crecimiento bacteriano.

Este estudio indica que la miel de abeja *Tetragonisca angustula* es capaz de inhibir el crecimiento de *P. aeruginosa* y valida su efecto antibacteriano *in vitro*, por lo que podría representar una alternativa terapéutica en medicina veterinaria y

humana para el tratamiento de afecciones que difícilmente responden a protocolos terapéuticos convencionales.

SUMMARY

Pseudomonas aeruginosa is one of the bacteria whose resistance is most worrying from the point of view of public health and is one of the critical priority pathogens that need research and development for new antibiotics According to the World Health Organization. In veterinary medicine it is one of the most commonly isolated bacteria in otitis and dermal infections in dogs presenting resistance to different antibiotics. In Guatemala the honey of stingless bees is used for gastrointestinal problems, ocular, of the respiratory tract, blows and others, in veterinary medicine for conjunctivitis problems and cicatrization. The benefits associates to propolis are antibacterial, antiviral, anti-inflammatory, fungicidal, antioxidant, antiparasitic, among others. The purpose of this research was to determine the antimicrobial effect "in vitro" of pure honey, the 10% and 20% propolis tincture of the bee *Tetragonisca angustula* against the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* by means of the plate macrodilution technique adding in agar Mueller Hinton pure honey and propolis tincture to obtain honey agar and propolis agar respectively, it worked with a positive control group (to inhibition), using 2.5% Enrofloxacin, as well as a negative control group to which only ethanol was added 70%. For the honey group a total of sixty inoculations were carried out, it was determined that 100% presented inhibition of bacterial growth. For the propolis group at 10% a total of twenty inoculations were performed, in 100% of them no inhibition of bacterial growth was observed. For the 20% propolis group a total of 20 inoculations were performed, in 100% of them no inhibition of bacterial growth was observed.

This study indicates that *Tetragonisca angustula*'s honey is able to inhibit the growth of *P. aeruginosa* and validates its antibacterial effect in vitro, therefore it could represent a therapeutic alternative in veterinary and human medicine for the treatment of conditions that are difficult to respond to protocols conventional therapeutic.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Asís, M. (2007). *Apiterapia 101 para todos*. Como usar los siete productos de la colmena para curar a una comunidad. Miami FL.: Rodes Printing.
- Agostini, K. y Sazima, M. (2003). Plantas ornamentais e seus recursos para Abelhas no campus da Universidade Estadual de Campinas, Estado de São Paulo, Brasil. *Bragantia*, 62(3), 335-343. doi: 10.1590/S00068705200300030001
- Agreda, Girón, D.M. (2015). *Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de la infusión de hojas de orégano (Lippia Graveolens HBK) sobre las principales bacterias aisladas de enteritis en lechones*. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Bankova, V. y Popova, M. (2007). Propolis of stingless bees: A promising source of biologically active compounds. *Pharmacognosy Review*, 1(1), 88-92.
- Bernal, Y., Osorio, K. y Torres, O. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*: un problema nosocomial emergente en veterinaria. *Revista MVZ Córdoba*, 20(4), 937-4946.
- Brooks, G.F., Butel, J.S. y Morse, S.A. (2002). *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. México, D.F.: El Manual Moderno.
- Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S., Morse, S.A. y Mietzner, T.A. (2011). *Jawetz, Melnick y Adelberg, Microbiología Médica*. México, D.F.: McGraw-Hill Interamericana.
- Bush, L.M., Schmidt, C.E. y Pérez, M.T. (2017). Manual de Merck. U.S.A.: Recuperado de <http://www.merckmanuals.com/es-us/professional/enfermeda>

des-infecciosas/bacilos-gramnegativos/infecciones-por- pseudomonas-y-micr
oorganismos-relacionados

Carrillo, M.L., Castillo, L.N. y Mauricio, R. (2011). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de la Huasteca Potosina (México). *Información tecnológica*, 22(5), 21-28. doi: 10.4067/S0718-07642011000500004

Carter, G.R. y Chengappa, M.M. (1994). *Bacteriología y Micología Veterinarias, Aspectos Esenciales*. México, D. F.: Ed. El Manual Moderno.

Dardón, Peralta, M. J. (2005). *Caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antibacteriana de la miel blanca producida por Melipona Beecheii en Guatemala*. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos, Guatemala.

Dardón, Peralta, M., y Enríquez, E. (2008). Caracterización fisicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (meliponini) de Guatemala. *Interciencia*, 33 (12), 916-922.

De la Cruz, R. (1976). *Clasificación de zonas de vida de Guatemala*. Recuperado de http://www.academia.edu/10497202/CLASIFICACION_DE_ZONAS_DE_VIDA_DE_GUATEMALA

Dussart, E.G. (2007). *Taller: Elaboración de subproductos de la miel y las colmenas*. Recuperado de <http://coba.com.gt/wp-content/uploads/2015/07/Subproductos-de-miel-y-colmenas.pdf>

Echemendía, O. A; Martínez, I.; Carballo, M. T.; Álvarez, I.; Gutiérrez, M.; Lago, V. y Fidalgo, O. (2005). Actividad “*In Vitro*” del propoaromiel contra cepas

aisladas de muestras clínicas. *CENIC Ciencias Biológicas*, 36 (4)
Recuperado de <http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/articulos/actividad%E2%80%9C-vitro%E2%80%9D-del-propoaromiel-contra-cepas-aisladas-de-muestras-cl%C3%ADnicas>

Enríquez, E. y Maldonado, C. (2008). *Miel de abejas nativas de Guatemala*. LENAP: Guatemala.

Enríquez, M.E., Yurrita, C.L. y Dardón, M. J. (2006). Manual: *Biología y reproducción de abejas nativas sin Aguijón*. LENAP: Guatemala.

Enríquez, E., Yurrita, C. L., Aldana, C. H., Ocheíta, J., Jáuregui, R. y Chau, P. (2004). *Desarrollo de la crianza de abejas sin aguijón –Meliponicultura- para el aprovechamiento y comercialización de sus productos, como una alternativa económica sustentable en el área de El Trifinio, Chiquimula*. LENAP: Guatemala.

Espinoza, N. A. (2004). *Caracterización de la flora apícola visitada por cinco especies de abejas sin aguijón en el meliponario Sinai, Aldea San Antonio las Flores, Pajapita, San Marcos*. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos, Guatemala.

Estrada, H., Gamboa, M., Chaves, C. y Arias, M. (2005). Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus niger*. Evaluación de su carga microbiológica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 55(2), 167-171. Recuperado de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000406222005000200010&lng=es&tlng=es

- Ettinger, S. J., Feldman, E. C. (2002). *Tratado de medicina interna veterinaria*. Argentina, Inter-Médica.
- Fallas, N., Solórzano, R., Zamora, L. G., Arias, M. L, Umaña, E. y Aguilar, E. L. (s.f.). Propiedades medicinales de la miel de abejas sin aguijón, de Costa Rica. Recuperado de <http://www.greenearthgardens.org/documentos/articulocongreso.pdf>
- Fierro, W. (2000). Evidencia científica del propóleos desde el punto de vista médico. Congreso Internacional de Propóleos. Recuperado de <http://elabejero.com/Articulos/Apiterapia.pdf>
- Flores, F. F, y Sánchez, A. C. (2010). Primeros resultados de la caracterización botánica de mieles producidas por *Tetragonisca angustula* (Apidae, Meliponinae) en Los Naranjos, Salta, Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 45(1-2), 81-91. Recuperado de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-23722010000100007&lng=es&tlng=es
- Gamboa M. V. y Figueroa, J. (2009). Poder antibacterial de mieles de *Tetragonisca angustula*, valorada por concentración mínima inhibitoria. *Acta biológica colombiana*, 14(2), 97-106.
- Gamero, R. E. (2006). *Evaluación de la adaptación de la abeja Tetragonisca angustula Latreille (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae) en cámaras artificiales* (Tesis de Licenciatura). Universidad Earth, Costa Rica.
- Gekker, G., Hu, S., Spivak, M., Lokensgard, J. y Peterson, P. (2005). Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures, *Journal of Ethnopharmacology*, 102, 158-163

- Gil, M., & Perelli, A., & Alvarado, R., & Arias, Y., & Blumenthal, E. (2012). Actividad bacteriostática y bactericida de la tintura de propóleos sobre bacterias enteropatógenas. *Salus*, 16 (3), 21-25.
- Huang, S., Zhang, C., Wang, K. Li, J y Hu, F. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis, *Molecules*, 19(12), 19610-19632; doi: 10.3390/molecules191219610
- Katircioglu, H. y Mercan, N. (2006). *Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkish propolis from different regions. African Journal of Biotechnology*, 5(11), 1151-1153.
- La Guardia, M.R. (2011). *Actividad "in vitro" de seis tipos de propóleos nacionales contra los principales hongos dermatofitos y levaduriformes que afectan la piel y anexos en perros.* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Lacalle, A. (2008). Propóleo, el "antibiótico" natural de la colmena. *Sustrai* 85. Recuperado de http://www.nasdap.ejgv.euskadi.eus/r50-7393/es/contenidos/boletin_revista/sustrai_85/es_agripes/adjuntos/85_56-61_c.pdf
- López, M. R. (2008) *Evaluación de la resistencia antibiótica de los microorganismos aislados en casos de mastitis clínica en una explotación lechera.* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Manrique A. J., Santana W. C., (2008) Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona sp.* de Brasil y Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 26 (2)157-166.

- Mansilla, J.A. (2011). *Sensibilidad a la gentamicina por los Microorganismos productores de pioderma superficial en Caninos*. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Marcucci, M. C. (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie, Springer Verlag*, 26(2), 83-99.
- Martínez, G. J., García, P. C., Durango, R. D. y Gil, G. J. (2012). Caracterización de propóleos provenientes del municipio de Caldas obtenido por dos métodos de recolección. *Revista MVZ Córdoba*, 17(1): 2861-2869.
- Martínez P. J. 1995. *Características relevantes de los principales géneros bacterianos de interés en medicina Veterinaria*. México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM.
- Mayta, F. R., Sacsquispe, S.J. (2010). Evaluación “*in vitro*” del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa - Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). *Revista Estomatológica Herediana*, 20(1), 19-24.
- Moreno, Z., Martínez P. y Figueroa, J. (2007). Efecto antimicrobiano “*in vitro*” de propóleos argentinos, colombianos y cubano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *NOVA*, 5(7), 70-75.
- Mullai V, Menon T. (2005). Antibacterial activity of honey against *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian Journal Pharmacology*, 37, 403.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S. y Pfaller, M. A. (2014). *Microbiología Médica*. Barcelona, ES.: Editorial Elsevier.

- Nates, G. (2005). Guía para la cría y manejo de la abeja Angelita o Virginita *Tetragonisca angustula*. Bogotá, D. C.: Convenio Andrés Bello.
- Nates, G., y Rosso, J. M. (2005). Meliponicultura: una actividad generadora de ingresos y servicios ambientales. Bogotá: LEISA Revista de agroecología.
- Nates, G., y Rosso, J. M. (2013). Diversidad de abejas sin aguijón (Hymenoptera:Meliponini) utilizadas en meliponicultura en Colombia. *Acta Biológica Colombiana* ,18(3), 415-426.
- Noriega, V. y Rodríguez, E. (2014). El propóleo, otro recurso terapéutico en la práctica clínica. Universidad de Cantabria, España. Recuperado de <https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/5580/NoriegaSalmonV.pdf?sequence=1>
- OIE. (Organización Mundial de Sanidad Animal). (2012). Métodos de laboratorio para las pruebas de sensibilidad de las bacterias frente a los antimicrobianos. Recuperado de http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.1_M%C3%A9todos_laboratorio.pdf
- OMS. (Organización Mundial de la Salud) (2017). Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/>
- Palavecino, E. (1997). Interpretación de los estudios de susceptibilidad antimicrobiana. *Boletín de la Escuela de Medicina*. Pontificia Universidad Católica de Chile. 26(3), 56-160. Recuperado de <http://repository.unad.edu.co/bitstream/10596/5216/1/151006%20antibiograma.pdf>
- Pérez, C. (1987). El propóleo de la abeja. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Dirección General de Investigación y Capacitación Agraria.

España (Hoja divulgadora no. 7) Recuperado de http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1987_07.pdf

Pineda, S.R. (2015). *Efecto de la tintura de propóleos para el control de varroasis, en el Municipio de Chiquimulilla, Departamento de Santa Rosa.* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos, Guatemala.

Rankin, I. D. (s.f.) Pruebas de CIM. En: Coyle M. B., (2006). Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana (pp. 53) Seattle, Washington. Recuperado de http://cidbimena.desastres.hn/docum/ops/libros/labs_sucep_antimicro.pdf

Romero, Y. y Gómez, L.A. (2013). Determinación “in vitro” del efecto antibacteriano de la miel de la abeja común (*Apis mellífera*) y de la abeja angelita (*Tetragonisca angustula*) ante el *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo. *Sistemas de Producción Agroecológicos*, 4(1), 40-65.

Ryan, K. J. y Ray, C. G. (5ª ed.) (2010). *Sherris. Microbiología Médica.* México, D.F.: McGraw-Hill Interamericana.

Saiz, M. y Serrano, J. (2003). Propóleo: Aplicaciones Terapéuticas. *Natura Medicatrix*, 21(2), 94-104.

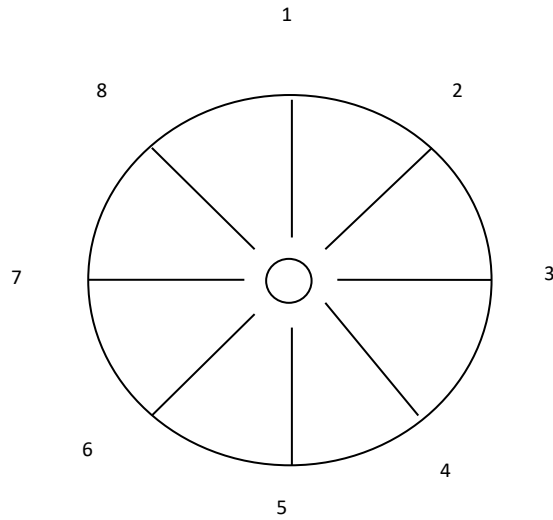
Sgariglia, M. A.; Vattuone, M. A.; Sampietro, M.M.; Soberón, J. R. y Sampietro, D.A. (2010). Properties of honey from *Tetragonisca angustula fiebrigi* and *Plebeia wittmanni* of Argentina. *Apidologie*, 41, 667-675.

Soler, M., Tello, M., Moreso, J.M. y Riera, L. (2000). Otitis externa en perros y gatos: Aislamiento microbiológico y antibioterapia. *Asociación de Veterinarios Españoles Especialistas en Pequeños Animales*, 20(3), 2000.

- Sumano, H. S. y Ocampo, L. (2006). *Farmacología Veterinaria*. México, D.F.: Editorial McGraw-Hill Interamericana.
- Suruy, A. G. (2013). *Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de la infusión de hoja de guayaba (Psidium Guajava, L.) sobre las principales bacterias que causan enteritis en lechones*. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Stanchi, N. O., Martino, P. E, Gentilini, E., Reinoso, E. H., Echeverría, M. G., Leardini, N. A. y Copes, J. A. (2007). *Microbiología Veterinaria*. Buenos Aires, AR.: Editorial Inter-Médica.
- Taormina P. J., Niemira B. A., Beuchat L. R. (2001). Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International Journal of Food Microbiology*, 69(3), 217-225; doi: 10.1016/S0168-1605(01)00505-0
- Tolosa, L. y Cañizares, E. (2002) Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche. *Ars Pharmaceutica*, 43(1-2), 187-204. Recuperado de: <http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/233.pdf>
- Trabanino, M. C. (2013). *Incidencia de Infecciones Nosocomiales en el Hospital General de Enfermedades*. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Tringale, M. (1989). Produzione e uso della propoli in agricoltura, cosmesi e medicin. Italia, Demetra.

- Vit, P., Medina, M. y Enríquez, M. E. (2004). Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. *Bee World*, 85(1), 2-5.
- Walker, T. S, (2000). *Microbiología*. México, D.F.: Editorial McGraw-Hill Interamericana.
- Wille, A. (1976). Las abejas jicotes del género *Melipona* (Apidae: Meliponini) de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 24(1), 123-147.
- Zamora, L. G. y Arias, M. L. (2011). Calidad microbiológica y actividad antimicrobiana de la miel de abejas sin aguijón, *Biomédica*, 22, 59-66.

XI. ANEXOS

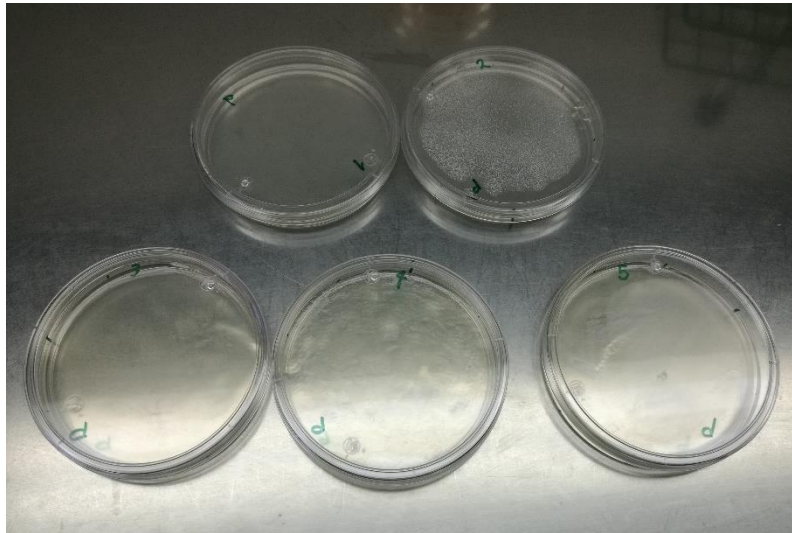


Anexo 1. Plantilla guía para la inoculación en la placa de agar para la técnica de macrodilución

Anexo 2. Hojas de registro para evaluación de actividad antibacteriana y concentración inhibitoria mínima (CIM)

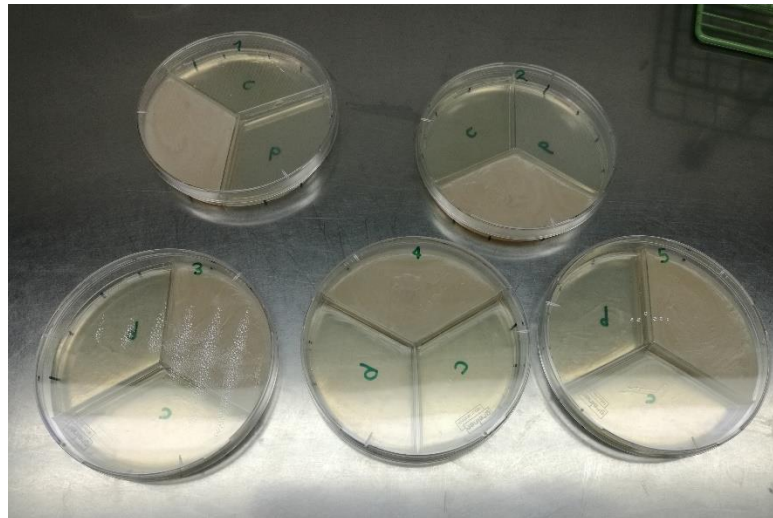
Tratamientos	Bacteria	Repeticiones				
		1	2	3	4	5
A	<i>P. aeruginosa</i>					
B	<i>P. aeruginosa</i>					
C	<i>P. aeruginosa</i>					
D	<i>P. aeruginosa</i>					
Observaciones:						

Fuente: Elaboración propia



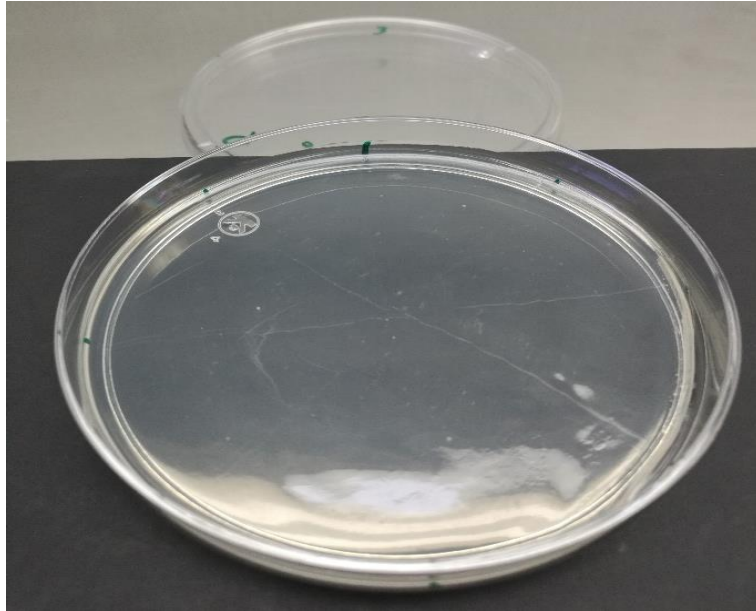
Fuente: Elaboración propia

Anexo 3. Placas con Agar miel



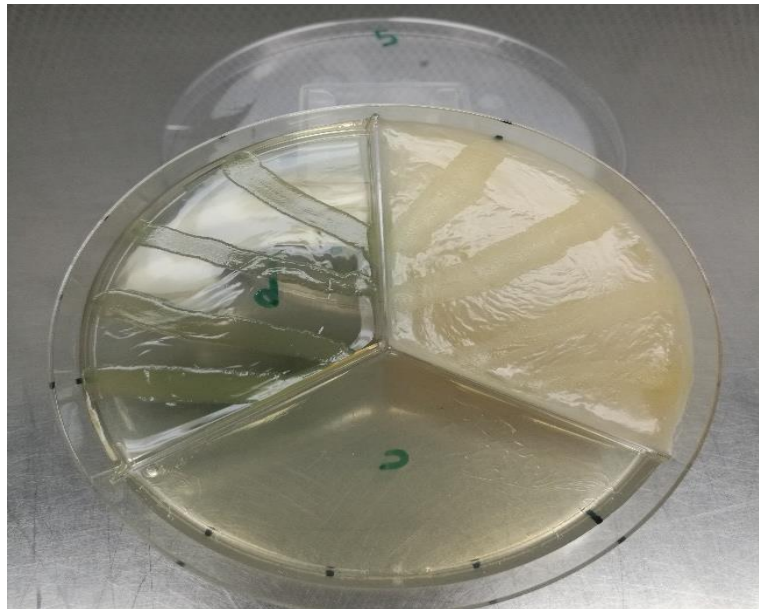
Fuente: Elaboración propia

Anexo 4. Placas con Agar propóleo al 10% (compartimiento "A") y controles positivo (compartimiento "C") y negativo (compartimiento "B")



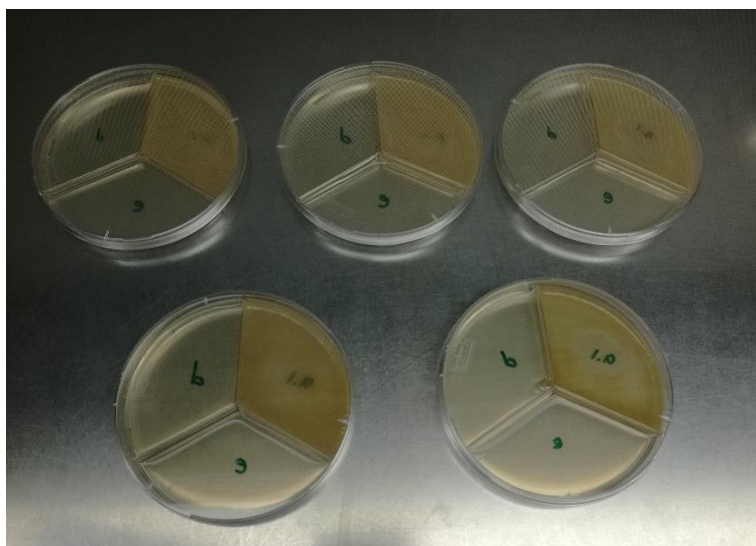
Fuente: Elaboración propia

Anexo 5. Placa de agar miel inoculada con *P. aeruginosa* para determinación de inhibición bacteriana



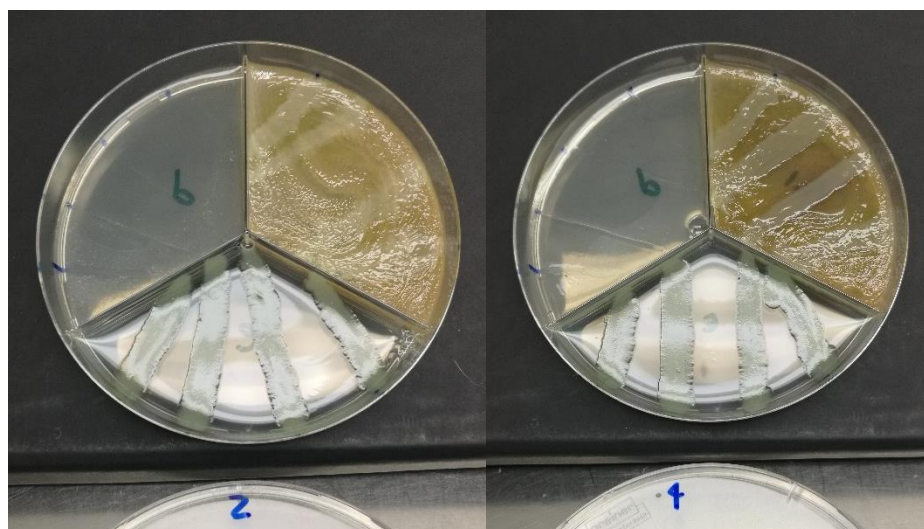
Fuente: Elaboración propia

Anexo 6. Placa de agar propóleo al 10% inoculada con *P. aeruginosa* para determinación de inhibición bacteriana



Fuente: Elaboración propia

Anexo 7. Placas de agar propóleo al 20% (compartimiento "A.1"), agar miel (compartimiento "D") y control negativo (compartimiento "E")



Fuente: Elaboración propia

Anexo 8. Placas de agar propóleo al 20% (compartimiento "A.1"), agar miel (compartimiento "D") y control negativo (compartimiento "E") inoculadas con *P. aeruginosa* para determinación de inhibición bacteriana

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**DETERMINACIÓN DE LA INHIBICIÓN BACTERIANA “*in vitro*” DE LA
MIEL Y TINTURA DE PROPÓLEO AL 10% DE ABEJA DONCELLITA
(*Tetragonisca angustula*) CONTRA LA CEPA DE *Pseudomonas
aeruginosa***

f. _____
SILVIA ARRECHEA DÁVILA

f. _____
M. A. Dora Elena Chang de Jó
Asesor Principal

f. _____
Lic. Zoot. Edgar Amílcar García
Pimentel
Asesor

f. _____
M. A. María Andrea Muñoz Lorenzana
Evaluadora

IMPRIMASE

f. _____
M. A. Gustavo Enrique Taracena Gil
Decano