VITAE Academia Biomédica Digital
Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela
Julio-Septiembre 2016 N°67
ISSN 1317-987X

Artículos

- Efecto biocida de extractos hidrosolubles de propóleos de abejas *Apis mellifera* y *Trigonas sp* sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*
- Introducción
- Materiales y métodos
- Resultados
- Discusión
- Referencias

Marielsa Gil
marielsagilfd@hotmail.com
Bioanalista Microbiólogo. Docente e Investigador del Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas de la Universidad de Carabobo, Venezuela Laboratorio 12-12 Piso 2, Edif. Ciencias Biomédicas, Universidad de Carabobo, Campus Bárbula, municipio Naguanagua, Estado Carabobo, Venezuela.

Catherine Monsalve
Bioanalista al servicio del Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico del Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas de la Universidad de Carabobo, Venezuela

Laura Quintana
Bioanalista al servicio del Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico del Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas de la Universidad de Carabobo, Venezuela

Smirna Castrillo
Bioanalista, Msc. en Investigación Educativa, Dra. en Educación. Docente e Investigador del Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional Escuela de Bioanálisis de la Universidad de Carabobo, Venezuela

Greysys Ochoa
Lcda. en Educación Mención Biología. Msc. en Investigación Educativa. Investigador del Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas de la Universidad de Carabobo, Venezuela

Esther Perozo
Citotecnólogo, Investigador del Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas de la Universidad de Carabobo, Venezuela

Andris Briceño
Bioanalista al servicio del Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico del Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas de la Universidad de Carabobo,

Microbiología

Efecto biocida de extractos hidrosolubles de propóleos de abejas *Apis mellifera* y *Trigonas sp* sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

Fecha de recepción: 23/09/2016
Fecha de aceptación: 30/10/2016

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto biocida del extracto hidrosoluble de propóleos (EHP) de abejas *Apis mellifera* y *Trigonas sp*. proveniente de San Cristóbal, Estado Táchira, Venezuela sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 y 25923 respectivamente. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) utilizando el método de macrodilución en tubos. Se observó que no hubo efecto bacteriostático, pero si bactericida sobre *Escherichia coli* CMB 50% en el EHP de *Apis mellifera*, mientras que en *Staphylococcus aureus* se obtuvo la CMI a 25% y la CMB a 50%. En cuanto al EHP de *Trigonas sp.* se observó que no hubo efecto bacteriostático para ninguna de las cepas pero se obtuvo una CMB al 100% (puro), tanto para *Escherichia coli* como para *Staphylococcus aureus*. Se demostró que los EHP de ambos tipos de abejas tienen efecto antimicrobiano sobre las cepas estudiadas.

Palabras Claves:Propóleos hidrosolubles; *Apis mellifera*; *Trigonas sp; Staphylococcus aureus; Escherichia coli.*

Title

Biocidal effect of water-soluble extracts of propolis from *Apis mellifera* and *Trigona sp* bees over *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Abstract

The main focus of this research was to evaluate the biocidal effect of the water-soluble extract of propolis (WEP) from *Apis mellifera* and *Trigona sp* bees from San Cristobal, Tachira state, Venezuela, on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 and 25923 respectively. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) was determined using the tubes macrodilution method. It was observed that there was no bacteriostatic effect but a bactericidal one on *Escherichia coli* MBC 50% on the WEP from *Apis mellifera*, while it was obtained a MIC of 25% and a MBC of 50% on *Staphylococcus aureus*. As for the WEP from *Trigona sp*, it was observed that there was no bacteriostatic effect for any of the strains, but MBC of 100% (pure extract) was obtained for *Escherichia coli* and for *Staphylococcus aureus*. It was demonstrated that the WEP from both types of bees have

Venezuela

antimicrobial effect on the tested strains..

Key Word
Water-soluble propolis;*Apis mellifera; Trigona sp; Staphylococcus aureus; Escherichia coli.*

Efecto biocida de extractos hidrosolubles de propóleos de abejas *Apis mellifera* y *Trigonas sp* sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

Introducción

La organización mundial de la salud (OMS) destaca que las infecciones por microorganismos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, son responsables cada año de unos tres millones de muertes en el mundo [(1)].

Estas bacterias en los últimos años han sido capaces de desarrollar innumerables mecanismos de resistencia a los antibióticos, en el caso de *Staphylococcus aureus*, que tiene resistencia progresiva a los antibióticos betalactámicos, macrólidos, lincosamidas y glicopéptidos, así como también la *Escherichia coli,* con mecanismos de resistencia como la producción de betalactamasa de expectro expandido (BLEE), la expresión de sistemas de excreción (efflux pumps), que evitan que el fármaco alcance su blanco intracelular y las mutaciones que inhiben el contacto del antibiótico con el sitio de acción impidiendo la entrada del mismo a la bacteria [(1,2)].

Una de las principales causas de la resistencia bacteriana ha sido el uso indiscriminado de los antibióticos. Por eso en enero del 2006, en Venezuela se reguló su distribución condicionando su venta a la presentación del récipe médico; sin embargo se determinó mediante el Programa Venezolano de Resistencia Bacteriana que la resistencia de las bacterias continuó en aumento aún después de esta regulación [(3)].

Este incremento de los mecanismos de resistencia, es un problema que preocupa a los especialistas en el área de la salud, especialmente aquellos que involucran al bacilo Gram-negativo *Escherichia coli,* el cual es uno de los microorganismo que con mayor frecuencia ocasiona infecciones en el tracto urinario, meningitis, peritonitis, septicemia y diarrea hemorrágica, así como también al coco Gram-positivo *Staphylococcus aureus*, que produce graves infecciones en pacientes hospitalizados, en piel, tejidos blandos, huesos, aparato genitourinario e infecciones oportunistas [(4,5)].

En este sentido, se ha desplegado diferentes investigaciones a nivel nacional e internacional para el estudio de sustancias naturales que poseen algunas propiedades farmacológicas con efectos antimicrobianos [(6)]. Una de las sustancias estudiadas con mayor actividad antimicrobiana son los propóleos, que son resina céreas, de composición compleja y consistencia viscosa que las abejas elaboran y utilizan en la construcción y protección de la colmena, especialmente evitan la contaminación del panal con agentes biológicos extraños [(7)].

Entre los compuestos químicos del propóleo se encuentran aldehídos, ácidos y esteres alifáticos, aminoácidos, ácidos y esteres aromáticos, chalconas, dihidrochalconas, flavanonas, flavonas, flavonoides, ácidos grasos, cetonas, terpenoides, esteroides y azucares [(8)]. Sin embargo, entre los principios activos del propóleo a los cuales se le atribuyen la actividad antimicrobiana están los flavonoides. Entre las abejas productoras de propóleo tenemos las *Apis mellifera*, que tienen un aguijón y lo usan para defender la colmena, siendo estas abejas las

principales de la industria apícola. También están las *Trigonas sp*., que son abejas sin aguijón y para defender la colonia se enredan en el pelo de las víctimas o se introducen por los ojos, nariz y boca. Las mieles de ambas abejas son utilizadas para remedios caseros [9-11].

La mayoría de las investigaciones apuntan hacia propóleos producidos por abejas *Apis mellifera* y en menor grado sobre propóleos de abejas sin aguijón, así como también la mayoría de los trabajos evalúan extractos etanólicos y no hidrosolubles. Es por ello que, la presente investigación evaluó el efecto biocida del extracto hidrosoluble de propóleos de abejas *Apis mellifera* y *Trigonas sp.* sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, determinando la concentración mínima Inhibitoria o bacteriostática (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB).

Materiales y métodos

Se utilizó un diseño cuasi experimental, de tipo descriptivo de corte transversal.

Extractos hidrosolubles de propóleos

Se utilizó un extracto hidrosoluble concentrado (100%) de propóleo producido por abejas con aguijón *Apis mellífera* y un extracto hidrosoluble concentrado (100%) de propóleo producidas por abejas sin aguijón *Trigonas sp*. ambas recolectadas y elaboradas artesanalmente en San Antonio del Táchira, Estado Táchira, Latitud 07°48′52″N, Longitud 72°26′35″W, Venezuela.

Paralelamente se utilizó un extracto etanólico de propóleo (EEP) al 50% de abejas *Apis mellífera* elaborado en el mismo apiario, con la finalidad de tener un punto de comparación del efecto inhibitorio.

Cepas en estudio

Se trabajó con las siguientes cepas American Type Culture Collection (ATCC): *Escherichia coli ATCC* 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, obtenidas del Centro Venezolano de Colección de Microorganismos (CVCM) y conservadas en el cepario del Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico de la Universidad de Carabobo, Venezuela.

Reactivación de las cepas bacterianas

A fin de reactivar las cepas (ATCC) de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* conservadas en el cepario, se inocularon en caldo infusión cerebro corazón (BHI) marca BD BBL™, se incubaron durante 24 horas a 37ºC para su reproducción. Luego se sembraron en agar sangre.

Preparación de las suspensiones bacterianas

Del agar sangre se tomaron colonias aisladas suspendiéndolas en caldos BHI hasta alcanzar la turbidez del patrón 0,5 % Mc Farland equivalente a 1,5 x 10^8 UFC.

Preparación de las diluciones dobles seriadas

Se utilizó el método de macrodilución en tubos la cual se describe a continuación siguiendo las especificaciones de Gil y colaboradores en el año 2012 [12], con algunas modificaciones: se dispusieron 10 tubos 12 x 75 para cada propóleo y por cada bacteria a evaluar. Las diluciones fueron dobles seriadas. Cada tubo contenía 500 µL de caldo Müeller Hinton marca BD BBL™ menos el primero que correspondió al EHP puro, al tubo 2 hasta el tubo 8 se realizaron las diluciones dobles seriadas 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, de esta manera las concentraciones obtenidas desde el tubo 1 al 8 fueron: 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%. El tubo 9 correspondió al control de viabilidad de la bacteria (control positivo) y el tubo 10 correspondió al control de esterilidad del propóleos (control negativo). Una vez realizadas las diluciones se procedió a inocular cada tubo menos el tubo 12 con 50 µL de la suspensión bacteriana de *E. coli* y *S. aureus,* correspondiente a cada serie al 0,5% de turbidez Mc Farland. Se incubaronpor 24 horas a 37 ºC [12].

Determinación de la actividad bacteriostática y bactericida

Siguiendo el protocolo de Gil y colaboradores 2012 (12), trascurrido el tiempo de exposición de las bacterias con las distintas concentraciones de cada propóleo, se procedió a tomar 10 µL de cada tubo para sembrarlo en placas de BHI, utilizando la técnica de siembra en superficie con espátula de Drigalski, así mismo también se tomó con asa calibrada 10 µL de cada tubo y se inoculó en caldo BHI. Ambos procedimientos se incubaron durante 24 a 48 horas a 37ºC. Posteriormente, se observó si hubo o no crecimiento del microorganismo tanto en las placas como en los caldos, determinando de esta manera las diluciones en la que se consigue la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) respectivamente (12).

Controles utilizados durante el desarrollo de la metodología

En cada ensayo se utilizó un control de viabilidad, el cual garantiza que el microorganismo es capaz de reproducirse en el agar y en el caldo BHI, también se utilizó un control de esterilidad con la finalidad de garantizar que los propóleos no estuviesen contaminados. Adicionalmente los tubos y en las placas donde se observó crecimiento bacteriano se realizó tinción de Gram y las pruebas bioquímicas convencionales para su identificación, con la finalidad de confirmar si se trata de las bacterias utilizadas o de una posible contaminación.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza de un factor con 3 niveles a través de la prueba no paramétrica *ANOVA*Univariante con el fin de contrastar si existen diferencias entre las medias de cada nivel. Posteriormente se realizaron comparaciones entre los propóleos a través de la prueba de*Tukey*HSD, para identificar el tratamiento con mayor inhibición con un 99% de nivel de confianza.Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 19.

Resultados

Se puede destacar que la concentración mínima inhibitoria (CMI) se entiende como el valor de la menor dilución que inhibe completamente o parcialmente el desarrollo de las bacterias sobre el agar BHI. Mientras que la concentración mínima bactericida (CMB) es el valor de la menor dilución en la que no se observa crecimiento de las bacterias ni en agar ni en caldo BHI (12).

Los resultados obtenidos en la determinación del efecto bacteriostático y bactericida del EHP de *Apis mellifera* sobre *Escherichia coli* se pudo evidenciar que no hubo efecto bacteriostático pero si bactericida cuya CMB fue de 50% (Tabla 1), mientras que sobre *Staphylococcus aureus* se pudo evidenciar que la CMI fue de 25% y la CMB de 50% .

Tabla 1. Efecto bacteriostático y bactericida del extracto hidrosoluble de propóleos de *Apis mellifera* sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

	Escherichia coli		*Staphylococcus aureus*	
Propóleos (%)	**Placas UFC**	**Tubos**	**Placas UFC**	**Tubos**
100	0	-	0	-
50	0	-	0	-
25	>100	+	5±2	+
12,5	>100	+	30±5	+
6,25	>100	+	>100	+
3,12	>100	+	>100	+
1,56	>100	+	>100	+
0,7	>100	+	>100	+
0,3	>100	+	>100	+
0,1	>100	+	>100	+
Control positivo	>100	+	>100	+
Control negativo	0	-	0	-

+Turbidez, - sin crecimiento bacteriano, UFC: Unidades Formadoras de Colonia

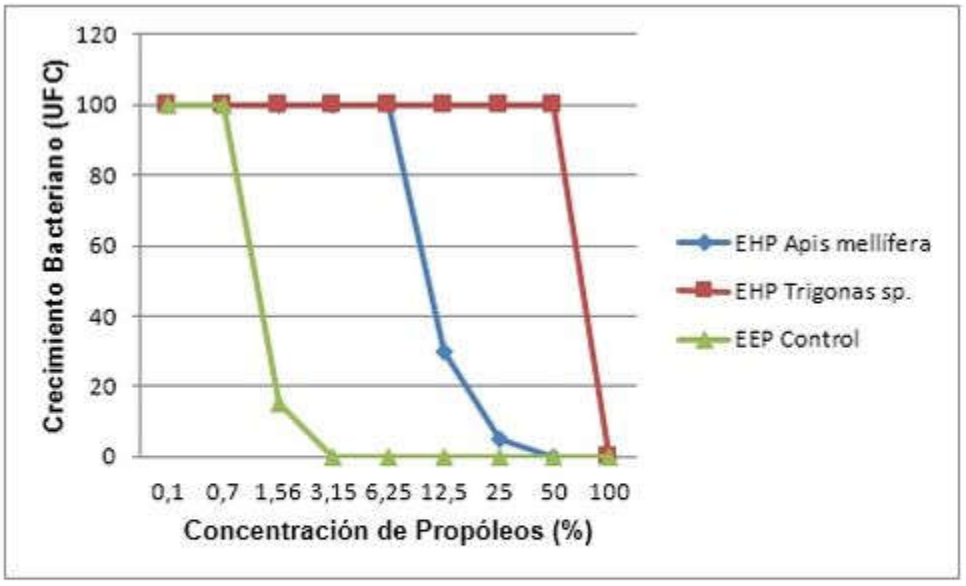
En la determinación de la concentración del efecto bacteriostático y bactericida de EHP de *Trigonas sp.* sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Tabla 2) se pudo observar que no hubo efecto bacteriostático pero si bactericida sobre ambas bacterias, obteniéndose la CMB a 100% es decir puro.

Tabla 2. Efecto bacteriostático y bactericida del extracto hidrosoluble de propóleos de *Trigonas sp.* sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

	Escherichia coli		*Staphylococcus aureus*	
Propóleos (%)	**Placas**	**Tubos**	**Placas**	**Tubos**
	UFC		**UFC**	
100	0	-	0	-
50	>100	+	>100	+
25	>100	+	>100	+
12,5	>100	+	>100	+
6,25	>100	+	>100	+
3,12	>100	+	>100	+
1,56	>100	+	>100	+
0,7	>100	+	>100	+
0,3	>100	+	>100	+
0,1	>100	+	>100	+
Control Positivo	>100	+	>100	+
Control negativo	0	-	0	-

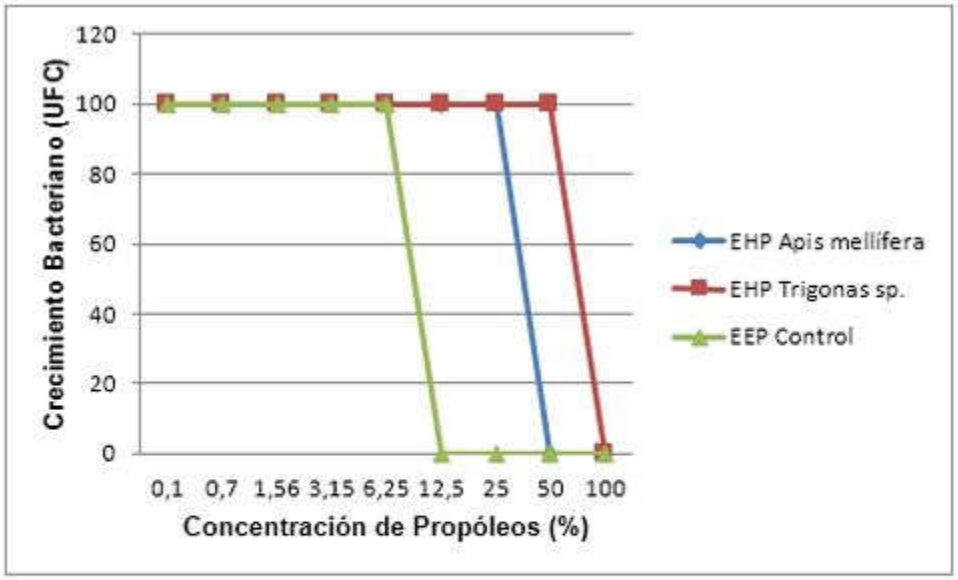
+ Turbidez, - sin crecimiento bacteriano, UFC: Unidades Formadoras de Colonia

Finalmente, se compararon los resultados obtenidos de ambos EHP con un EEP. Con el EEP se obtuvo una CMI 1,56% y CMB de 3,15% para *Staphylococcus aureus* mientras que para *Escherichia coli* no hubo efecto bacteriostático pero si bactericida CMB de 12,5%.



EHP: Extracto hidrosoluble de propóleo
EEP: Extracto etanólico de propóleo
Tukey HSD
M1 vs M2 $p < 0.01$
M1 vs M3 $p < 0.01$
M2 vs M3 $p < 0.01$

Figura 1. Comparación del efecto inhibitorio de los Propóleos sobre *Staphylococcus aureus*



EHP: Extracto hidrosoluble de propóleo
EEP: Extracto etanólico de propóleo
Tukey HSD
M1 vs M2 $p < 0.01$
M1 vs M3 $p < 0.01$
M2 vs M3 $p < 0.01$

Figura 2. Comparación del efecto inhibitorio de los propóleos sobre *Escherichia coli*

Discusión

El análisis estadístico arrojó que existe diferencia significativa *(p= 0,000230)* en los resultados obtenidos con los propóleos hidrosolubles sobre las cepas estudiadas, siendo el EHP de Abejas *Apis mellifera* más efectivo que el EHP de *Trigonas sp,* pues este último solo tiene efecto si se usa puro (100%). Sin embargo el EEP posee mayor efecto antimicrobiano que los EHP.

Al analizar el trabajo de Gil y colaboradores en el año 2012 [(12)], quienes estudiaron la actividad bacteriostática y bactericida de un extracto etanólico de propóleos venezolano del Estado Cojedes de abejas *Apis mellífera* sobre bacterias enteropatógenas, se observa que obtuvieron una CMI 8% y CMB 11% sobre *E. coli* O157:H7 es decir, al compararlo con el presente estudio consiguieron una CMB más baja que las alcanzadas con los EHP pero similar a la del EEP [(12)].

Por otra parte, los resultados obtenidos en la presente investigación apoyan lo expresado por Carrillo y colaboradores en el año 2011 [(13)], quienes aseguran que se obtienen CMB menores con los extractos etanólicos de propóleos que con los acuosos o hidrosolubles, debido a que en la fracción etanólica es donde existe mayor cantidad de flavonoides y otros compuestos fenólicos a los que se les atribuye la actividad antibacteriana, mientras que en los acuosos e hidrosolubles hay menor proporción de estos compuestos debido a que el propóleo es poco soluble en agua [(13)].

En relación a la efectividad de los extractos de propóleos hidrosolubles sobre la bacteria Gram-positiva (*S. aureus*) y la Gram-negativa (*E. coli*), se pudo evidenciar que no hubo diferencias significativas entre ambas bacterias (*p= 0,500000*), esto implica que los propóleos son de buena calidad, ya que tuvieron efecto antimicrobiano sobre ambos tipos de bacterias, tanto en la Gram-positiva como en la Gram-negativa, esto es importante resaltarlo, ya que

existen propóleos de otros países que no son capaces de inhibir bacterias Gram-negativas [7,8], sin embargo la similitud en la eficacia encontrada en la presente investigación es contradictorio a lo que han descrito otros autores [6,13,14], quienes aseguran que los propóleos bien sean acuosos o etanólicos son más efectivos contra bacterias Gram-positivas que contra las Gram-negativas e incluso algunos trabajos como el de Madigan y colaboradores 2004 [15], explican que tal diferencia podría deberse a la composición de las paredes celulares de cada grupo de bacterias, ya que la pared de las Gram-negativas es bastante compleja mientras que las Gram-positivas están formadas solo por un tipo de molécula [15]. Según Garedew y colaboradores 2004 [16], la membrana externa de las bacterias Gram-negativas imposibilita o retarda la penetración de los propóleos sobre todo en bajas concentraciones o que presentan factores de resistencia multidroga que evitan la acción de toxinas anfipáticas [16].

Cabe destacar que en Venezuela se han realizado estudios que evalúan la actividad antimicrobiana de EEP Venezolanos sobre bacterias Gram-positivas como *S. aureus, Enterococcus faecalis, y Micrococcus luteus y* Gram-negativas como *E. coli, K. pneumoniae, Elizabethkingia meningoseptica, Complejo Acinetobacter baumanni/calcoaceticus, P. aeruginosa, Salmonella sp., Shigella sonnei, Shigella flexneri, Yersinia enterocolitica* y *Escherichia coli enterohemorrágica O157:H7* [6,11, 12,17] con resultados favorables en todos los casos y similares al emanado en esta investigación con respecto a las especies que coinciden, pero no hay estudios nacionales que reporten CMI y CMB de EHP autóctonos con los cuales se pueda comparar los resultados obtenidos en el presente artículo.

En cuanto al género de abeja, se observó que el extracto hidrosoluble de propóleos de las abejas *Apis mellifera* requirió de menor concentración para inhibir las bacterias estudiadas que el extracto hidrosoluble de propóleos de las Abejas *Trigonas sp*. La diferencia en la inhibición observada fue estadísticamente significativa, esto puede deberse a que las abejas *Apis mellíferas* y *Trigonas sp.* elaboran los propóleos de forma disímil y aunque ambos géneros de abejas provenían de la misma zona geográfica, se conoce que el origen vegetal de los propóleos de las abejas sin aguijón es distinto al de las *A. mellifera,* aun en un mismo hábitat [11]. Estas diferencias en su elaboración probablemente afectan la composición química. Según Manrique 2008 [11], expresa que los propóleos provenientes de abejas *Apis mellífera* poseen mayor concentración de flavonoides que las producidas por abejas sin aguijón, siendo los flavonoides uno de los principales compuestos con actividad antibacteriana [11], los cuales ejercen su acción inhibiendo la motilidad bacteriana, desorganizando el citoplasma, la membrana citoplasmática y la pared celular causando bacteriólisis parcial e inhibiendo la síntesis proteica. Todo ello, hace que la bacteria sea más vulnerable al ataque del sistema inmunológico y por ende potencia la acción de los antibióticos [18,19].

Es así como, se puede resumir que las diferencias de efectividad observadas con los distintos propóleos dependen de varios factores, entre ellos el solvente empleado, la procedencia del propóleo y de la especie bacteriana evaluada [13,14, 20-22], y anexando la presente experiencia se agregaría el tipo de abeja que lo produce. Por otra parte, hay que destacar que la producción de propóleo y de miel de las abejas *Trigonas sp.* es cuatro ó cinco veces menor que la de las abejas del género *Apis,* siendo la extracción de *Trigonas sp.* más engorrosa y menos comercial [23].

Por todo lo anteriormente expuesto, se concluye que ambos EHP provenientes de San Cristóbal, estado Táchira Venezuela, tienen efecto antimicrobiano frente a las bacterias estudiadas, siendo el EHP producido por abejas con Aguijón *Apis mellífera* más efectivo que el EHP producido por abejas sin aguijón *Trigonas sp*. Esto sugiere que la calidad y composición química de los propóleos están directamente relacionadas con el tipo de abeja que los produce. También se corrobora que los EEP son más efectivos que los EHP.

La inhibición observada entre la bacteria *S. aureus* (Gram-positiva) y *E. coli* (Gram-negativa) estudiadas frente a ambos extractos hidrosolubles de propóleos (EHP), pese a sus diferencias estructurales fue indistinto.

Tomando en cuenta la importancia clínica que poseen ambas bacterias y recordando que cada día aumenta la resistencia bacteriana a los antibióticos, se concluye que el EHP puede ser

usado como una nueva alternativa en los tratamientos antimicrobianos.

Por otra parte, se recomienda comparar los extractos hidrosolubles de propóleos de diferentes regiones del país e incluso con propóleos de otros países sobre las mismas bacterias estudiadas, para comprobar la calidad y eficacia del producto. Así mismo, esta investigación permite destacar la importancia del propóleo para la salud y al mismo tiempo proporciona datos científicos de interés para la industria manufacturera que viene aumentando la fabricación de productos a base de propóleo.

Es evidente la necesidad de realizar estudios adicionales especialmente en la composición química de los distintos propóleos producidos en el país, así como también investigar en profundidad los efectos biológicos de los propóleos *in vivo*.

Agradecimientos: Los autores agradecemos al Apiario Terramel y al Apicultor Favio Galavis por suministrar los extractos hidrosolubles de propóleos de abejas *Apis mellífera* y *Trigonas sp.* y el extracto etanólico de propóleo de *Apis mellífera*.

Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo 2014. Disponible en: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/ Consultado el 15 de Noviembre de 2015.

2. Casellas J. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la Infectología. Rev Panam Salud Pública 2011; 30 (6): 519-528 Link

3. Gómez C, Alonso G. Regulación de la dispensación de antibióticos en Venezuela y resistencia bacteriana. Rev. VITAE, 2013; 55(1): 1-8. Link

4. Pérez N, Pavas N, Rodríguez E. Resistencia de Staphylococcus aureus a los antibióticos en un hospital de la Orinoquia Colombiana. Infectio, 2010; 14 (3): 167-173 Link

5. Koneman E, Winn W, Allen S, Janda W, Procop G, Schreckenberger P, et al. Diagnóstico microbiológico. 6ta ed. Madrid-España: Editorial Médica Panamericana; 2008.

6. Gil M, Reyes D, Rojas T, Flores M. Actividad bacteriostática y bactericida de una tintura de propóleo proveniente del estado Cojedes sobre bacterias de interés clínico. Bol Venez de Infectol 2008; 19 (2): 124.

7. Farré R, Frasquet I, Sánchez A. El propolis y la salud. Ars Pharmaceutica 2004; 45: 21-43 Link

8. Marcucci M, Ferreres F, García-Viguera C, Bankova V, De Castro S, Dantas A. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. J Ethnopharmacol. 2001; 74 (2):105-12 Link

9. Alves E, Guzmán D, Figueroa J, Tello J, De Oliveira D. Caracterización antimicrobiana y fisicoquímica de propóleos de Apis mellifera L. (Hymenoptera: apidae) de la región andina colombiana. Acta biol Colomb 2011; 16 (1) 175-184. Link

10. Rodríguez S, Manrique A, Velásquez, M. Diversidad de la comunidad de abejas sin aguijón (Hymenoptera: Apidae: Meliponina) en bosque seco tropical en Venezuela.Zoot Tropical2008; 26 (4): 523-530.Link

11. Manrique A, Santana W. Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, Melipona quadrifasciata, Melipona compressipes, Tetragonisca angustula y Nannotrigona sp. de Brasil y Venezuela. Zoot Trop 2008; 26 (2)157-166. Link

12. Gil M, Perelli A, Alvarado R, Arias Y, Blumenthal E. Actividad bacteriostática y bactericida de

la tintura de propóleos sobre bacterias enteropatógenas. Salus 2012 16(3): 21-25. Link

13. Carrillo M, Castillo L, Mauricio R.Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Propóleos de la Huasteca Potosina (México). Inf tecnol 2011, 22 (5): 21-28. Link

14. Tolosa L, Cañizares E. Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche. Ars. pharm, 2004; 43(1) ,187-204. Link

15. Madigan M, Martinko J, Parker J. Biología de los microorganismos, 10a ed, Pearson prentice Hall, Madrid, España 2004. pp 22-37.

16. Garedew A, Schmolz, E, Lamprecht I. Microbiological and calorimetric investigations on the antimicrobial actions of different propolis extracts: an in vitro approach. Thermochimica Acta, 2004; 422 (1):115-124. Link

17. Gil M, Colarusso V, Ferreira J, Muñoz A, Rojas T, Ochoa G, Perozo, E, et al. Efecto de un extracto etanólico de propóleos sobre Pseudomonas aeruginosa en estado planctónico y sésil. Salus, 2016; 20(1), 27-33. Link

18. Mirzoeva O. Grishanin R, Calder P. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. Microbiol. Res 1997; 152(3):239-46 Link

19. Takaisi-Kikuni N, Schilcher H. Electron microscopic and microcalorimetricinvestigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. Planta Médica. 1994; 60(3):222-7. Link

20. Gonzales G, Orsi R, Fernandes A, Rodrigues P, Funari S. Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil. J Venom Anim Toxins 2006; 12(2). Link

21. Manrique A. Actividad antimicrobiana de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del estado Miranda, Venezuela. Efecto de la variación estacional. Zoot Trop 2006; 24 (1):43-53. Link

22. Ortega N, Campo N, Fajardo F. Actividad antibacterial y composición cualitativa de propóleos provenientes de zonas climáticas del Departamento del Cauca. Rev Bio Agro 2011; 9(1), 8-16. Link

23. Ramos J, Blásquez E, Medeiros E, Landero I. Comparación de especies de abejas comestibles en la sierra de Jibóia, (Bahia, Brasil) y Sierra de Zongolica (Veracruz, México) Rev Colomb de Entomol 2009; 35(2): 217-223

NOTA: Toda la información que se brinda en este artículo es de carácter investigativo y con fines académicos y de actualización para estudiantes y profesionales de la salud. En ningún caso es de carácter general ni sustituye el asesoramiento de un médico. Ante cualquier duda que pueda tener sobre su estado de salud, consulte con su médico o especialista.