



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DE LA MIEL DE ABEJA CONTRA
CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa* COMPARADO CON
CEFTAZIDIMA, IN VITRO**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO
CIRUJANO**

AUTORA:

BRUNELLA VANETTE ULLOA CASTAÑEDA

ASESORAS

DRA. EVELYN DEL SOCORRO GOICOCHEA RÍOS

DRA. MARÍA SOLEDAD AYALA RAVELO

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

Trujillo – Perú

DEDICATORIA

A mis padres por su infinita paciencia y por el apoyo incondicional que me ayudó a superar cada obstáculo que se presentó en este largo camino. Sé que a donde vaya ellos estarán conmigo; por esto y más razones les dedico esta tesis: Pedro y Marlene.

AGRADECIMIENTO

A Dios por cada día de vida y salud que me ha regalado.

A mis padres porque sin ellos nada fuera posible.

A mis asesoras, Dra. Ayala y Dra. Goicochea, por su entrega, tiempo y conocimiento que me han brindado en la colaboración para realizar este trabajo.

Asimismo hago extensivo un agradecimiento especial a mi jurado de tesis.

PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado:

Para el cumplimiento de las disposiciones legales y vigentes del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo – Trujillo, presento ante ustedes la tesis titulada “**Efecto antibacteriano de la miel de abeja contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* comparado con ceftazidima, in vitro**” que tiene como objetivo analizar el efecto antibacteriano de la miel de abeja y comparar su efecto con ceftazidima. Esperando cumplir con todos los requisitos de aprobación para obtener el título de Bachiller en Medicina

La autora

ÍNDICE

PÁGINA DEL JURADO	ii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD.....	vi
PRESENTACIÓN	vii
ÍNDICE	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MÉTODO.....	8
III. RESULTADOS.....	13
IV. DISCUSIÓN.....	15
V. CONCLUSIONES.....	18
VI. RECOMENDACIONES	19
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
VIII. ANEXOS.....	24

RESUMEN

La presente tesis tuvo como objetivo analizar el efecto antibacteriano de la miel de abeja contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 comparado con ceftazidima, la cual corresponde a un diseño experimental con múltiples repeticiones. La población estuvo constituida por las placas Petri sembradas con una cepa de la bacteria. Se consideró tres repeticiones por cada tratamiento, haciendo un total de doce muestras en doce placas Petri. Se utilizó miel de abeja a concentraciones de 25%, 75% y 100%; con las dos últimas diluciones se encontró un efecto total, ya que inhibió totalmente el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*, mientras que al 25% aún después de la aplicación de miel, el crecimiento del germen persistió parcialmente ($p < 0.05$). De esta manera, se concluyó que la miel de abeja tiene efecto antibacteriano contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Palabras claves: *Pseudomonas aeruginosa*, miel de abeja, efecto antibacteriano.

ABSTRACT

The objective of this thesis was to analyze the antibacterial effect of honey against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 compared with ceftazidime, which corresponds to an experimental design with multiple repetitions. The population was constituted by the Petri dishes seeded with a strain of the bacteria. Three repetitions were considered for each treatment making a total of twelve samples in twelve Petri dishes. Bee honey was used at concentrations of 25%, 75% and 100%, with the last two dilutions a total effect was found since it totally inhibited the growth of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, while at 25% even after the application of honey, the growth of the germ partially persisted. ($p < 0.05$). In this way, it was concluded that honey has an antibacterial effect against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, bee honey, antibacterial effect.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Realidad problemática

Durante los últimos años se ha visto un incremento en la prevalencia de enfermedades infecciosas de las cuales son responsables cada vez más bacterias de tipo Gram negativas, entre las cuales están *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* y también *Pseudomonas aeruginosa*. El último germen mencionado está implicado en la mayoría de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) graves, antes conocidas como infecciones intrahospitalarias (IIH).¹

Pseudomonas aeruginosa tiene características especiales, siendo una de ellas su gran distribución, además de formar parte de la flora normal de hombres y mujeres, puede encontrarse normalmente en tierra, plantas, un reservorio común es el agua y lugares húmedos, ya sea del cuerpo como también de objetos, soportando temperaturas de hasta 42°C. Esto la convierte en un microorganismo de fácil crecimiento en el medio ya sea extra o intrahospitalario.²

P. aeruginosa está involucrada en la mayor parte de casos de infecciones intrahospitalarias resistentes a antibióticos; esto se debe al uso indiscriminado de antibióticos de amplio espectro, uso de fármacos citotóxicos, etc. Es el principal agente que ataca a pacientes con fibrosis quística y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), en caso de neumonía está asociada al uso de ventilador mecánico. Actualmente a nivel mundial se han evidenciado muchos más casos de infección del tracto urinario alto por esta bacteria, lo que produce posteriormente un cuadro de sepsis llegando incluso hasta la falla multiorgánica o la muerte.^{2,3}

Entre los años de 1959 y 1963, el 60% de muertes en un hospital de Estado Unidos fueron por infección de quemaduras siendo el agente causal *Pseudomonas aeruginosa*, actualmente ha disminuido progresivamente la infección de quemaduras por esta bacteria, pero las razones son desconocidas. En el mismo decenio sucedió algo parecido con los pacientes que recibían tratamiento con quimioterapia que también se infectaban con dicho

germen. En Asia, *P. aeruginosa* es la primera bacteria gram negativa causante de bacteremia en neutropénicos.³

El Ministerio de Salud de nuestro país encontró que las infecciones más peligrosas son causadas por: *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*. Siendo la última la responsable del 3% de todas las infecciones a nivel nacional. Se encontró que *P. aeruginosa* es responsable del 18% de las neumonías; del 2% de las bacteremias; del 20% de las ITUs; y del 17% de las infecciones de heridas operatorias (IHO).^{4,5}

Pseudomonas aeruginosa es el tercer agente causante de infecciones en el Instituto de Salud del Niño y en el Hospital Carrión del Callao; y la primera responsable de bacteremias en el Hospital Cayetano Heredia y Hospital María Auxiliadora siendo los servicios de Pediatría y Gineco-Obstetricia los más afectados; mientras que en el Hospital San Bartolomé se encontró en cuarto lugar siendo las infecciones de heridas operatorias las más afectadas por esta bacteria.⁴

En nuestra región, específicamente en nuestra provincia, Trujillo, en el Hospital Belén se ha encontrado que *P. aeruginosa* es causante del 7% del total de las infecciones.⁵

1.2 Trabajos previos

Mahendran S, et al⁶ (India, 2015) estudiaron la actividad antimicrobiana de diferentes tipos de mieles extraídas en diferentes estaciones del año contra algunas bacterias, encontraron que la zona de inhibición máxima para *S. aureus* fue de 13,3 mm, mientras que para *P. aeruginosa* fue de 11,1 mm.

Mandal MD, et al⁷ (India, 2011) evaluaron la eficacia antimicrobiana de distintos tipos de mieles en varias concentraciones contra diferentes bacterias tanto gram positivas como gram negativas encontrando que para *E. coli* a una concentración del 5% se obtuvo un halo inhibitorio (HI) de 12 mm, pero para una dilución del 20% el HI fue de 24 mm. Mientras que para *S. typhimurium* se obtuvo un HI de 20 mm a una concentración del 20%. En el caso de *P. aeruginosa* se trabajó con miel de Nilgiris a las mismas

concentraciones encontrándose un HI de 15 y 16 mm respectivamente. Contra *S. aureus* se obtuvo halos inhibitorios de 6.94 y 37.94 mm. Concluyeron que la miel de abeja de varios tipos sí tiene algún efecto antimicrobiano en distintas bacterias.

Aguilera G, et al ⁸ (Venezuela, 2009) analizaron la actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* de varios tipos de mieles de distintos estados de Venezuela a diferentes diluciones 1:2, 1:4, 1:8 y sin diluir. Encontraron que la miel del estado de Trujillo sin diluir y al 50% tuvo un halo de inhibición de crecimiento (HIC) de 26mm contra *Staphylococcus aureus*.

Bautista R ⁹ (Perú, 2011) evaluó el halo de inhibición (HI) frente a *Streptococcus mutans* a diferentes concentraciones de miel. El promedio en concentraciones de 5%, 10% y 20% el HI fue de 0 mm, pero cuando trabajó con concentración de 30% el HI fue de 11,4 mm, mientras que a una concentración del 100%, fue de casi 19 mm ($p= 0.00$).

1.3 Teorías relacionadas al tema

La miel es la sustancia producida naturalmente por el tipo de abeja *Apis mellifera* hecha a partir de néctar y/o de extracto de partes de alguna planta. Los insectos ya mencionados acumulan, transforman, la mezclan con sustancias exclusivas de ellos, la colocan y deshidratan dentro del panal donde con el transcurso de días esta envejecerá y estará lista.

10

Hay diferentes tipos de miel, entre ellas la miel en panal (permanece en su almacén natural); la miel líquida (ha sido sacada del panal y no tiene cristales) y la miel cristalizada (casi sólida por formación de cristales de azúcares). ¹¹

La composición de la miel de abeja es muy susceptible a cambios en los que se encuentran el tipo de apicultura, temperatura, humedad, la fuente de donde fue extraído el néctar, etc; pero en general tiene una amplia cantidad de azúcares constituidos por glucosa y fructuosa en un porcentaje de aproximadamente 30 a 40% cada uno, en menor medida tiene otros carbohidratos, enzimas, proteínas y otras sustancias como minerales y vitaminas. El color

puede variar desde varios tonos de blanco hasta ámbar, puede sufrir variación en su color por la temperatura y el tiempo. ¹²

La miel ha tenido y tiene múltiples usos. La historia del uso de la miel por sus propiedades medicinales data desde aproximadamente dos milenios antes de Cristo en Sumeria. Ahí se encontró una tabla donde mencionaba los usos de la miel en ese tiempo. También en otros lugares de Oriente se ha usado la miel para tratar enfermedades y heridas. Aristóteles en Grecia decía que la miel podía ser usada para heridas y cuando las personas tenían “dolor de ojos”, recomendaba su aplicación como crema. Hasta la actualidad la miel es usada de forma terapéutica. Especialmente su uso se ha extendido como terapia en heridas ulcerosas sea de cualquier región del cuerpo hasta la úlcera gástrica. También ha sido utilizado como el único producto edulcorante hasta dos siglos atrás, actualmente también es un producto muy vendido por su dulzura, pero ha sido desplazado por el azúcar extraído de la caña. ¹³

El efecto bactericida de la miel de abeja es gracias a su alta osmolaridad que obedece a un efecto llamado “actividad del agua” (activity water AW) esto es volumen mínimo de agua que requiere el ambiente de un microorganismo para que pueda reproducirse. La miel logra un medio con de alta osmolaridad por su alto contenido de glucosa además el plasma y la linfa salen hacia el exterior del tejido hacia la solución lo que logra la inhibición del crecimiento de las bacterias por disminución en la AW del sustrato. Aparte de ello, la miel contiene inhibinas entre ellas las principales son los flavonoides que son pigmentos propios de la miel. Dentro de este grupo se encuentra la piocembrina y la galangina estos alteran la membrana celular de la bacteria, inhiben su motilidad y llevará a su muerte. Su pH fluctúa entre tres a cuatro actuando como bacteriostático porque disminuye su potencia para la interacción de proteínas transmembranas, además facilita la acción fagocítica de los macrófagos ayudando en la quimiotaxis en la respuesta inflamatoria. ¹⁴

Pseudomonas aeruginosa fue descubierta por Gessard primera vez en el año de 1882. Es uno de los agentes causales más peligrosos en infecciones nosocomiales por su alto nivel de morbi-mortalidad y la habilidad para crear resistencia frente a algunos antibióticos. Esta bacteria es mencionada en muchos estudios como la causa de sepsis, generalmente por la infección de heridas post-quirúrgicas y quemaduras así como también está entre las

bacterias más comunes en la infección de pie diabético. Ambas situaciones tienen una alta incidencia en los hospitales ya que ahí encuentran el medio húmedo que es favorable para su crecimiento. Están en especial riesgo las personas inmunocomprometidas como los enfermos de SIDA, los pacientes en quimioterapia o tratamiento con inmunosupresores, etc.¹⁵

Esta bacteria pertenece al grupo de las gram negativas, posee un flagelo en la parte posterior que le permite moverse. También es aeróbica obligada, esto quiere decir que necesita imperativamente O₂ para su crecimiento. Tiene el color característico verde brillante, porque suele producir un pigmento azulado no fluorescente llamado piocianina, otro es la pioverdina que es de color amarillo fluorescente, hay otras cepas que producen otros pigmentos como negro y/o rojo. *Pseudomonas* tiene una multiplicación óptima en temperaturas que varían desde los treinta y siete grados hasta los cuarenta y dos. Además es conocido que esta bacteria oxida glucosa por ello es llamada oxidasa positivo.¹⁶

Ingresa al organismo por alguna puerta de entrada como heridas, catéteres, sondas o es oportunista en el caso de los pacientes inmunodeprimidos. La forma en que *Pseudomonas aeruginosa* hace infección es por la producción de enzimas como hemolisinas entre ellas la fosfolipasa C y también glucopéptidos, además de elastasas y proteasas. También algunas cepas son productoras de exotoxina A la cual es responsable de alterar la síntesis proteica por inhibición del factor dos de elongación eucarionte. Además se encuentran las de tipo ExoS, ExoT, ExoY y por último la ExoU. De estas la más virulenta es la última mencionada que producirá la infección aguda con el sistema de secreción tipo III. *Pseudomonas aeruginosa* tiene la capacidad de adherencia celular gracias a los múltiples cilios que posee. Cuando esta ingresa al cuerpo activa un sistema de secreción de tipo III por el cual libera proteínas (exotoxinas) dentro de células epiteliales, lo que llevará a una respuesta inflamatoria e inmunitaria, después a una lesión y por último a la muerte celular.

17

El crecimiento de esta bacteria puede hacerse en un cultivo de Agar sangre de carnero al 5%, Agar Mc-Conkey y también en Agar chocolate. Las características principales de su crecimiento es que sus colonias son esparcidas, planas, con borde dentados, de color verde

azulado, el olor característico es a uvas o “tortilla de maíz”. Otro dato a tener en cuenta es que no fermenta lactosa. Crece aproximadamente a las 48 horas después de haberlas inoculado. ¹⁸

El tratamiento para las infecciones producidas por esta bacteria ha sido muy controversial, antes de los años 70 la mortalidad era alta por la poca disponibilidad de terapias eficaces. Actualmente han salido antibióticos de diferentes grupos con actividad contra *Pseudomonas*. En el caso de las quinolonas, está ciprofloxacino que por vía parenteral y a dosis altas es eficaz. Dentro de los betalactámicos encontramos a las cefalosporinas donde hay un grupo llamado “antipseudomónicas” en las que se incluyen a cefepime y ceftazidima; también lo están los carbapenems, con su representante máximo imipenem, además de meropenem. Dentro de la medicina complementaria tenemos el empleo de la miel de abeja como parche o uso directo sobre heridas infectadas ya sea post quirúrgicas o de pie diabético. ³

Ceftazidima es un antibiótico betalactámico de tercera generación del grupo de las cefalosporinas, su mecanismo de acción es bactericida impidiendo la formación de la pared bacteriana a través de su unión a las proteínas fijadoras de penicilinas (PBP), además de activar las autolisinas lo cual al final logra la lisis bacteriana. Su vía de administración es endovenosa administrándose a un rango de 1 a 2 gramos cada 6 a 12 horas. ¹⁹

1.4 Formulación del problema

¿La miel de abeja tiene efecto antibacteriano contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* comparado con ceftazidima, *in vitro*?

1.5 Justificación del estudio

Pseudomonas aeruginosa es una de las causantes de infecciones graves y a veces mortales en los hospitales; aumentando la tasa de morbi-mortalidad por infecciones

intrahospitalarias. De otro lado en el medio extra-hospitalario la incidencia de infección por *Pseudomonas aeruginosa* va en aumento siendo común encontrar esta bacteria en infecciones de pie diabético, infecciones oportunistas en pacientes inmunocomprometidos, etc.

Existen en el mercado terapias farmacológicas contra este patógeno como es el uso de ceftazidima, cefepime, piperazilina-tazobactam, etc., pero son fármacos de costo medio - alto, muchas veces con efectos adversos inesperados y además la tasa de resistencia bacteriana va en aumento. Para los pacientes con pie diabético, quemaduras infectadas, etc una terapia alternativa sería el uso de miel de abeja siendo una de las diferentes ventajas que no posee efectos indeseables y además es de fácil disponibilidad porque tiene costo bajo a comparación del tratamiento convencional, y esto puede convertirse en una alternativa que permita la disminución de presupuesto para el paciente, su familia y el Estado.²⁰

Por lo antes indicado se justifica realizar la presente investigación.

1.6 Hipótesis

H1: La miel de abeja tiene efecto antibacteriano contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* comparado con ceftazidima.

H0: La miel de abeja no tiene efecto antibacteriano contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* comparado con ceftazidima.

1.7 Objetivos

1.7.1 Objetivo general

- Determinar el efecto antibacteriano de la miel de abeja contra *Pseudomonas aeruginosa* comparado con ceftazidima, *in vitro*.

1.7.2 Objetivos específicos

- Analizar el efecto antibacteriano de la miel de abeja contra *Pseudomonas aeruginosa*.
- Analizar el efecto antibacteriano de la ceftazidima contra *Pseudomonas aeruginosa*.
- Comparar el efecto antibacteriano de la miel de abeja y ceftazidima contra *Pseudomonas aeruginosa*.

II. MÉTODO

2.1 Diseño de investigación: Experimental con múltiples repeticiones

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4

Donde:

G1: Dilución de miel de abeja al 100%

G2: Dilución de miel de abeja al 75%

G3: Dilución de miel de abeja al 25%

G4: Tratamiento estándar con ceftazidima

O: Las observaciones en este caso son posteriores al estímulo porque no hay medición basal

2.2 Variables y operacionalización

2.2.1 Variable Independiente: Tratamiento antibacteriano contra *Pseudomonas aeruginosa*

- a) **No farmacológico:** Miel de abeja
- b) **Farmacológico:** Ceftazidima

2.2.2 Variable Dependiente: Eficacia del efecto antibacteriano

- a) **Eficacia:** Existe inhibición de crecimiento bacteriano
- b) **No eficacia:** No existe inhibición de crecimiento bacteriano

2.2.3 Operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
-----------	-----------------------	------------------------	-------------	--------------------

<p>Variable Independiente: Tratamiento antibacteriano contra <i>P. aeruginosa</i></p>	<p>Para el tratamiento de infección por <i>P. aeruginosa</i> se utiliza: Tratamiento no farmacológico con miel de abeja¹⁴ Tratamiento farmacológico con ceftazidima³</p>	<p>Para identificar el efecto antibacteriano contra <i>P. aeruginosa</i> se utilizó diluciones de miel de abeja y ceftazidima.</p>	<p>G1: Concentración de miel de abeja al 100% G2: Dilución de miel de abeja al 75% G3: Dilución de miel de abeja al 25% G4: Tratamiento estándar con ceftazidima</p>	<p>Nominal</p>
<p>Variable Dependiente: Eficacia del efecto antibacteriano</p>	<p>Es la inhibición de crecimiento bacteriano.²¹</p>	<p>Se consideró: a) Presencia de UFC/ml b) Ausencia de UFC/ml</p>	<p>a) No eficaz: ≥ 1 UFC/ml b) Eficaz: 0 UFC/ml</p>	<p>Nominal</p>

2.3 Población, muestra y muestreo

2.3.1 Población: Estuvo constituida por las placas Petri sembradas con una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

2.3.2 Muestra: Para el presente estudio se consideró 3 repeticiones por cada tratamiento haciendo en total de 12 muestras distribuidas en 12 placas Petri.

Tamaño de muestra: Se calculó a través de la siguiente fórmula

$$n \geq \frac{(Z_{1-\frac{\alpha}{2}} + Z_{1-\beta})^2 + (\sigma_1^2 + \frac{\sigma_2^2}{r})}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

$$n \geq 3$$

$Z_{1-\frac{\alpha}{2}} = 2.33$ asumiendo un valor de confianza del 98%

$Z_{1-\beta} = 0.842$ asumiendo una potencia estadística del 80%

$\bar{x}_1 = 16^7$ según Mandal MD

$\sigma_1 = 0.8^6$ según Mahendran

$\bar{x}_2 = 22.65^{22}$ según Obregón

$\sigma_2 = 3.098^6$ según Mahendran

Unidad de análisis: La constituyeron las unidades formadoras de colonias (UFC) de *Pseudomonas aeruginosa*.

Unidad de muestra: Fue cada una de las placas cultivadas con *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

2.3.3 Muestreo: Aleatorio simple pues las cepas fueron sembradas en cada una de las placas de manera aleatoria.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

2.4.1 Técnica: Para determinar el efecto de la miel de abeja se utilizó la técnica de dilución en tubo por triplicado, conteniendo las concentraciones de miel de abeja al 100% y las diluciones al 75% y 25% en caldo Müller Hinton. Se inoculó la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 equivalente al tubo 0.5 del Nefelómetro de McFarland (1.5×10^8 UFC/ml) y se incubaron a 37°C por 24 horas.

Se sembraron de cada tubo en agar Trypticase Soya (TSA) 0.1ml para el recuento de colonias, incubándose a 37°C por 24 horas. Se hizo el recuento de UFC/ml en cada placa Petri, registrándose los resultados en las tablas correspondientes.

El mismo procedimiento se siguió para ceftazidima.

2.4.2 Instrumento: Se usó una tabla en la cual en la primera columna se registró las UFC/ml de las placas con miel al 100%, en la segunda con miel al 75%, en la tercera con miel al 25%, y por último el control con ceftazidima. (VER ANEXO 01)

2.4.3 Validez y confiabilidad: El instrumento se validó por opinión de expertos quienes garantizaron que los datos recolectados cumplieron los criterios de validación.

2.5 Métodos de análisis de datos

Para el procesamiento de la información se utilizó el programa estadístico SPSS v22; como la muestra fue <35 se comprobó la normalidad con la fórmula Shapiro Wilk, como cumplió la prueba de normalidad se aplicó la prueba paramétrica de análisis de varianza, ANOVA. ($p < 0.05$).

2.6 Aspectos éticos

Se obtuvo también la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo y los permisos para el uso del laboratorio de la facultad, además también se cumplió con las normas de bioseguridad.

III. RESULTADOS

Tabla 01: Efecto antibacteriano de la miel de abeja y ceftazidima, *in vitro* contra la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

UFC	N°	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
				Miel de abeja al 100%	3		
Miel de abeja al 75%	3	0	0	0	0	0	
Miel de abeja al 25%	3	9276,67	25,17	9214,15	9339,18	9250	9300
Ceftazidima	3	0	0	0	0	0	0

Fuente: Tabla de recolección de datos de experimento.

Elaboración: Propia

Interpretación:

- Al utilizar la miel de abeja al 100% y 75% el recuento fue 0.0 UFC/ml, demostrando que la miel a estas concentraciones tiene efecto antibacteriano. Con la miel al 25% se evidenció crecimiento promedio de 9276.67 ± 25.17 UFC/ml. Además, en el caso de ceftazidima se demostró el efecto antibacteriano porque inhibió completamente el crecimiento de *P. aeruginosa*.

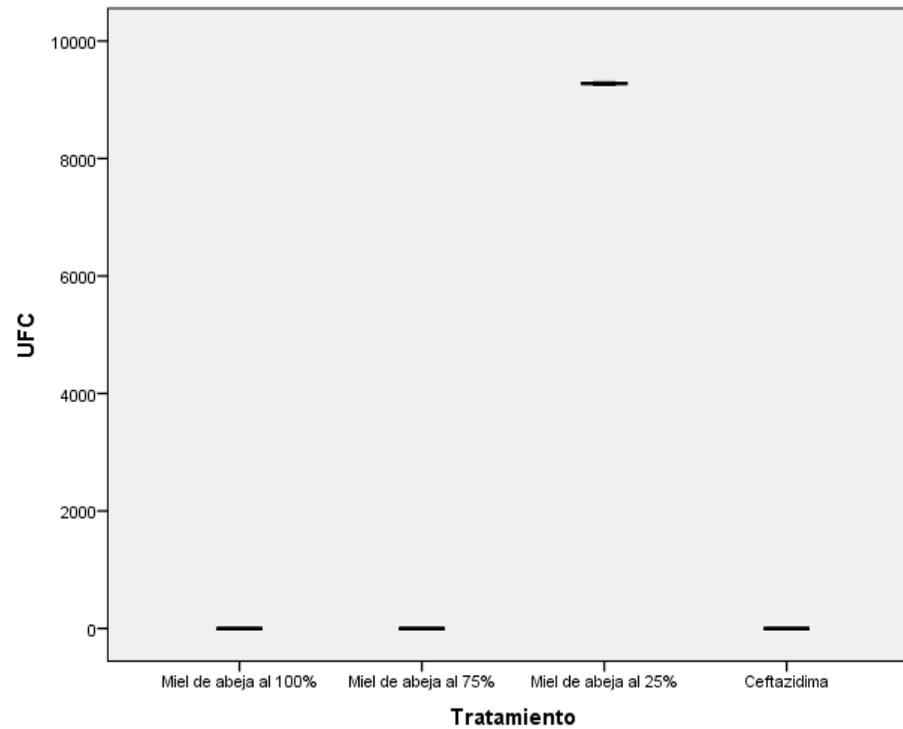


Figura 01: Recuento de UFC/ml según cada tratamiento.

Fuente: Tabla de recolección de datos de experimento.

Interpretación:

- Se observa 0.0 UFC/ml en las placas con miel de abeja al 100%, 75% y cefotaxidima
- Se observa 9.30×10^3 UFC/ml en promedio en la placa con miel de abeja al 25%.

IV. DISCUSIÓN

En este estudio se analiza el efecto antibacteriano de la miel de abeja a diferentes concentraciones contra *Pseudomonas aeruginosa* comparado con ceftazidima, que como muestra la Tabla 01, la miel de abeja a las concentraciones de 100% y 75% fueron efectivas ya que inhibieron totalmente el crecimiento de la bacteria (0.0 UFC/ml). Asimismo, la miel diluida al 25% presentó una eficacia parcial, pues en las tres muestras hubo entre 9,25 a $9,3 \times 10^3$ UFC/ml, teniendo en cuenta que se partió de un inóculo de 1.5×10^8 UFC/ml. Esto demuestra que la miel de abeja sí tiene efecto antibacteriano, aún cuando se utilizó a una concentración del 25%. Además, se puede inducir por los resultados que la miel mientras menos diluida está, tiene mayor efecto antibacteriano. Asimismo, se confirmó el efecto antibacteriano de ceftazidima sobre la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

En la Figura 01 se puede observar la variación del número de UFC/ml, utilizando las diversas concentraciones de miel de abeja y ceftazidima se evidenció que hubo 0.0 UFC/ml en las placas con miel de abeja al 75% y 100%, también donde se aplicó ceftazidima, mientras que en la miel al 25% persistió el crecimiento bacteriano, demostrándose así que hay diferencia entre la aplicación de una concentración y otra de miel de abeja.

Mahendran S, et al⁶ (India, 2015) comparó 12 tipos de miel, la mitad de ellas de verano y las otras restantes de invierno, y si bien todas demostraron algún efecto antibacteriano contra bacterias Gram positivas y negativas en el caso de *Pseudomonas aeruginosa* la que tuvo mayor acción fue la miel número dos producida en estación de frío. En el presente trabajo se usó miel de abeja extraída en el mes de Julio coincidiendo con la estación de invierno.

En este estudio se determinó que la concentración de la miel es directamente proporcional a su efecto antibacteriano, es decir, que a mayor concentración mayor es la acción contra *Pseudomonas aeruginosa*, estos resultados son concordantes con Mandal MD, et al⁷ (India, 2011) quien también demostró en su estudio la acción antibacteriana de la miel de abeja a diferentes diluciones contra la misma bacteria y otras, formándose halos de inhibición de mayor

diámetro en proporción a mayor concentración de miel. Lo que llama la atención es que en el estudio realizado en la India, la miel de abeja recolectada en Nilgiris a tan solo el 5% de concentración ya tiene efecto antibacteriano.

Al igual que en este estudio, Shenoy VP, et al²³ (India, 2012) experimentó con diferentes diluciones de miel encontrando que el efecto antibacteriano dependió de la concentración de la miel y que a partir del 20% hay efecto bactericida, concluyendo así que la miel sirve como medio para guardar injertos de piel, además como tratamiento para diferentes lesiones tipo leishmaniosis, heridas quirúrgicas, quemaduras, úlceras de decúbito, etc; y que es incluso útil para tratar infecciones resistentes a antibióticos convencionales. Además, en ese estudio se hizo un comentario sobre la acción antibacteriana de la miel según su origen y encontraron que el efecto varía según el lugar de donde se recolectó el producto.

En esta presente tesis se encontró que a mayor concentración de miel, el efecto antibacteriano será mayor esto es concordante con el experimento de Alaa A, et al²⁴ (Arabia Saudita, 2015) en el que usó varios tipos de miel a diferentes concentraciones y lo enfrentó contra *Pseudomonas aeruginosa* imipenem sensible y otro grupo de dicha bacteria resistente al imipenem, encontrando que todos los tipos de miel al menos a la mitad de su concentración producen inhibición completa del crecimiento bacteriano. Sin embargo, la miel de Seder al 20% causó solo una disminución del crecimiento bacteriano.

Hay referencias de experimentos a concentraciones más bajas de la miel de abeja como es el caso del trabajo realizado por Wilkinson J, et al²⁵ (Estados Unidos, 2005), ellos encontraron efecto antibacteriano con miel al 2.5% contra *Pseudomonas aeruginosa* y otra bacteria Gram negativa y concluyeron que la miel es una potente opción como terapia para heridas. La miel utilizada en dicha investigación fue de la India.

En el presente trabajo se encontró que el efecto antibacteriano depende de la concentración de la miel utilizada, estos resultado fueron similares a los que encontró Bautista R⁹ (Perú, 2011) que experimentó con miel de *Apis mellífera* al 5%, 10%, 20%, 30% y 100% y la enfrentó contra *Streptococcus mutans* encontrando que a concentraciones menores del 30% el efecto es nulo,

mientras que a diluciones mayores del 30% sí hubo efecto antibacteriano; no se estudió *Pseudomonas aeruginosa*; sin embargo, podemos concluir que el efecto antibacteriano es independiente del germen con el que se trabaje.

V. CONCLUSIONES

- La miel de abeja tiene efecto antibacteriano total contra la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 al 100% y 50% y efecto parcial al 25%.
- La ceftazidima inhibe totalmente el crecimiento bacteriano de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- Hay diferencia significativa entre el uso de la miel de abeja y ceftazidima como antibacterianos a diferentes concentraciones.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios prospectivos utilizando la miel de abeja como coadyuvante en el tratamiento de úlceras de decúbito y en infección de heridas operatorias.
- Hacer estudios comparativos entre diferentes tipos de miel de distintos lugares de recolección, para evaluar sus propiedades y si hay diferencia del efecto antibacteriano entre una miel y otra.
- Realizar estudios donde se compare diferentes métodos de sensibilidad antibacteriana utilizando la miel de abeja.

VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fariñas M, Martínez-Martínez L. Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Sant)* 2013;31(6):402–409. (Citado: 20/08/2017. Disponible en: https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/eimc/seimc_eimc_v31n06p4_02a409.pdf)
2. Montero M. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente: aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos. [Tesis Doctoral]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona; 2012. (Citado: 20/08/2017. Disponible en: <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/107902/mmm1de1.pdf?sequence>)
3. Reuben R. Infecciones por *Pseudomonas* y microorganismos relacionados. En: Barnes P, Longo D, Fauci A. *Harrison principios de medicina interna*. 18° ed. Estados Unidos: Mc Graw Hill; 2012. p. 1266 – 1273. (Citado: 20/08/2017).
4. Yagui Moscoso M, Castilla Vicente T, Llanos Zavalaga F. Análisis de situación de las infecciones intrahospitalarias en Perú. Lima: Ministerio de Salud; 2000. (Citado: 20/08/2017. Disponible en: http://bvs.minsa.gob.pe/local/oge/237_oge29.pdf)
5. Instituto Nacional de Salud. Informe de la resistencia antimicrobiana en hospitales en Perú. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2008. (Citado: 20/08/2017. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/cnsp_resanti_informesdevigilancia/INFO_RME%20VIGILANCIA%20HOSPITALARIOS%202008.pdf)
6. Mahendran S, Kumarasamy D. Antimicrobial activity of some honey samples against pathogenic bacteria. *ISSN (Ind)* 2015; 34: 15-20. (Citado: 20/08/2017. Disponible en: www.scipress.com/ILNS.34.15)

7. Mandal MD, Mandan S. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine (Ind) 2011; 1(2): 154-160. (Citado: 20/08/2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3609166/pdf/apjtb-01-02-154.pdf>)
8. Aguilera G, Gil F, González A, et al. Evaluación de actividad antibacteriana de mieles de *Apis mellifera*, contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Rev del INHRR (Car) 2009; 40 (1) (Citado: 20/08/2017. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772009000100004)
9. Bautista Manrique R. Efecto antibacteriano de la miel de abeja en diferentes concentraciones sobre el Estreptococo mutans. [Tesis para bachiller]. Lima: Universidad San Martín de Porres; 2011. (Citado: 20/08/2017. Disponible en: http://www.repositorioacademico.usmp.edu.pe/bitstream/usmp/734/1/bautista_r.pdf)
10. Food and Agriculture Organization of the United Nations. CODEX STAN 12-1981. Codex Alimentarius. Organización Mundial de la Salud; 1981. (Citado: 12/08/2017. Disponible en: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCODEX%2B12-1981%252Fcxs_012s.pdf)
11. Coordinación General de Ganadería. Manual de buenas prácticas de producción de miel. México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación; 2014. (Citado: 12/08/2017. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Manuales%20de%20Buenas%20Prcticas/Attachments/1/mbpp.pdf>)
12. Herrero García F. Las abejas y la miel. España: Caja España; 2004. (Citado: 12/08/2017. Disponible en: <http://www.saber.es/web/biblioteca/libros/las-abejas-y-la-miel/las-abejas-y-la-miel.pdf>)

13. Coria A. Descubra los poderes curativos de la miel. Argentina: Dos Tintas; 2007. (Citado: 12/08/2017)
14. Guillermo L. Cómo cura la miel. España: RBA Libros; 2007. (Citado: 12/08/2017)
15. Sitte P, Weiler E, Kadereit J. Strasburger tratado de botánica. 35ª ed. España: Omega; 2004. (Citado: 12/08/2017)
16. Brooks G, Carroll K, Butel J. Microbiología médica. 25nd ed. Estado Unidos: Mc-Graw Hill; 2011. (Citado: 12/08/2017)
17. Tortora G, Funke B, Case C. Introducción a la microbiología. 9ª ed. España: Editorial Médica Panamericana; 2007. (Citado: 12/08/2017)
18. Forbes B, Sahm D, Wiessfeld A. Bailey & Scott: Diagnóstico microbiológico. 12ª ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2009. (Citado: 12/08/2017)
19. Baratti C, Di Girolamo G, Hernández R. Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11nd ed. Estados Unidos: McGraw Hill Interamericana; 2006. (Citado: 12/08/2017).
20. Nodarse Hernández R. Visión actualizada de las infecciones intrahospitalarias. Rev Cub Med (Cub) 2002; 31 (3): 201-208. (Citado: 01/10/2017. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000300008&lng=es.)
21. Picaso J. Recomendaciones de la sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica: métodos básicos para el estudio de la sensibilidad de los antimicrobianos. 2^d ed. España: SEIMC; 2000. (Citado: 24/02/2018. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>)

22. Obregón G, Zavaleta A. Control de calidad de discos de sensibilidad antibiótica comercializados en el mercado peruano. Rev Med Exp (Per) 2000; 17: 1-4. (Citado: 02/04/2018. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v17n1-4/a04v17n1-4.pdf>)
23. Shenoy VP, Ballal M, Shivananda P, Bairy I. Honey as an antimicrobial agent against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from infected wounds. J Glob Infect Dis. 2012; 4(2): 102-5 (Citado: 01/11/2018. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3385198/>)
24. Al-Nahari AA, Almasaudi SB, Abd El-Ghany SM, Barbour E, Al Jaouni SK, Harakeh S. Antimicrobial activities of Saudi honey against *Pseudomonas aeruginosa*. Saudi J Biol Sci (Ar Sau) 2015 Sep; 22(5): 521-5 (Citado: 01/11/2018). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26288553>)
25. Wilkinson JM, Cavanagh HM. Antibacterial activity of 13 honeys against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Food. 2005 Spring; 8(1): 100-3. /Citado: 02/11/2018. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15857217>)

VIII. ANEXOS

ANEXO 01: Tabla de recolección de datos de experimento

UFC	Miel de abeja			Control Ceftazidima
	100%	75%	25%	
Placa 1	0	0	9.28 x 10³	0
Placa 2	0	0	9.3 x 10³	0
Placa 3	0	0	9.25 x 10³	0

ANEXO 02: Pruebas de normalidad

Pruebas de normalidad^{a,b,d}				
Tratamiento		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
UFC	Miel de abeja al 25%	0,987	3	0,780

- a. UFC es constante cuando Tratamiento = Miel de abeja al 100%. Se ha omitido.
- b. UFC es constante cuando Tratamiento = Miel de abeja al 75%. Se ha omitido.
- c. Corrección de significación de Lilliefors
- d. UFC es constante cuando Tratamiento = Ceftazidima. Se ha omitido.

ANEXO 03: Prueba ANOVA de las UFC

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	193627225	3	64542408	407636,263	0,00
Dentro de grupos	1267	8	158		
Total	193628492	11			

ANEXO 04: Fotografías



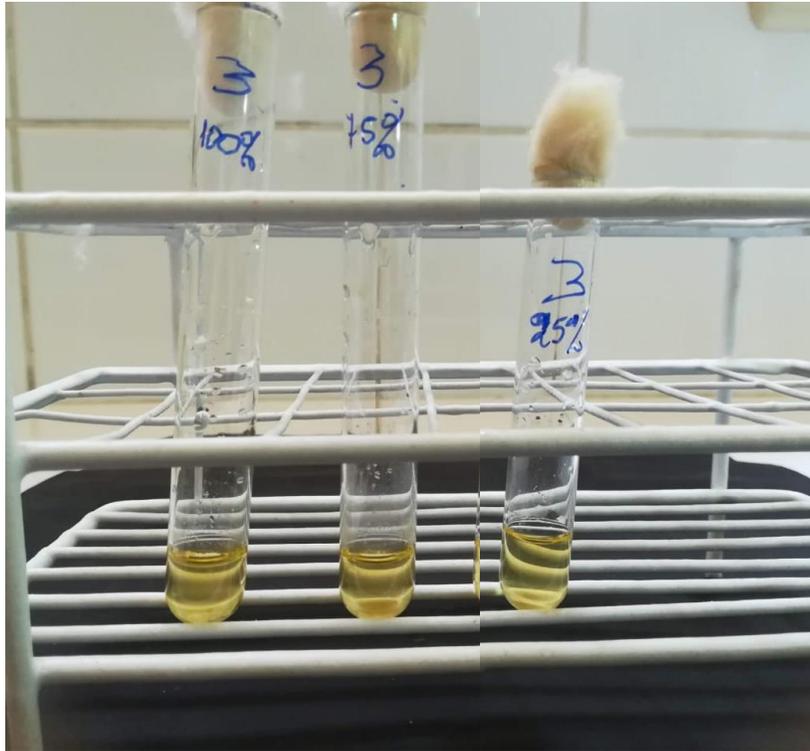
Siembra de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 en placas Petri



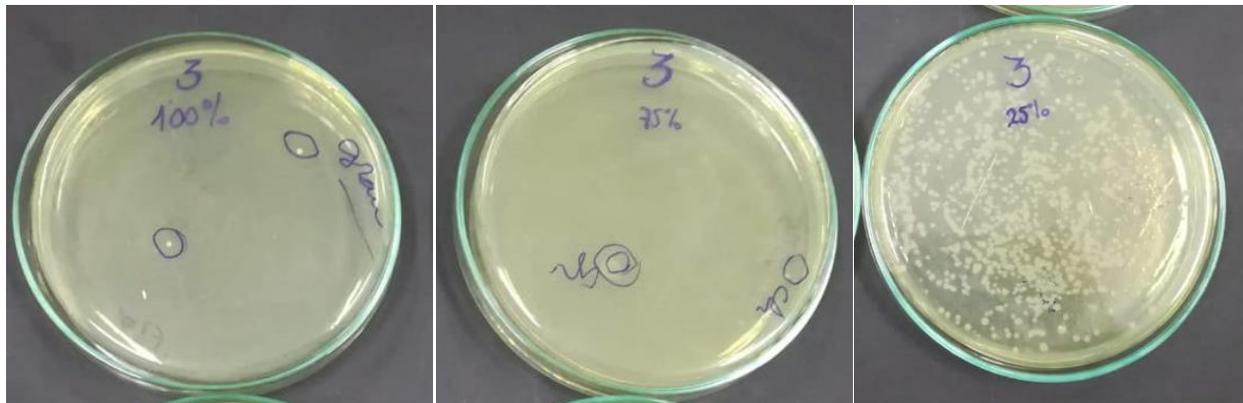
Tubo 0.5 del Nefelómetro de McFarland (1.5×10^8 UFC/ml)



Miel de abeja utilizada



Diluciones de miel al 100%, 75% y 25%



Placas Petri post aplicación de miel de abeja