

**UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
DE ICA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**“ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE MIEL DE ABEJA
MONO FLORAL DEL VALLE DE ICA, FRENTE A UNA
CEPA CERTIFICADA DE *Streptococcus mutans*. ICA.
AGOSTO 2015”**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIOLOGO**

PRESENTADO POR:

Bach. JACKELYN CHONTA SOLAR

ICA – PERU

2016

DEDICATORIA

A Dios, a mi padre aunque nos faltaron muchas cosas por vivir, siento que está conmigo siempre. A mi madre por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su amor y apoyo incondicional y a esa persona que a pesar de los años y obstáculos esta siempre a mi lado.

Jackelyn Chonta Solar

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica y especialmente a los Docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas, quienes con su profesionalismo y dedicación contribuyeron decididamente en mi formación profesional

Al Mag. Ricardo CCOILLO ATOCSA, Profesor Principal de la Facultad de Ciencias Biológicas, por su orientación acertada y asesoría constante en la culminación del presente trabajo de investigación.

Al Mag. Rafael PRADO, Profesor Principal de la Facultad de Ciencias Biológicas, por su invaluable apoyo, conocimiento y orientación en temas relacionados a la Microbiología Odontológica y a la solución de problemas.

INDICE

RESUMEN	6
ABSTRACT	7
I. INTRODUCCIÓN	8
II. ANTECEDENTES	11
III. MATERIAL Y METODOS	14
A. Material	14
Población	14
Muestra	14
B. Método	14
Procedimiento	15
IV. RESULTADOS	18
V. DISCUSION DE LOS RESULTADOS	22
VI. CONCLUSIONES	25
VII. RECOMENDACIONES	26
VIII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICAS	27
IX. ANEXOS	33

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar el nivel de eficacia de la actividad antimicrobiana de miel de abeja mono floral del valle de Ica, frente a una cepa certificada de ***Streptococcus mutans***.

Este estudio experimental se realizó con una muestra de 30 cultivos de ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175 (cepa certificada), en placas de Petri utilizando la siembra por incorporación o vertido en placa, ajustando la turbidez con el tubo N° 05 de la escala de Mc Farland. Dicha muestra fue sub dividida en tres series de 10 cultivos a los cuales se le aplicó soluciones de miel de abeja mono floral en concentraciones de 30%, 70% y 100%. El análisis estadístico incluye tablas de distribución porcentual y pruebas de significancia de Ji Cuadrado, para muestras relacionadas.

Se concluye que la miel de abeja mono floral del valle de Ica, demostró ser eficaz en sus tres concentraciones (30, 70 y 100) a las 24 horas. Asimismo existe diferencia significativa entre el nivel de eficacia de la actividad antibacteriana y las diferentes concentraciones, tanto en cultivos de 24 horas, y 48 horas; lo que significa que a mayor concentración de miel de abeja mono floral, habrá mayor actividad antimicrobiana sobre la cepa de ***Streptococcus mutans***. Se ha determinado que no existe importante diferencia entre la eficacia de la miel mono floral, como agente antimicrobiano, cuando se realizaron las lecturas de los halos de inhibición del desarrollo microbiano a las 24 horas y 48 horas.

Palabras claves: ***Streptococcus mutans***, miel mono floral, efecto antibacteriano.

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the level of effectiveness of the antimicrobial activity of honey bee floral monkey Ica Valley, facing a certified strain of *Streptococcus mutans*.

This experimental study was conducted with a sample of 30 cultures of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (certified strain) in Petri dishes using planting by incorporation or pour plate, adjusting the turbidity with the No. 05 tube scale Mc Farland . The sample was sub divided into three sets of 10 crops to which it was applied solutions mono floral honey in concentrations of 30%, 70% and 100%. Statistical analysis included percentage distribution tables and significance tests of Chi Square for related samples.

It is concluded that honey floral monkey Ica Valley, proved to be effective in its three concentrations (30, 70 and 100) at 24 hours. There is also significant difference between the level of effectiveness of antibacterial activity and different concentrations, in both cultures 24 hours, 48 hours; which means that the higher the concentration of honey bee floral monkey, be greater antimicrobial activity on *Streptococcus mutans* strain. It has been determined that there is no significant difference between the effectiveness of monkey floral honey, as an antimicrobial agent, when readings of the halos of inhibition of microbial growth at 24 hours and 48 hours were performed.

Keywords: *Streptococcus mutans*, honey, antibacterial effect.

I. INTRODUCCION

La miel de abeja es una sustancia producida por abejas melíferas a partir del néctar de las plantas, de secreciones de las partes vivas de las plantas o de excreciones de insectos succionadores, las cuales son transformadas mediante sustancias específicas propias, deshidratadas y almacenadas en colmenas hasta su maduración (1). El uso de este producto en el tratamiento de heridas, úlceras, quemaduras e infecciones data desde la antigüedad, ya que, además de poseer propiedades antibacterianas, el producto demuestra una importante actividad antiinflamatoria. Diversos estudios han reportado el efecto inhibitorio de la miel de abeja sobre aproximadamente 60 diferentes especies bacterianas, incluyendo Gram positivas y Gram negativas, así como actividad anti fúngica contra algunas levaduras y especies de *Aspergillus* y *Penicillium*, así como contra dermatofitos comunes (2).

Existen dos grandes grupos de abejas productoras de miel: aquellas con aguijón (*Apis mellifera*) y sin aguijón. Estas últimas pertenecen a la subfamilia Miliponinae, tribu Meliponini y Trigonini, y poseen una amplia distribución geográfica, encontrándose en las áreas tropicales y subtropicales del mundo (5). Existe consenso a nivel científico de que no todas las mieles poseen igual actividad antimicrobiana, esto debido a los diferentes niveles de producción de peróxido de hidrógeno y de factores no peróxido, los cuales son muy dependientes del origen de la miel (6), incluyendo la fuente del néctar, el área geográfica y el mismo procesamiento de la miel (2). La eficiente actividad antibacteriana y antiinflamatoria pone de manifiesto su enorme potencial de aplicación en el ámbito clínico a nivel dermatológico y estomatológico.

En los últimos tiempos, se ha investigado y demostrado la acción antimicrobiana de diversos productos naturales sobre las bacterias productoras de caries (Burt, 2006; Chung et al., 2006; Smullen et al., 2007; Liu et al., 2007), entre ellos, la miel de abejas. Algunos estudios sugieren que la miel de abejas puede ser de gran utilidad en el tratamiento de diferentes enfermedades periodontales, úlceras bucales y gingivitis (Molan, 2001a; English et al., 2004). Además, utilizando mieles no seleccionadas, Basson et al. (1994) determinaron

la concentración inhibitoria mínima de miel para 7 especies de ***Streptococcus*** relacionadas al desarrollo de caries dental. La concentración inhibitoria mínima de miel para ***Streptococcus oralis*** fue 12%, para ***Streptococcus anginosus*** 17%, y para ***Streptococcus gordonii***, ***Streptococcus mutans***, ***Streptococcus salivarius***, ***Streptococcus sanguis*** y ***Streptococcus sobrinus*** fue 25%. En otro trabajo, se registró que la concentración inhibitoria mínima de miel para ***Streptococcus mutans*** y ***Streptococcus sobrinus*** fue 25% y 35%, respectivamente (Molan, 2001a). Además, se demostró que el recuento de bacterias en saliva, medido una hora después de mantener 5 mL de miel en la boca durante 4 minutos, disminuyó un 40% (Molan, 2001a) sugiriendo además que la miel de abejas puede ser considerada un agente antibacteriano en pacientes con xerostomía inducida por la radioterapia.

Streptococcus mutans es el principal patógeno en la evolución de la caries dental, es una bacteria gran positiva anaerobia facultativa que habita en la cavidad bucal humana, formando parte del biofilm dental, esta bacteria es acidófila, es decir, habita en un pH ácido, es acidogénica porque metabolizan los azúcares ácidos y es acidúrica porque sintetiza ácidos, rompiendo algunas glicoproteínas salivales importantes, por lo que acelera las etapas de desarrollo inicial de las lesiones cariosas.

Considerando que la actividad antibacteriana que presenta la miel de abeja mono floral, como producto natural es atribuido a algunos factores como la osmolaridad; relacionada por su contenido de agua, su bajo pH y a los niveles de peróxido de hidrógeno y la presencia de los flavonoides: galangina y pinocembrina, principales componentes responsables de las propiedades antibacterianas, nos hemos propuesto realizar el presente trabajo de investigación teniendo como objetivo determinar el nivel de eficacia de la actividad antimicrobiana de miel de abeja mono floral del valle de Ica, frente a una cepa certificada de ***Streptococcus mutans***.

II. ANTECEDENTES

BAUTISTA MANRIQUE ROSELENA 2011, en su estudio evaluaron el “Efecto antibacteriano de la miel de abeja en diferentes concentraciones sobre el *Streptococcus mutans* ” Al comparar el promedio de los halos de inhibición que se formó ante el *Streptococcus mutans* a diferentes concentraciones de miel de abeja, se encontró que el promedio del halo de inhibición al 5%, 10% y 20% fue 0 mm, sin embargo en la concentración del 30% subió a 11.4 mm y a la concentración del 100% el halo de inhibición fue de 18.6 mm, la diferencia de promedios entre éstas cinco concentraciones mostró diferencia estadísticamente significativa ($p= 0.00$) (1)

GHELDOLF Y ENGESETH EN EL AÑO 2002.- En su estudio y trabajo de “Antioxidant capacity of honey from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples”. Reportaron en su estudio que aun cuando las propiedades antimicrobianas de la miel comúnmente son atribuidas a la presencia del peróxido de hidrogeno, estudios con mieles utilizadas en estado puro sin diluir del 100% v/v arrojaron resultados inhibitorios para la mayoría de los cultivos bacterianos, lo que se produce debido probablemente a su alta osmolaridad y acidez, por esta razón, concluyen los autores, la miel cuando es diluida, la producción de peróxido de hidrogeno es el principal agente antimicrobiano ya que ni la osmolaridad ni el pH son suficientes para detener el desarrollo de las bacterias (4)

BASSON et al.; MOLAN, 2001A; SELA et al.- En su investigación “Non-peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys”, realizada en Nueva Zelanda dijeron que: La Miel de Abejas es o no dañina para los dientes, ha sido motivo de discusión durante mucho tiempo. Considerando que la miel tiene un alto contenido de azúcares fermentables, sería de esperar que ésta fuera cariogénica. Sin embargo, varios estudios han demostrado que la miel de abejas posee actividad antibacteriana sobre los microorganismos productores de caries (5)

MOLAN, 2001A.- Sita, en su artículo “The scientific explanation of its effects on Bee”, realizado en EEUU. En un estudio en que se utilizaron mieles con actividad antimicrobiana conocida o seleccionadas, las concentraciones inhibitorias mínimas para *Streptococcus sobrinus* variaron entre 7.5 – 8.5% v/v. En otro trabajo, se registró que la concentración inhibitoria mínima de miel para *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* fue 25% y 35%, respectivamente. Además, se demostró que el recuento de bacterias en saliva, medido una hora después de mantener 5 ml de miel en la boca durante 4 minutos, disminuyó un 40% (6)

SALAZAR EN EL AÑO 2001.- En su trabajo de “Actividad antimicrobiana in vitro de la miel de abejas sobre bacterias cariogénicas (*Streptococcus mutans*)”. Chile: Universidad de la Frontera, Ciencias básicas de la Facultad de Medicina. Se evaluó la actividad antibacteriana in vitro de la miel de abejas utilizando cuatro clases de mieles ante el *Streptococcus mutans*, con los resultados determinaron que las diluciones de la miel al 30% y 35% (v/v) poseían características antibacteriales que interrumpían el crecimiento de la bacteria por la acción del producto conocido como peróxido de hidrogeno, el cual se presenta como resultado de la oxidación de la glucosa. El rango de dilución que utilizó Salazar se encuentra en el rango de las diluciones hechas al 50% y 20% (v/v) del presente estudio (7)

STEINBERG et al., 1996.- En su trabajo “Antibacterial effect of propolis and honey on oral bacteria”, dice que: El mecanismo de la acción antimicrobiana de la miel de abejas sobre las bacterias estreptococos del grupo mutans puede ser atribuido a varios factores: actividad osmótica de la miel concentración de peróxido de hidrógeno en la miel, inhibición de la formación de dextrano, contenido de ácidos orgánicos no aromáticos, concentración de ácido benzoico y sus derivados, contenido de ácido cinámico y sus derivados, y concentración de flavonoides. Evaluaron la actividad antibacteriana de la miel de abeja sobre el Estreptococo mutans presente en la saliva de 10 voluntarios. Los resultados que obtuvieron fue que la miel de abeja en una concentración baja indujo al crecimiento bacteriano, mientras que en altas concentraciones tuvo un efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano in vitro (8)

ZAMORA, L. 2011, En su trabajo “Calidad microbiológica y actividad antimicrobiana de la miel de abejas sin aguijón” concluye que la miel de abejas sin aguijón muestra una buena calidad microbiológica y un adecuado efecto inhibitorio sobre el crecimiento de varios microorganismos, por lo que su potencial uso terapéutico es muy prometedor (27)

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. MATERIAL

3.1.1. Población

Conformada por la miel producida por las abejas a partir del néctar de las flores del valle del Departamento de Ica. La miel mono floral es aquella en la que al menos el 45% del total de sus granos de polen corresponden a una misma especie vegetal, obteniendo así características organolépticas, fisicoquímicas, microscópicas propias de las mieles de dicha planta. (14) Las más usuales son de castaño, romero, olmo, tomillo, naranjo, acacia, eucalipto, guarango, lavanda o cantueso, alfalfa, etcétera, en este estudio se utilizó miel de abeja del guarango.

3.1.2. Muestra

El tamaño de muestra, estuvo constituido por 30 cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (Cepa certificada). Subdividida en tres series. 10 placas Petri con 30% de miel mono floral, 10 placas Petri con 70% y 10 placas Petri con 100% de miel mono floral del valle de Ica.

3.2. MÉTODOS

En el presente trabajo se utilizó dos métodos para realizar este estudio:

- Método prospectivo de recolección de datos.
- Método de observación directa.

3.3. PROCEDIMIENTO

Fundamento

Este experimento se basó en un estudio de sensibilidad antimicrobiana del *Streptococcus mutans* mediante la presencia de halos de inhibición del desarrollo bacteriano, producido por efecto de la aplicación de las soluciones

de la miel mono floral . Para determinar el nivel de eficacia del efecto bacteriostático, se midió el halo de inhibición formado entre el borde del producto natural y parte extrema del halo, expresado en mm.

Interpretándose de la siguiente manera:

No eficaz	0,0 – 1,0 mm
Poco Eficaz	1,1 – 3,9 mm
Eficaz	4,0 – Mas mm

Centro De Investigaciones Apícolas Tropicales. Universidad Nacional

De Costa Rica / Revista Zamora, L.; M. Arias. 2011

a) **Reactivación de la Cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

La cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, es una cepa de referencia debidamente certificada, obtenida de un Centro de Investigación Internacional. Para la recuperación de la cepa se utilizó el Caldo Trypticase Soya (CTS), y se incubó a 37°C en condiciones de anaerobiosis en el Gaspack (provee de Nitrógeno y CO₂) por 24 horas; obteniéndose así un cultivo joven.

b) **Preparación del Inóculo**

A partir de las cepas jóvenes de *Streptococcus mutans*, se procedió a preparar el inóculo utilizando 1 ml de agua destilada estéril. La turbidez de la suspensión se ajustó con el tubo N° 0,5 de la Escala de turbidez de Mc Farland (1,5 x10⁸ UFC/ml).

c) **Siembra de Inóculo por difusión**

De acuerdo al método estandarizado de Kirby Bauer, se realizó un frotis por sobre cada una de las superficies de las placas con agar, posteriormente se colocaron discos impregnados con las diferentes concentraciones de miel de abeja 50%, 70% y 100%, cada una con 10 réplicas para determinar la mayor eficacia de una de ellas, dejándose reposar por unos 30 minutos, posterior a ello se incubaron a 37°C por 24 horas en condiciones de anaerobiosis, luego por 24 horas más de incubación en condiciones de microaerofilia, al cabo de ese tiempo

se hizo la lectura de las placas, determinándose la presencia de halos de inhibición, procediéndose a la medición de los mencionados halos.

d) Control y lectura de los cultivos

Tanto a las 24 horas y 48 horas se realizó la lectura de los halos de inhibición, para lo cual se midió, con una regla milimetrada, el halo formado entre el borde del producto natural y parte extrema del halo formado.

e) Evaluación estadística de los resultados

Los resultados se presentan en tablas de distribución porcentual de las medidas de los halos de inhibición del desarrollo de ***Streptococcus mutans***. Para determinar si existe diferencia significativa en la eficacia de la actividad antimicrobiana de las diferentes concentraciones de la miel de abeja se realizó la prueba de significancia de Ji Cuadrado.

IV. RESULTADOS

Tabla N° 1: Actividad antimicrobiana de miel de abeja monofloral al 30% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 24 horas de incubación.

Replica	(mm) halo de inhibición	Control positivo
1	0,5	9.5
2	0,0	8.5
3	0,5	8.6
4	1,0	8.5
5	0,0	8.5
6	0,6	8.7
7	4,2	9.7
8	1,0	8.3
9	2,5	9.7
10	0,2	8.7

No Eficaz	0,0 – 1,0 mm
Poco Eficaz	1,1 – 3,9 mm
Eficaz	4,0 – Mas mm

Centro De Investigaciones Apícolas Tropicales. Universidad Nacional De Costa Rica / Revista Zamora, L.; M. Arias. 2011.

Tabla N° 2: Actividad antimicrobiana de miel de abeja monofloral al 70% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 24 horas de incubación.

Replica	(mm)halo de inhibición	Control positivo
1	4,8	9.5
2	4,6	7.9
3	4,0	9.5
4	2,0	9.5
5	5,0	8.3
6	1,0	8.3
7	5,2	8.6
8	4,2	7.8
9	1,8	9.7
10	2,8	9.1

No Eficaz	0,0 – 1,0 mm
Poco Eficaz	1,1 – 3,9 mm
Eficaz	4,0 – Mas mm

Centro De Investigaciones Apícolas Tropicales. Universidad Nacional De Costa Rica / Revista Zamora, L.; M. Arias. 2011.

Tabla N° 3: Actividad antimicrobiana de miel de abeja monofloral al 100% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 24 horas de incubación.

Replica	(mm)halo de inhibición	Control positivo
1	6,2	9.5
2	4,4	8.7
3	5,2	9.8
4	6,8	7.5
5	4,8	8.9
6	5,0	8.3
7	3,6	8.9
8	6,8	8.7
9	6,6	9.2
10	5,8	8.9

No Eficaz	0,0 – 1,0 mm
Poco Eficaz	1,1 – 3,9 mm
Eficaz	4,0 – Mas mm

Centro De Investigaciones Apícolas Tropicales. Universidad Nacional De Costa Rica / Revista Zamora, L.; M. Arias. 2011.

Tabla N° 4: Actividad antimicrobiana de miel de abeja monofloral al 30% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 48 horas de incubación.

Replica	(mm) halo de inhibición	Control positivo
1	0,5	9.5
2	0,0	9.5
3	0,5	8.6
4	1,0	7.5
5	0,0	8.5
6	0,6	8.7
7	4,2	7.7
8	1,0	6.3
9	2,5	9.7
10	0,2	9.7

No Eficaz	0,0 – 1,0 mm
Poco Eficaz	1,1 – 3,9 mm
Eficaz	4,0 – Mas mm

Centro De Investigaciones Apícolas Tropicales. Universidad Nacional

Tabla N° 5: Actividad antimicrobiana de miel de abeja monofloral al 70% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 48 horas de incubación.

Replica	(mm)halo de inhibición	Control positivo
1	4,8	9.5
2	4,6	7.9
3	4,4	9.5
4	2,2	9.5
5	5,0	8.3
6	1,0	8.3
7	5,2	8.6
8	4,2	7.8
9	2,0	9.7
10	2,8	4.1

No Eficaz	0,0 – 1,0 mm
Poco Eficaz	1,1 – 3,9 mm
Eficaz	4,0 – Mas mm

Centro De Investigaciones Apícolas Tropicales. Universidad Nacional De Costa Rica / Revista Zamora, L.; M. Arias. 2011.

Tabla N° 6: Actividad antimicrobiana de miel de abeja monofloral al 100% frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a las 48 horas de incubación.

Replica	(mm) halo de inhibición	Control positivo
1	6,2	9.5
2	4,4	8.7
3	5,2	9.8
4	6,8	7.5
5	4,8	8.9
6	5,0	8.3
7	3,6	8.9
8	6,8	8.7
9	6,6	9.2
10	5,8	8.9

No Eficaz	0,0 – 1,0 mm
Poco Eficaz	1,1 – 3,9 mm
Eficaz	4,0 – Mas mm

Centro De Investigaciones Apícolas Tropicales. Universidad Nacional De Costa Rica / Revista Zamora, L.; M. Arias. 2011.

V. DISCUSION

Considerando que la miel tiene un alto contenido de azúcares fermentables, sería de esperar que ésta fuera cariogénica. Sin embargo, varios estudios han demostrado que la miel de abejas posee actividad antibacteriana sobre los microorganismos productores de caries (**BASSON et al.**; **MOLAN, 2001A**; **SELA et al** (6) En el presente trabajo de investigación nos hemos propuesto Determinar el nivel de eficacia de la actividad antimicrobiana de miel de abeja mono floral del valle de Ica, frente a una cepa certificada de ***Streptococcus mutans***.

En las tablas N° 1 y Tabla N° 2 se observa que las diferentes concentraciones de miel de abeja mono floral del valle de Ica, generan diferentes diámetros de halos de inhibición del crecimiento de la cepa de ***Streptococcus mutans ATCC*** 25175, tanto a 24 horas como a 48 horas, lo que demuestra que este producto natural tiene efecto antibacteriano. Esta actividad antibacteriana está relacionada a los siguientes aspectos:

- Acidez (pH bajo): La miel presenta un pH que varía en la escala de 3.2 a 4.5. La acidez, beneficia la acción antibacteriana de los macrófagos, ya que un pH ácido dentro de la vacuola se relaciona con lisis bacteriana. La mayoría de las sustancias antimicrobianas de la miel se forman en el organismo de las abejas.
- Osmolaridad: La miel por su concentración de glucosa es una sustancia híper osmolar, con alta presión osmótica y baja actividad de agua "Aw"0.5 (16% agua) en un rango de temperatura de 4° a 37° C. El azúcar crea un medio con bajo contenido de agua (alta osmolaridad), el cual hace que ninguna bacteria u hongo pueda desarrollarse.
- Presencia de peróxido de hidrógeno: Producido por la enzima glucosil - oxidasa presente en la miel de abeja. Sin embargo, un componente importante son los fitoquímicos, sustancias que provienen de la floración visitada por la abeja para la colecta del néctar. Dentro de éste grupo están los flavonoides, que presentan propiedades antioxidantes y antimicrobianas, y son reconocidos por inhibir un amplio

rango de bacterias Gram positivas y Gram negativas. (21) Hoy se sabe que la hipótesis más aceptada sobre el efecto antibacteriano de la miel de abeja se debe principalmente a la presencia de la enzima llamada “inhibina” (enzima). Estas inhibinas consisten en peróxido de hidrógeno, flavonoides y ácidos fenólicos, además de otras sustancias aún sin identificar. (28) (29)

En las tablas N° 3 y Tabla N° 4, se observa que existe diferencia significativa entre el nivel de eficacia de la actividad antibacteriana y las diferentes concentraciones de miel de abeja mono floral del valle de Ica, tanto en cultivos de 24 horas, como en cultivos de 48 horas; habiéndose determinado hasta un 60% de eficacia con una concentración de miel del 70% y de 90% de eficacia frente a una miel pura (100%) lo que significa que a mayor concentración de miel de abeja mono floral, habrá mayor actividad antimicrobiana sobre la cepa de ***Streptococcus mutans***.

Nuestros resultados coinciden con los hallazgos de **BAUTISTA, R. 2011**(1), quien comparó el promedio de los halos de inhibición que se formó ante el ***Streptococcus mutans*** a diferentes concentraciones de miel de abeja, encontró que el promedio del halo de inhibición al 5%, 10% y 20% fue 0 mm, sin embargo en la concentración del 30% subió a 11.4 mm y a la concentración del 100% el halo de inhibición fue de 18.6 mm, concluyendo que a mayor concentración de la miel de abeja mayor efectividad antibacteriana (1) Cabe mencionar que en éste trabajo se tomó como medida del halo todo el diámetro del mismo, mientras que en nuestro trabajo de investigación se consideró el método estandarizado recomendado por **ZAMORA, L. del CIAT**. Costa Rica (27) Es decir el halo formado entre el borde del producto natural y parte extrema del halo formado, que asegura una medición más exacta y está acorde a dicho parámetro.

Los resultados coinciden con los hallazgos de **GHELDOLF Y ENGESETH** en el año **2002, (4)**, quienes utilizaron en su estudio miel en estado puro sin diluir al 100% v/v obteniendo resultados inhibitorios para la mayoría de los cultivos

bacterianos. Concordando con los resultados obtenidos en la presente investigación donde se demostró que la miel de abeja mono floral entre el 30 al 100% poseen actividad antimicrobiana eficaz; asimismo, **MOLAN, 2001(6)** quien registró que la concentración inhibitoria mínima de miel para ***Streptococcus mutans*** y ***Streptococcus sobrinus*** fue 25% y 35%, respectivamente. (6) En ésta investigación in vitro se encontró que la miel de abeja inhibe el crecimiento de ***Streptococcus mutans*** a concentraciones mayores al 30%. Por su parte, **SALAZAR 2001(7)** determinó que las diluciones de la miel al 30% y 35% (v/v) poseían características antibacteriales que interrumpían el crecimiento de la bacteria por la acción del producto conocido como peróxido de hidrogeno, el cual se presenta como resultado de la oxidación de la glucosa. El rango de dilución que utilizó Salazar se encuentra en el rango de las diluciones hechas al 50% y 20% (v/v) del presente estudio. Resultados semejantes a los de ésta investigación donde se demostró que la inhibición del ***Streptococcus mutans*** se presentó a partir del 30% de concentración de miel de abeja. Asimismo **STEINBER Get al., 1996. (8)** Evaluaron la actividad antibacteriana de la Miel de Abeja sobre el ***Streptococcus mutans*** presente en la saliva de 10 voluntarios. Los resultados que obtuvieron fue que la Miel de Abeja en una concentración baja indujo al crecimiento bacteriano, mientras que en altas concentraciones tuvo un efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano in vitro. Resultado similar al de ésta investigación donde demostramos que la miel de abeja a una menor concentración tiene menor grado de eficacia, pero en concentraciones de 70% y el 100% tiene mayor eficacia inhibiendo el crecimiento del ***Streptococcus mutans***.

Finalmente, en la tabla N° 5, se observa que no existe diferencia en la eficacia de la miel mono floral, como agente antimicrobiano, cuando se realizaron las lecturas de los halos de inhibición del desarrollo microbiano a las 24 horas y 48 horas. Lo que demuestra que ésta cepa por su versatilidad metabólica se puede adaptar a condiciones estrictamente anaeróbicas como lo puede hacer en condiciones de microaerofilia.

VI. CONCLUSIONES

Del estudio de 30 unidades experimentales, para determinar el nivel de eficacia de la actividad antimicrobiana de miel de abeja mono floral del valle de Ica, a las concentraciones de 30%, 70% y 100%; frente a una cepa certificada de ***Streptococcus mutans*** ATCC 25175; se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1. Se demostró que la miel de abeja mono floral a concentraciones de 30%, 70% y 100% resultó ser eficaz a las 24 y 48 horas.
2. Se ha determinado que existe diferencia significativa entre el nivel de eficacia de la actividad antibacteriana y las diferentes concentraciones de miel de abeja mono floral del valle de Ica, tanto en cultivos de 24 horas, como en cultivos de 48 horas; lo que significa que a mayor concentración de miel de abeja mono floral, habrá mayor actividad antimicrobiana sobre la cepa de ***Streptococcus mutans***.
3. No existe diferencia significativa eficacia de la miel mono floral, entre las 24 y 48 horas después de la incubación como agente antimicrobiano, cuando se realizaron las lecturas de los halos de inhibición.

VII. RECOMENDACIONES

1. Evaluar la actividad antimicrobiana de miel de abeja proveniente de diferentes áreas geográficas, para comparar su efecto bacteriostático, sobre cepas de ***Streptococcus mutans*** y otros Gram positivos.
2. Realizar estudios con la finalidad de identificar los principios activos que actúan como sustancias antimicrobianas.
3. Determinar la concentración mínima inhibitoria de mieles con actividad antimicrobiana de diferente origen tanto mono florales como multi florales, sobre cepas certificadas de ***Streptococcus mutans***

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Bautista Manrique Roselena.** [En línea]. “EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA MIEL DE ABEJA EN DIFERENTES CONCENTRACIONES SOBRE EL ESTREPTOCOCO MUTANS”. 2011 [Fecha de acceso 04 de enero del 2015]. URL disponible en : <http://www.repositorioacademico.usmp.edu.pe/browse?type=author&value=Bautista+Manrique%2C+Roselena>
2. **Moreno Z. Martínez y Figueroa J.** 2007, [En línea]. EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE PROPÓLEOS ARGENTINOS, COLOMBIANOS Y CUBANO SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC25175 2007. [Fecha de acceso 14 de marzo del 2015]. URL disponible en: http://www.who.int/oral_health/databases/en/index.html.
3. **Fajuri M, Huerta J, Silva N.** [En línea]. EFICACIA DEL PROPÓLEO CHILENO COMO ANTIMICROBIANO CONTRA MICROORGANISMOS DE INTERÉS EN ODONTOLOGÍA. 2004. [Fecha de acceso 8 de marzo del 2015]. URL disponible en: <http://www.ciget.pinar.cu/No.2003-2/propoleo.htm>
4. **Gheldof N, Engeseth N.** [En línea] ANTIOXIDANT CAPACITY OF HONEY FROM VARIOUS FLORAL SOURCES BASED ON THE DETERMINATION OF OXYGEN RADICAL ABSORBANCE CAPACITY AND INHIBITION OF IN VITRO LIPOPROTEIN OXIDATION IN HUMAN SERUM SAMPLES. J AGRIC FOOD CHEM. [Fecha de acceso 04 de enero del 2015]. URL disponible en: <http://www.actaodontologica.com/ediciones/2010/2/art22.asp>
5. **Molan PC.** [En línea] NON-PEROXIDE ANTIBACTERIAL ACTIVITY IN SOME NEW ZEALAND HONEY. [Fecha de acceso 9 de enero 2014]. URL disponible en: http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/encyclopedia_C-Cg.htm.

6. **Molan PC.** [En línea] WHY HONEY ISEFFECTIVE AS A MEDICINE. 2. THE CIENTIFIC EXPLANATION OF IT SEFFECTS. BEE. WORLD, 2001 [Fecha de acceso 25 de febrero del 2014]. URL disponible en:http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003475072000000300006

7. **Salazar LA.** [En línea] ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DE LA MIEL DE ABEJAS SOBRE BACTERIAS CARIOGÉNICAS (*STREPTOCOCCUS MUTANS*). [Fecha de acceso 12 de marzo del 2015]. URL disponible en: <http://www.16deabril.sld.cu/rev/206/mnt.html>.

8. **Steinberg D.** kaine, G. [En línea] ANTIBACTERIAL EFFECT OF PROPOLIS AND HONEY ON ORAL BACTERIA 1996. [Fecha de acceso 01 de marzo del 2014]. URL disponible en: <http://www.universodontologico.com.ar/Temas/diciembre2005.html>

9. **Naie Alvarez** [En línea]. SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIÓTICOS 2012. [Fecha de acceso 12 de enero del 2014].URL disponible en : <http://www.buenastareas.com/ensayos/Sensibilidad-a-LosAntibioticos/5090352.html>

10. **Mingle publicado por Odontopraxis 2011.** *STREPTOCOCCUS-MUTANS*. [En línea] [Fecha de acceso 07 de marzo del 2014] URL disponible en: <http://www.ODONTOPRAXIS.COM/STREPTOCOCCUS-MUTANS>

11. **Barrancos Mooney.** Operatoria dental. Buenos Aires - Argentina: Médica Panamericana, 4°Ed. 2006. Pág. 302.

12. **Hernández M.** [En línea]. AISLAMIENTO Y CUANTIFICACIÓN DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* EN SALIVA EN NIÑOS DE LA ESCUELA PRIMARIA 2011. [Fecha de acceso 16 de enero del 2014]. URL disponible en:https://attachment.fbsbx.com/file_download.php?id=2189168482919

74& eid=ASsul2QFv-
WOwqKiM0KrdWrxtXtTv30TVwL2OVktmeltTgl_mh-
oUKyBL9d1XdL4A&inline=1&ext=1396871905&hash=ASsQd6Ht7pX_v
erw

13. **Pedrazas D, Hernández Y.** [En línea]. DISEÑO Y VALORACION PARA UN MEDIO DE CULTIVO DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* 2006. [Fecha de acceso 20 de enero del 2014] URL disponible en: https://attachment.fsbx.com/file_download.php?id=218916848291974&eid=ASsul2QFv-WOwqKiM0KrdWrxtXtTv30TVwL2OVktmeltTgl_mh-oUKyBL9d1XdL4A&inline=1&ext=1396871905&hash=ASsQd6Ht7pX_verw
14. **Pesante D.** [En línea] APICULTURA TROPICAL: MIEL DE ABEJA DEPARTAMENTO INDUSTRIA PECUARIA RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ Pág. 2, 3, 4, 5 y 6 [Fecha de acceso 28 de enero del 2014] URL disponible en: <http://academic.uprm.edu/dpesante/5355/lamieldeabejas.PDF>
15. **Soto CE.** Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía, ESTUDIO DE MIELES MONOFLORES A TRAVÉS DE ANÁLISIS PALINOLÓGICO, FÍSICO, QUÍMICO Y SENSORIAL. Valdivia – Chile 2008 [Fecha de acceso 6 de mayo 2014].
16. **Cabrera, Ojeda De Rodríguez, Céspedes E. y Colin A.** [En línea] ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE MIEL DE ABEJASMULTIFLORES DE CUATROZONAS APÍCOLAS DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA. [Fecha de acceso 06 de marzo del 2003], Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/37937678/miel-de-abeja>
17. **Mc. Carthy, J.** [En línea] EFECTOS DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA. Revista American Bee - EEUU. [Fecha de acceso en mayo de 1995].Disponible en: <http://chetday.com/honeybacterial.html>

18. **Urosa F.** [En línea] LA APICULTURA Y SUS BONDADES. Editorial América C.A. Caracas, Venezuela 1987. [Fecha de acceso 01 de junio 1987]. Disponible en:
<http://www.libreroonline.com/venezuela/libros/19639/urosa-a-fernando/la-apicultura-y-sus-bondades.html>

19. **Ulloa A y col.** [En línea] LA MIEL DE ABEJA Y SU IMPORTANCIA . Pág.12 [Fecha de acceso 08 de febrero del 2014] URL disponible en: <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/01-04/2.pdf>

20. **La Miel de Abejas** - Información general y resumida de la miel de abejas (Actualidad, Economía, Comercio, Problemas, etc.). [En línea] LA MIEL: LA MIEL DE ABEJAS.COM 2002; [Fecha de acceso el 18 de marzo del 2014], disponible en: <http://www.lamieldeabejas.com/>

21. **Avila J.** [En línea]. LA MIEL, EL POLEN Y LA JALEA REAL. Viladrau 1980 [Fecha de acceso 6 de mayo del 2014]. disponible en: <http://www.eco-miel.com/Miel%20de%20Abeja%20Multifloral%202.html>

22. **Ríos A, Novoa L.** DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (C.M.I.) Y LAS CARACTERÍSTICAS DE LAS PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS (BACTERICIDAS O BACTERIOSTÁTICAS) DE MIEL DE APIS MELLIFERA DE ORIGEN MULTIFLORAL PROCEDENTE DEL ESTADO COJEDES (VENEZUELA). I Congreso Venezolano de Ciencia y Tecnología de Alimentos “Dr. Nikita Czyhrinciw”. Caracas, marzo, Venezuela: 94. 1996.

23. **Ortega N, Benítez C. Neyla, Cabezas F. Fabio A.** [En línea], ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y COMPOSICION CUALITATIVA DE PROPOLEOS PROVENIENTES DE DOS ZONAS CLIMATICAS DEL DEPARTAMENTO DEL CAUCA. 2010. [Fecha de acceso 05 de marzo del 2014] URL disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v9n1/v9n1a02.pdf>

24. **Calderón AD.** [En Línea] ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DE SOLUCIONES DE PROPÓLEO ETANÓLICO SOBRE DOS BACTERIAS PERIODONTO PATOGENAS FRECUENTES EN LA ENFERMEDAD GINGIVO PERIODONTAL. 2010Pág. 23, 28 [Fecha de acceso 08 de marzo del 2014] URL disponible en: <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/ALANDANNYCALDERONPUENTEDELA VEGA.pdf>
25. **Maytay Sacsá,** citada por López Del Villar J, Ubillus. [En Línea] ESTANDARIZACIÓN DEL PROPÓLEOS DEL VALLE DE OXAPAMPA, DEPARTAMENTO DE PASCO (PERÚ) COMO MATERIA PRIMA PARA SU UTILIZACIÓN A NIVEL INDUSTRIAL. Tesis Título de Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica; Universidad Nacional Mayor San Marcos. 2004. Pág. 15 , 20 [Fecha de acceso 18 de marzo del 2014] URL disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2328/1/lopez_vj.pdf
26. **Ministerio de Salud del Perú.** Instituto Nacional de Salud Organismo Público Descentralizado de Sector Salud. [En línea]. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR EL MÉTODO DE DISCO DIFUSIÓN. Serie de Normas Técnicas N° 30, febrero del 2002. Pág. 12. [Fecha de acceso 12 de enero del 2014].URL disponible en: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua_l%20sensibilidad.pdf
27. **Zamora L, M Arias. 2011.** [En línea] CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA MIEL DE ABEJAS SIN AGUIJÓN. Rev. Biomed. Vol.22, N° 2: 59-66. Universidad Nacional de Costa Rica.[Fecha de acceso 19 de enero del 2014]. Disponible en: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb112223.pdf>

28. **Chirinos Saavedra.** El mundo de las abejas. Manual teórico de producción de la miel de abeja.2007; 74 (4): 176 – 18. Disponible en la biblioteca central de la UNALM, Lima - Perú.
29. **Tautiz Jurgina.** Abejas: Un mundo extraordinario. Medunab. España. 2003. Pág.89 – 2. Disponible en la biblioteca central de la UNALM, Lima – Perú

IX.



ANEXOS

1

2

3

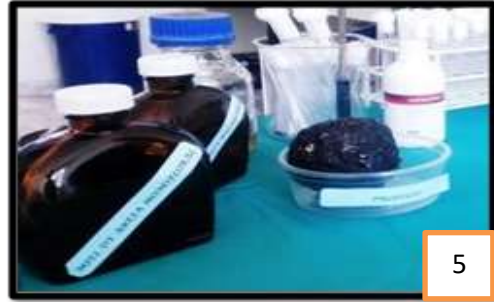


IMAGEN 1: tubos de ensayo, placas Petri, mieles, cepas

IMAGEN 2: cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

IMAGEN 3: Pipeta Electrónica.

IMAGEN 4: Agar Müller - Hinton

IMAGEN 5: Miel de Abeja mono floral y clorhexidina.

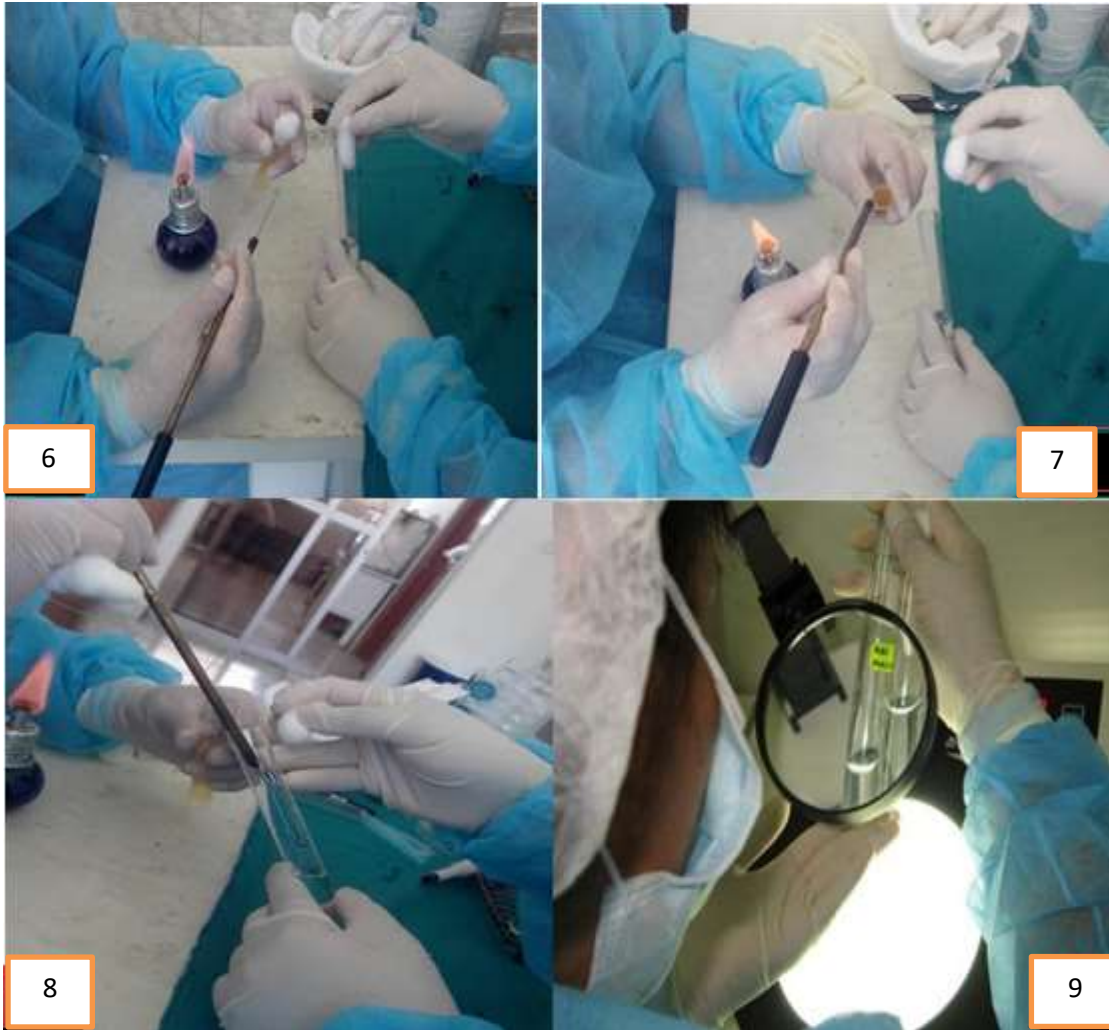


IMAGEN 6:

Transporte del inóculo hacia el tubo de ensayo con agua destilada.

IMAGEN 7 y 8:

Colocación y fijación del inóculo en 1ml de agua destilada.

IMAGEN 9:

Corporación del inóculo con el tubo 0.5 de la escala de turbidez de Mc Farland



IMAGEN 10 y 11

Se preparará la miel de abeja tanto monofloral, en condiciones asépticas, con sus respectivas concentraciones a evaluar.

IMAGEN 12 y 13

Colocación de la miel a diferentes sustancias en las placas Petri e incorporación del cultivo licuado para dar la consistencia coloide.



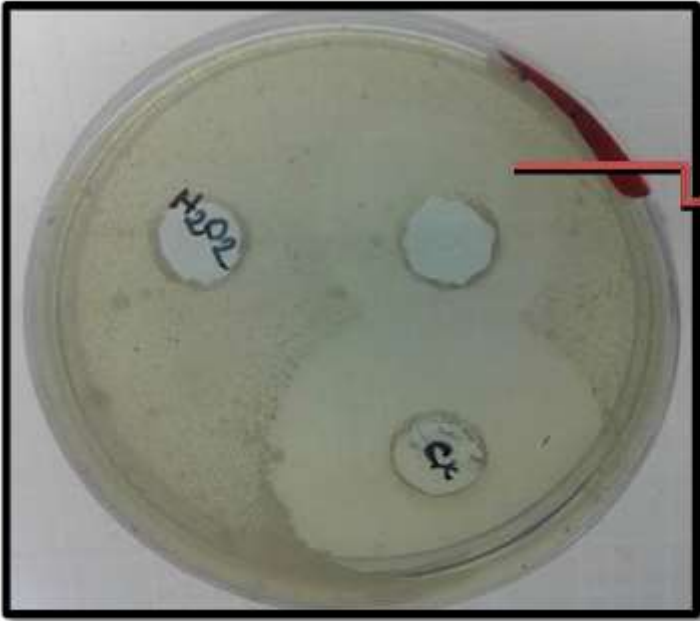
IMAGEN 14 y 15

Las primeras 24 horas se incubó en condiciones de anaerobiosis, luego del cual se realizó la primera lectura, propiciando el ingreso de aire, esto favorecerá el desarrollo de la cepa ya que esta es anaerobia facultativa, de modo que las siguientes 24 horas de incubación se realizó en condiciones de microaerofilia. A las 48 horas se realizó la segunda y definitiva lectura.

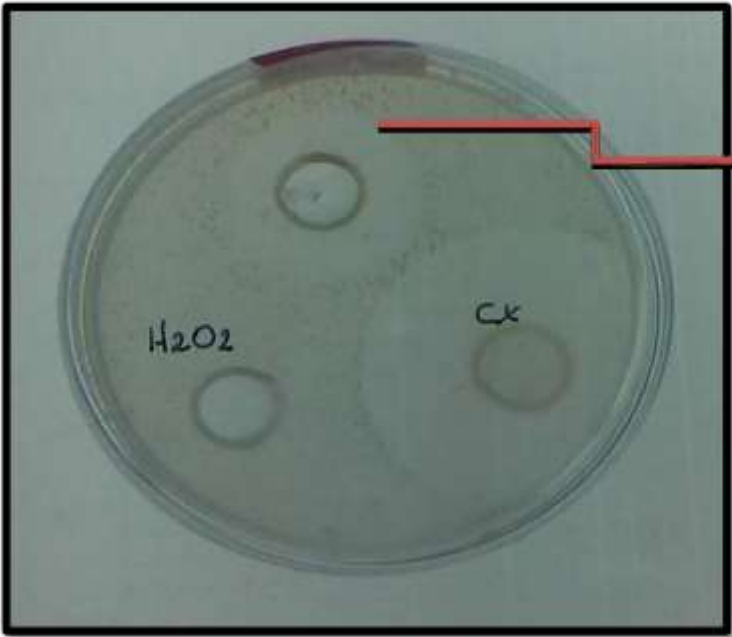


IMAGEN 16 y 17

Lectura de los halos de inhibición en mm a las 24 horas y 48 horas, para lo cual se empleó una regala milimetrada.



Halo formado



Halo formado