



UNAP



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN ECOLOGÍA Y
DESARROLLO

TESIS

**CARÁCTERÍSTICAS BACTERIOLÓGICAS DE MIEL DE
ABEJA SIN AGUIJÓN (*HYMENOPTERA:
MELIPONINI*) EN LORETO,
PERÚ**

PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRA EN CIENCIAS CON
MENCIÓN EN ECOLOGÍA Y DESARROLLO

PRESENTADO POR: STEFANY PAOLA VELA SANTANA

ASESOR (ES): DR. ÁLVARO TRESIERRA AYALA
M.SC. CÉSAR DELGADO VÁSQUEZ

IQUITOS-PERÚ

2019



UNAP

Escuela de Postgrado "JOSÉ TORRES VÁSQUEZ"
Oficina de Asuntos Académicos



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
036-2019-OAA-EPG-UNAP

Con **Resolución Directoral N° 0482-2019-EPG-UNAP**, se autoriza la sustentación de la tesis: "CARACTERÍSTICAS BACTERIOLÓGICAS DE MIEL DE ABEJA SIN AGUIJÓN (*Hymenoptera: Meliponini*) EN LORETO, PERÚ", designando como jurados a los siguientes profesionales:

MSc. Carol Margareth Sánchez Vela	Presidente
MSc. María Elena Bendayan Acosta	Miembro
MSc. Carlos Roberto Dávila Flores	Miembro
Dr. Álvaro Tresierra Ayala	Asesor
MSc. César Delgado Vásquez	Asesor

A los Nueve días del mes de Mayo del 2019, a horas 11:00 a.m., en el Auditorio de la Escuela de Postgrado de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, se constituyó el Jurado Evaluador y dictaminador, para presenciar y evaluar la sustentación de la tesis: "CARACTERÍSTICAS BACTERIOLÓGICAS DE MIEL DE ABEJA SIN AGUIJÓN (*Hymenoptera: Meliponini*) EN LORETO, PERÚ" presentado por la señora **Stefany Paola Vela Santana**, como requisito para optar el Grado Académico de **Maestra en Ciencias con mención en Ecología y Desarrollo**, que otorga la UNAP de acuerdo a la Ley Universitaria N° 30220 y el Estatuto de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

Después de haber escuchado la sustentación y luego de formuladas las preguntas, éstas fueron:

Absueltas

El Jurado, después de la deliberación correspondiente en privado, llegó a las siguientes conclusiones, la sustentación es:

1. Aprobado como: a) Excelente () b) Muy bueno (x) c) Bueno ()
2. Desaprobado: ()

Observaciones :.....
.....
.....

A Continuación, el Presidente del Jurado, da por concluida la sustentación, siendo las *12:05* p.m. del Nueve de Mayo del 2019; con lo cual, se le declara al sustentante... *A.P.T.O.* para recibir el Grado Académico de **Maestra en Ciencias con mención en Ecología y Desarrollo**.


MSc. Carol Margareth Sánchez Vela
Presidente


MSc. María Elena Bendayan Acosta
Miembro


MSc. Carlos Roberto Dávila Flores
Miembro


Dr. Álvaro Tresierra Ayala
Asesor


MSc. César Delgado Vásquez
Asesor

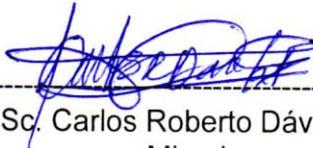
TESIS APROBADA EN SUSTENTACIÓN PÚBLICA EL 09 DE MAYO DEL 2019, EN EL AUDITORIO DE LA ESCUELA DE POSTGRADO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA, EN LA CIUDAD DE IQUITOS-PERÚ:



MSc. Carol Margareth Sánchez Vela
Presidente



MSc. María Elena Bendayán Acosta
Miembro



MSc. Carlos Roberto Dávila Flores
Miembro



Dr. Álvaro Tresierra Ayala
Asesor



MSc. César Delgado Vásquez
Asesor

Dedicatoria

Se la dedico al forjador de mi camino, a mi Dios padre, el que me acompaña y siempre me levanta de mi continuo tropiezo, al creador de mis padres y las personas que más amo con mi más sincero amor.

Agradecimientos

Gracias al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología Innovación Tecnológica, al Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana y a la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, por hacer posible la ejecución de esta investigación.

Gracias a los que me empujaron a la aventura de realizar la tesis de grado de maestra en especial a los señores Álvaro Tresierra Ayala, Cesar Delgado Vásquez y Kember Mejía Carhuanca, quienes me dieron la confianza y oportunidad para el desarrollo de la presente investigación, así mismo quiero agradecer al señor Pedro Pérez Peña por la orientación estadística del proyecto desarrollado.

Gracias a los amigos, a los que he robado horas de compañía, nombrar a todos sería muy extenso y podría cometer algún olvido injusto, por ello gracias amigos por estar ahí, y por encima de todo, y con todo mi amor gracias a los míos por estar incondicionalmente conmigo durante estos años, siempre gracias a mi madre Teresa Santana, a mi padre Otto Vela, a mis hermanos Doilly, Gary e Isaud y a mi pareja Jorge Yáñez, gracias por tanto cariño y apoyo incondicional.

Índice de contenido

Acta de sustentación	ii
Jurado	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Índice de contenido	vi
Índice de tablas	viii
Índice de gráficos	ix
Índice de ilustraciones	x
Resumen/ abstract	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	4
1.1 Antecedentes	4
1.2 Bases Teóricas	7
1.3 Definición de términos básicos	14
CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS	16
2.1 Variables y su operacionalización	16
2.2 Formulación de hipótesis	17
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	18
3.1 Tipo y diseño de investigación	18
3.2 Población y muestra	18
3.3 Técnicas e instrumentos	19
3.4 Procedimientos de recolección de datos	20
3.5 Técnicas de procesamientos y análisis de datos	29
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	31
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	39
CAPÍTULO VI: PROPUESTA	42
CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES	43
CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES	44
CAPÍTULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	52

Anexo 01: Algunos procedimientos bacteriológicos desarrollados en el Centro de Investigaciones de Recursos Naturales-Iquitos	52
Anexo 02: Caracterización microscópica de <i>Escherichia coli</i> drogorresistente	53
Anexo 03: Determinación de <i>Escherichia coli</i> drogorresistente, Prueba bioquímica	53
Anexo 04: ubicación de lugares de muestreo	54
Anexo 05: Evaluación de análisis bacteriológicos	55
Anexo 06: Muestras de mieles de abejas sin aguijón colectadas por 30 colmenas en las cuencas de los ríos Ucayali y Nanay	56
Anexo 07: Especies de abejas sin aguijón identificadas	56
Anexo 08: Tríptico, conocimientos básicos para la meliponicultura y sus buenas prácticas	57
Anexo 09: Ficha informativa, características bacteriológicas de miel de abeja sin aguijón	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01: Cantidades (UFC) de BAMV en diferentes muestras de miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019	32
Tabla 02: Tiempo de supervivencia de <i>E. coli</i> en los diferentes procesos de extracción y almacenamiento de miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019	34
Tabla 03: Valores de capacidad bactericida (mm) de los diferentes tipos de miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019	35
Tabla 04: Diferencia en los componentes principales de muestras de miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019	36

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 01. Comparación de valores de UFC en diferentes muestras de miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019	32
Gráfico 02. Comparación de cantidades (UFC) de BAMV en miel madura aséptica por especie de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019.	33
Gráfico 03. Comparación de la capacidad bactericida de los procesos de extracción y envasado de la miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019	35
Gráfico 04: Análisis de componentes principales de acción bactericida por lugar de muestreo. de miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019	37
Gráfico 05. Valores de concentración inhibitoria y bactericida mínima de la miel de abeja de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019	38

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 01: Técnica de recuento de colonia de Mesófilos Aerobio Viables	22
Ilustración 02: Tiempo de supervivencia de <i>E. coli</i> drogorresistente en la miel de abeja	24
Ilustración 03: Capacidad antibacteriana de la miel de abeja	25
Ilustración 04: Concentración inhibitoria mínima de la miel de abeja	26
Ilustración 05: Concentración bactericida mínima de la miel de abeja	28

RESUMEN

Los objetivos del estudio fueron la determinación de la contaminación bacteriana de la miel de abeja sin aguijón en el proceso de extracción y envasado, tiempo de supervivencia de *E. coli*, así como la determinación de la capacidad antibacteriana, concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM) de la miel frente a *E. coli*; se empleó cuatro muestras de miel de abeja: miel madura, inmadura colectada por el productor y envasado para su almacenamiento. En el proceso de extracción y envasado se obtuvo la media más baja de 800 UFC en miel madura, mientras que en las demás hubo valores más altos; *E. coli* logra sobrevivir hasta 32 h de tiempo promedio, la miel de abeja envasado para su almacenamiento mostró mayor acción bactericida de 11.74 mm de diámetro en tamaño de halo de inhibición, respecto a la CIM fue similar en la miel madura, colectada por el productor y envasado para su almacenamiento tuvieron 125 mg/ml, sin embargo se necesita cuatro veces más de miel inmadura para lograr un efecto similar. Se concluye que la miel producida por melipónidos presenta carga bacteriológica, esta carga muestra un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *E. coli* por lo que su potencial uso medicinal es muy prometedor para salvaguardar la salud de la población.

Palabras clave: Características bacteriológicas, carga bacteriológica, concentración inhibitoria mínima, concentración bactericida mínima.

ABSTRACT

The objectives of the study were the determination of the bacterial contamination of honey without sting in the extraction and packaging process, survival time of *E. coli*, as well as the determination of the antibacterial capacity, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of honey against *E. coli*; Four samples of honey were used: mature, immature honey collected by the producer and packaged for storage. In the extraction and packaging process, the lowest average of 800 CFU was obtained in mature honey, while in the others there were higher values; *E. coli* manages to survive up to 32 h of average time, the honey of packaged bee for its storage showed greater bactericidal action of 11.74 mm of diameter in size of inhibition halo, with respect to the MIC it was similar in the mature honey, collected by the producer and packaging for storage had 125 mg / ml, however four times more immature honey is needed to achieve a similar effect. It is concluded that the honey produced by melipónidos presents bacteriological load, this load shows an inhibitory effect on the growth of *E. coli* reason why its potential medicinal use is very promising to safeguard the health of the population.

Key Works: Bacteriological characteristics, bacteriological load, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration

INTRODUCCIÓN

La miel como todo producto de origen animal, tiene una microbiota original propia, constituida por diversas especies de microorganismos, con características específicas⁽¹⁾⁽²⁾, sin embargo, la manipulación antropogénica a la que es sujeta el producto puede atribuirle características bacteriológicas diferentes al producto original, como la determinación de la contaminación bacteriana de la miel en el proceso de extracción y envasado, tiempo de supervivencia de *Escherichia coli*, así como la determinación de la capacidad antibacteriana que posee la miel de abeja⁽³⁾, estas características se agudizan con la presencia de gérmenes patógenos como *E. coli*, la que indicaría la existencia de una contaminación fecal debido a la falta de higiene en la extracción de la miel⁽¹⁾.

Sobre la base de este hallazgo del problema investigado, se estudia la sensibilidad de *E. coli* frente a mieles producidas por abejas meliponas mediante técnicas de evaluación de actividad antibacteriana⁽⁴⁾, como objetivo de estudio para este fin se utiliza *E. coli* drogorresistente, la cual representa una problemática de la salud pública, por ello, muchos investigadores orientan sus actividades tras la búsqueda de alternativas para reemplazar a los antibióticos y lograr combatir estos agentes biológicos⁽⁵⁾, por lo tanto la naturaleza del estudio según Borsotti en tiempo propio del objeto estudiado es de tipo transversal, construyendo de tal manera incorporar su especificidad histórica⁽⁶⁾. En el estudio investigado se formuló la siguiente hipótesis: la característica bacteriológica enfocada en la contaminación bacteriana presente en la miel, va a depender del efecto antibacteriano de la miel frente a *E. coli* drogorresistente.

En la actualidad, la miel de meliponas se utiliza en tratamientos antiinflamatorios, cicatrizantes y antimicrobianos, para ello se consideró que su carga bacteriológica no represente un riesgo sobre heridas, úlceras y abrasiones, por consiguiente, la miel de abeja 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 ⁽¹⁾, ante ello la investigación realizada in vitro han sugerido la efectividad de la miel, frente a bacterias patógenas como *E. coli* ⁽⁷⁾; esta actividad antibacteriana se atribuyó a compuestos específicos presentes en la miel, cuya naturaleza y mecanismo de acción vienen siendo investigados ⁽⁴⁾.

Mediante este estudio se aporta al conocimiento científico las características bacteriológicas de miel producida por la comunidad de abejas sin aguijón donde se obtiene resultados que contribuye a incrementar los conocimientos relacionados con la bacteriología de la miel producida por melipónidos haciendo su notable efecto antimicrobiano pese a la composición de su carga bacteriana, encontrándose pocos ya pocos estudios específicos al respecto en nuestra Amazonía peruana, ante ello este estudio propone desarrollar un enfoque basado en los siguientes objetivos:

Objetivo. general:

- Evaluar las características bacteriológicas de la miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, Perú

Objetivos. específicos:

- Determinar la contaminación bacteriana de la miel en el proceso de extracción y envasado.
- Estimar el tiempo de supervivencia de *Escherichia coli* drogorresistente en miel de abeja.
- Determinar la capacidad antibacteriana de la miel frente a *Escherichia coli* drogorresistente.
- Determinar la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima de la miel sobre *Escherichia coli* drogorresistente

Las aplicaciones de resultados que involucra a los problemas regionales y nacionales inician a partir de los datos de composición de 152 abejas sin aguijón (Meliponini) en muestras de miel, compilados a partir de estudios desde 1964, y se evaluaron para proponer una norma de calidad para este

producto dado que la miel de abejas sin aguijón tiene una composición diferente de *Apis mellifera* ⁽²⁾; debido al escaso conocimiento sobre el producto, la miel de abejas sin aguijón no está incluida en las normas internacionales para el análisis de la miel ⁽⁸⁾ y no está controlada por las autoridades de supervisión de los alimentos, por consiguiente, no existe ninguna garantía para los consumidores de este producto ⁽²⁾; los estándares internacionales de calidad, proponen evaluar la calidad de la miel considerando importante la evaluación de su calidad microbiológica ⁽⁹⁾, de otro lado, se consideró a *Escherichia coli* como un buen indicador de la factibilidad de albergar cepas enterotoxigénicas, heteroinvasivas, enteropatógenas o enterohemorrágicas ⁽⁸⁾.

Existen limitaciones, abarcando en un contexto ambiental que se caracteriza por el cambio climático, la tala indiscriminada de los bosques naturales, la utilización de agroquímicos en los cultivos, la introducción de abejas invasoras y la explotación extractiva de sus productos (principalmente miel y propóleos), existe una clara tendencia a la disminución de las poblaciones y biodiversidad de los melipónidos en nuestro país ⁽¹⁰⁾.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

La miel es una sustancia dulce y madura, producida por las abejas mediante la recolección de néctar, miel de palo u otro fluido dulce de plantas vivas; posteriormente estos pasan por cambios dentro sus cuerpos, siendo estas luego depositadas en celdas de la colmena hasta que maduren, para lo cual este se convierte en un alimento nutritivo que provee energía inmediata al organismo por la presencia de azúcares simples que se asimilan fácilmente, al mismo tiempo posee la propiedad de inhibir el crecimiento de bacterias y favorece la recuperación en algunas afecciones y desequilibrios nutricionales ⁽⁹⁾, Mazariegos indicó que CODEX en 1987 ⁽¹¹⁾ definió que, en el análisis microbiológico, se deben considerar investigar bacterias mesófilas, así como bacterias del grupo coliforme como indicadores de malas prácticas para el manejo de productos como la miel ⁽⁹⁾.

Siendo así, American Public Health Association aplicaron la técnica de recuento en placa para microorganismos aerobios mesófilos y *Escherichia coli*, estos análisis se realizaron siguiendo los protocolos internacionales en análisis para probar la calidad microbiológica de la miel de abeja ⁽¹²⁾; de modo que en la guía de interpretación de resultados microbiológicos de alimentos se indicó que los grupos de microorganismos que se analizaron en miel de abeja son indicadores de calidad en alimentos, teniendo que la presencia de aerobios mesófilos, indica si las condiciones de extracción y comercialización del producto fueron higiénicas y cómo podrían afectar directamente la vida útil del alimento. Se mencionó también, que se encontraron microorganismos fermentadores de azúcar y productores de gas como los coliformes, comúnmente encontrados en el suelo, agua y material vegetal ⁽¹³⁾, sin embargo, la miel de por sí no es un medio estéril, es susceptible de contaminación al manipularse sin observar las normas de higiene, así mismo se menciona que los microorganismos con capacidad de evolucionar en un ambiente tan concentrados como los azúcares presentes en una miel, se

conocen como osmófilos o sacarófilos y que provienen de las flores del medio ambiente de donde provienen o manipulan las mieles, del equipo utilizado en las operaciones de extracción y sobre todo de las condiciones de envasado (14).

Por otro lado, Malinka y colaboradores en el 2009 realizaron un estudio in vitro para observar la actividad antimicrobiana de la miel de abeja natural sobre la resistencia de bacterias, para este estudio utilizaron miel de abeja pura, obteniendo concentraciones de miel de 6.25%, 12.5%, 25% y 50 %, utilizaron 6 tipos diferentes de bacterias: *Estafilococo aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus megatium*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus sp*, siendo inoculadas por el método de difusión de disco la miel de abeja a diferentes concentraciones, se midieron la zona del halo de inhibición en milímetros, donde se obtuvieron la presencia de halo de inhibición en todas las siembras de bacterias a una concentración de la miel del 50% y de la mayoría de bacterias a una concentración del 25% (15).

Existen evaluaciones de actividad antibacteriana de la miel de abeja obtenida de manuka (planta silvestre común en Nueva Zelanda). Este estudio se realizó en 3 voluntarios elegidos al azar, se les dio una cucharada de miel de abeja la cual tenía que contener por 10 minutos en boca, tres veces al día; después de 21 días se observó una reducción de placa bacteriana (48% a 17%; $p=0.001$). Concluyeron que la miel de abeja presenta un gran potencial terapéutico en el tratamiento de gingivitis y enfermedad periodontal, después de haber evaluado el estado gingival de los participantes (16).

Así mismo, en un estudio in vitro evaluaron el efecto antimicrobiano de la miel de abeja en comparación con un antibiótico de uso común para las quemaduras infectadas. También evaluaron el efecto que se producía cuando la miel de abeja se añade a los discos con antibióticos. En el estudio se seleccionaron 30 pacientes con infección por quemaduras, se obtuvieron microorganismos de aquellas quemaduras y se cultivaron en placas de agar sangre. Los microorganismos aislados fueron inoculados en agar Mueller Hinton. Cada placa de agar se dividió con un marcador en dos mitades, en una mitad se sembró el disco con antibiótico y en la otra mitad el disco inmerso en miel. En conclusión, la miel mostró más efecto inhibitorio (85,7%) en

bacterias gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp*) que los antibióticos de uso común ⁽¹⁷⁾.

Frente determinaciones microbiológicas que incluía recuento aeróbico total, recuento de coliformes totales y fecales, en los resultados obtenidos se concluyó que todas las muestras de miel analizadas se encuentran entre los límites establecidos por las normas referidas utilizando como referencia las normas CODEX STAN 12-1981 y la norma microbiológica europea para el control de miel de abeja para abejas del género *Apis* ⁽⁹⁾.

En la determinación de los componentes químicos y el efecto antibacteriano de la miel de abeja frente a bacterias gram positivas y gram negativa quienes son comúnmente causante de enfermedades prevalentes en la población, se empleó el método de difusión de discos, como resultado obtuvieron la sensibilidad bacteriana de todos los microorganismos estudiados, concluyendo que la miel de abeja produce efecto antibacteriano debido a enzimas presentes en sus componentes ⁽¹⁸⁾ de ese mismo modo se evaluaron la actividad antimicrobiana de nueve mieles venezolanas, en el estudio utilizaron cepas ATCC de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, estas mieles se utilizaron concentradas y diluidas (1:2; 1:4; 1:8) donde se observó la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* en todas las mieles utilizadas sin diluir y diluido al 1:2, mientras que no se observó inhibición del crecimiento de las cepas de *Escherichia coli* a ninguna concentración ⁽¹⁹⁾.

Respecto a las muestras obtenidas para determinaciones microbiológicas, estas fueron remitidas al laboratorio en envases plásticos estériles de 100 ml con cierre hermético, conservándose las muestras a temperatura de refrigeración, dentro de los análisis microbiológicos realizados fueron la determinación de recuento total de bacterias aeróbicas (Agar PCA, 37 °C 24-48 h) y determinación de coliformes totales (Agar CVRNB, 37 °C 24-48 h) ⁽²⁰⁾.

De otro lado se conoce que existen dos grandes grupos de abejas productoras de miel, aquellas con aguijón 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. Al comparar la miel de los melipónidos con la miel producida por *Apis mellifera* (abeja con aguijón), se encontró que ésta tiende a ser más líquida, más ácida y su composición no es idéntica, lo cual puede marcar una diferencia en el efecto que puedan presentar sobre los microorganismos. Al respecto, 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, incluyendo la fuente del néctar, el área geográfica y el mismo procesamiento de la miel ⁽⁵⁾.

En otros estudios, se mostraron que la miel de abejas sin aguijón posee un efecto inhibitorio de bacterias. Las abejas meliponas y melíferas tienen similar efecto inhibitorio contra *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* y *Pseudomonas aeruginosa*. La miel de abejas sin aguijón contiene una mayor capacidad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*, en comparación con la miel de abejas con aguijón. La mayoría de estos microorganismos son considerados como los principales patógenos transmitidos por los alimentos ⁽⁵⁾.

Finalmente es importante mencionar la presencia de *E. coli* en dos muestras de miel de Angelita (melipona) lo que indica potencial contaminación fecal; no se encontró *S. aureus*, ni *Salmonella sp* ⁽²¹⁾.

1.2 Bases Teóricas

a) Comunidad de abejas sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini)

Las abejas sin aguijón, son abundantes en bosques húmedos tropicales e importantes polinizadores. Las abejas por su gran importancia polinizador de los angiospermas en muchas áreas del mundo constituyen el grupo más diverso de los visitantes florales ⁽²²⁾. El desarrollo y mantenimiento de los bosques, así como de los cultivos agrícolas, dependen de los polinizadores y su diversidad; más de 20.000 especies de abejas que hay en el mundo, tan solo el 5% son sociales. Las abejas sociales, están representadas

principalmente por las “abejas sin aguijón”, pertenecientes a la subfamilia Meliponinae ⁽²³⁾.

Los melipónidos son altamente sociales (eusociales), conformando colonias de cientos a miles de individuos ⁽²³⁾. Son grupos dominantes en los bosques húmedos tropicales de tierras bajas ⁽²⁴⁾. Sin embargo, se han visto afectados por acción del hombre al destruir su hábitat natural ⁽²⁵⁻²⁷⁾.

Los melipónidos son abundantes y ampliamente distribuidos en diferentes ecosistemas (desde bosques hasta zonas con alta perturbación), sus nidos son fácilmente encontrados y la taxonomía de las especies, es relativamente bien conocida. Las abejas sin aguijón son uno de los componentes de mayor biomasa de la comunidad de insectos forrajeros de néctar y polen en muchas áreas tropicales ⁽²⁸⁾.

b) Composición de especies de melipónidos

Como característica estructural de una comunidad, se refiere a la taxa que conforman una comunidad, sean las familias, los géneros o las especies ⁽²⁹⁾, en las abejas se han observado diferencias en la composición de especies de acuerdo con la variación del medio en que se encuentren, por estar directamente relacionado con el comportamiento de forrajeo que desarrolla cada especie para obtener los recursos alimenticios y sitios de nidación, esto depende de las características del ambiente como la distribución y abundancia de diferentes tipos de recurso, adicionales a las características específicamente florales ⁽²²⁾.

c) Algunos aspectos de la sistemática, origen y distribución de la tribu Meliponini

Según Michener en el 2000 ⁽²³⁾, la sistemática de las abejas sin aguijón es la siguiente:

Orden: Hymenoptera; Suborden: Apócrida; Orden: Aculeata; Superfamilia: Apoidea; Familia: Apidae; Subfamilia: meliponinae, Tribu: Meliponini y Trigonini.

El número de géneros reconocidos en esta tribu es variable. Michener en el 2000 ⁽²³⁾, Griwold y colaboradores en el 1995 ⁽³⁰⁾ y Nates-Parra en 1996) ⁽³¹⁾ reconocen 21 géneros. En cuanto a las especies, según Roubik y reportes en 1997 ⁽³²⁾, existen en el neotropico alrededor de 500 descritas. Camargo y Pedro en 1992 ⁽³³⁾, presentan una revisión de la sistemática, filogenia y la distribución geográfica de los melipónidos.

Los melipónidos son abejas sociales que viven en colonias perennes, encontradas típicamente en regiones tropicales y subtropicales del mundo, desde los 30° longitud norte hasta los 30° longitud sur ⁽²³⁾. En América se extienden desde México hasta el sur del Brasil y norte de Argentina ⁽³⁴⁾. Son grupos dominantes en los bosques húmedos tropicales de tierras bajas, donde se pueden encontrar en densidades de hasta 600 colonias por kilómetro cuadrado ^(30, 32) posee géneros endémicos en el trópico oriental, África, IndoAustralia y regiones americanas, principalmente Sur América y centro América desde el nivel del mar hasta los bosques de niebla ⁽³²⁾.

d) Aspectos biológicos de los meliponinos

Las abejas sin aguijón nidifican casi en cualquier cavidad que encuentren disponible, desde agujeros en árboles, pisos o paredes, incluyendo tumbas de cementerios ⁽³¹⁾ hasta nidos abandonados de cerambicidos o nidos vivos de nasutítemes (termitas) ⁽²³⁾ y hormigas ⁽³⁵⁾. Acondicionan a estos sitios a sus necesidades, también son capaces de hacer nidos completamente subterráneos, hasta cuatro metros bajo tierra o completamente expuestos, en pendientes de ramas de árboles o sobre paredes de edificaciones. Las celdas de cría son cilíndricas y generalmente están agrupadas formando panales, dispuestos uno sobre otro, los panales están separados por pequeñas columnas de cerumen, dejando espacio suficiente para la circulación de las abejas; la zona de cría está protegida por capas delgadas de cera (involucro); el alimento es almacenado en potes de cerumen ubicados alrededor de la región de cría ⁽³⁶⁾.

La forma de la entrada varía mucho de una especie a otra y es útil en la orientación de las abejas y defensa del nido, después de la entrada, hay un pasadizo, generalmente construido de propóleo, que finaliza en los potes de

almacenamiento, a lado de la entrada y en muchas otras situaciones se encuentran los depósitos de resina, frecuentemente usados por las abejas ⁽²³⁾. Aunque los melipónidos no poseen aguijón, ellos protegen sus nidos muy eficazmente. El mecanismo más común de defensa es el hábito de pegarse al pelo y piel de los invasores, mordiendo con las mandíbulas, aplicando las resinas, e intentando entrar en la nariz, ojos y orejas. Algunas especies solo encolan la resina en el intruso y otros vuelan alrededor y debes en cuando muerden con sus mandíbulas ⁽²³⁾.

El tamaño de las abejas sin aguijón va desde 1.8mm hasta 1.5cm ⁽²³⁾ el tamaño de las colonias también varía; algunas especies presentan colonias con unos cientos de individuos y otros hasta con 180.00 ⁽³⁶⁾.

e) Potencial y estado actual de los melipónidos

Las colonias de varias especies de abejas sin aguijón han sido domesticadas en América Latina desde tiempos precolombinos y actualmente se cultivan (meliponicultura) con mayor intensidad en México y en Brasil ⁽³¹⁾.

También poseen muchas características que realzan su importancia como polinizadores y eventualmente para su utilización en programas forestales; sus características sociales (perennes, constancia floral, capacidad de reclutamiento, fácil manejo, etc.), se ajustan para ser polinizadores ⁽³⁶⁾ sin embargo, una limitante para su dispersión, es la falta de disponibilidad de gran número de colonias y de conocimiento sobre la necesidad de polinización y de cuáles son los polinizadores más importantes de los cultivos tropicales ⁽³⁷⁾.

f) Características sensoriales de la miel de abeja

Las características sensoriales de la miel, como el color, aroma, sabor y consistencia, se asocian con su origen geográfico y botánico. El color es una característica de importancia comercial, ya que, en general, son muy apreciadas las mieles claras. Sin embargo, el tiempo y la exposición a altas temperaturas la oscurecen. Su olor y sabor característicos pueden ser afectados por calentamiento a altas temperaturas ⁽¹⁰⁾. La consistencia de la miel puede ser líquida o cristalina; la mayoría de las mieles cristalizan con el

tiempo, y la velocidad de cristalización se ve favorecida ante una mayor proporción de glucosa en su composición ⁽³⁸⁾.

g) Descripción de características bacteriológicas de la miel de abeja

La miel de abeja es un alimento reconocido por sus beneficios nutricionales y medicinales atribuyendo a sus características bacteriológicas, siendo estos trabajos de escaso estudio en la línea de investigación ⁽³⁹⁾, dentro de estos estudios, la determinación de la contaminación bacteriana en mieles producidas por abejas, definen que pueden ser controlados mediante el empleo de buenas prácticas de manufactura, siendo los análisis microbiológicos que nos permiten detectar problemas de manejo y proponer mejoras en la cosecha y la pos cosecha de miel ⁽⁴⁰⁾, en términos sanitarios la miel pueda ser considerada como un alimento seguro, puede verse alterada debido a manipulaciones poco higiénicas durante la extracción, procesado, envasado o conservación ⁽⁴¹⁾, por otro lado, la supervivencia de contaminantes biológicos puede verse inhibido, debido a su capacidad antimicrobial que posee la miel ⁽¹⁴⁾, esta acción representa un importante factor antibacterial⁽⁴²⁻⁴⁴⁾, así mismo existen estudios que han encontrado que la principal actividad antimicrobiana se debe a la presencia de peróxido de hidrógeno producido por la enzima glucosa-oxidasa ⁽⁴⁴⁾; es por ello que es importante el enfoque de la capacidad mínima inhibitoria y bactericida referida a la inhibición de un amplio rango de bacterias Gram positivas y Gram negativas ⁽⁷⁾.

La creciente aparición de cepas bacterianas resistentes contra los antibióticos ha motivado que se analice nuevamente el uso de tratamientos alternativos, debido a que existen dos grandes grupos de abejas productoras de miel, las con aguijón (*Apis mellifera*) y las sin aguijón (Meliponini) donde la composición de estas mieles no es idéntica, lo cual puede marcar una diferencia en el efecto que puedan presentar sobre diferentes microorganismos ⁽⁵⁾.

Respecto a la determinación de la contaminación bacteriana de la miel en el proceso de extracción y envasado. Existen descripciones que indican que, a diferencia de la limpieza, la higiene se logra a través del cumplimiento

de las medidas necesarias para garantizar la inocuidad y salubridad de la miel. La presencia de microorganismos en la miel sugiere una falta general de higiene y saneamiento en la manipulación del alimento, en el proceso de extracción, envasado y/o almacenamiento ^(38, 45), estas medidas hacen referencias al grupo de abejas del género *Apis*, tomando como referencia para estudio de meliponas, debido a que son pocos los estudios que se han realizado con base científica ya que no existe una norma para la miel de los melipónidos ⁽⁴⁶⁾.

Las mieles presentan una microbiota propia con un comportamiento microbiológico característico en la que está constituido por microorganismos propios y en segunda instancia a los microorganismos secundarios ocasionales o accidentales, durante la extracción y envasado las fuentes de esta contaminación residen en la manipulación incorrecta de la miel, el uso de material con deficientes procedimientos de desinfección, incidencia del viento, presencia de insectos y permanencia de animales de compañía, además de microorganismos existentes de diferentes géneros, pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae y algunos otros patógenos de las abejas ⁽⁴⁰⁾. La presencia de enterobacterias en ciertos tipos de miel es indicio de una contaminación fecal, los miembros de la familia enterobacteriaceae son fermentadores evolucionando en un ambiente concentrados de azúcares siendo conocidos como osmófilos o sacarófilos, provenientes de compuestos florales, del medio ambiente, lugares de manipulación de mieles como del equipo de las operaciones de extracción y condiciones de envasado ⁽³⁸⁾.

En cuanto a la estimación del tiempo de supervivencia de *Escherichia coli* en miel de abeja. No se encontraron estudios respecto a la estimación de supervivencia de *Escherichia coli* en mieles, sin embargo, existen estudios que se utilizaron en frutos de tomate bola, pepino de mesa, melón y mango, maduros y libres de daños, obtenidos de un supermercado. El análisis de sobrevivencia se realizó en intervalos de tiempo de 0, 0,5; 1; 3; 24; 48; 72 y 96 h después de la inoculación bacteriana ⁽⁴⁸⁾. Una gran cantidad de humedad también se ha asociado a la persistencia de gérmenes como *E. coli*, otra sería una gran cantidad de inóculo de las bacterias lo que promueve que estas puedan sobrevivir más tiempo, así como también la presencia de proteína,

esputo o suero, en estas superficies inanimadas lograron sobrevivir de 1.5 horas a 16 meses ⁽⁴⁸⁾. Es por ello que en la presente investigación se tomó como referencia la estimación de supervivencia en miel de abeja de melipónidos como aporte a una base de información.

En la determinación de la capacidad antibacteriana de la miel frente a *Escherichia coli*. Los resultados obtenidos a partir de la actividad antibacteriana de la miel de abeja sin aguijón contra diferentes microorganismos demuestran que todas las mieles exhiben algún efecto inhibitorio sobre *E.coli*, tanto de forma pura como diluida esto pone de manifiesto que la actividad antimicrobiana de este producto se debe no sólo a sus propiedades físico-químicas, sino también a otros factores incluyendo la actividad de la lisozima, la presencia de ácidos aromáticos y volátiles, así como a la producción de peróxido de hidrógeno asociada con la enzima glucosa oxidasa ⁽⁵⁾, así mismo, se utilizó el método de difusión en agar en placa donde se observó la presencia de halos de inhibición del crecimiento de *E. coli* para todas las mieles. Los valores de los halos fueron superiores a 20 mm de diámetro, reflejarían que *E. coli* sería extremadamente sensible a las soluciones de miel, esta sensibilidad se determinó por métodos en caldo Mueller-Hinton y de difusión en placa, mostrando valores de inhibición concordantes ⁽⁴⁾, por otro lado, las mieles de nueve especies de melipónidos fueron evaluadas presentando actividad antibacteriana a concentraciones de 2,5-10% (v/v) considerándolos como más efectivos que los reportados en análisis efectuados con la miel de *A. mellifera* ^(40, 50).

En relación a determinación la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima de la miel sobre *Escherichia coli*. Estudios recientes en mieles de meliponas reportan que la actividad antimicrobiana es mayor que la de Apis ⁽⁵¹⁾, se ha reportado que la CIM promedio de la miel de cada especie de melipona inhibe el 100% del crecimiento de cada microorganismo empleado, correspondiendo a su efecto bactericida ⁽⁵²⁾, así mismo, mieles argentinas y paraguayas mostraron actividad antibacteriana contra *E. coli* (50 g/100 ml) ⁽⁵³⁾, también se evaluaron otras muestras de mieles contra microorganismos, presentando actividad

antibacteriana al 10% ⁽⁵⁴⁾. Los resultados obtenidos permiten concluir que la miel de abejas sin aguijón muestra un adecuado efecto inhibitorio sobre el crecimiento de microorganismos; por lo que su potencial uso a nivel hospitalario es muy prometedor ⁽⁵⁾.

1.3 Definición de términos básicos

Características, este término puede designar diversos conceptos, que siempre se refieren al carácter propio o específico de algo, siendo esta uno de los valores o cualidades que definen intrínsecamente cada sujeto ⁽⁵⁵⁾.

La miel, es una solución concentrada de azúcares con predominancia de glucosa y fructosa. Contiene además una mezcla compleja de otros hidratos de carbono, enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, sustancias aromáticas, pigmentos, cera y granos de polen. ⁽²⁰⁾. Sustancia producida por abejas 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 ⁽⁵⁾.

Característica bacteriológica de la miel, carácter propio y específico de la miel donde estas características están determinadas por su valor nutricional y sus propiedades medicinales frente a bacterias presentes en ella ⁽⁵⁶⁾.

Abejas sin aguijón, especies de abejas perteneciente a la subfamilia meliponinae que viven en colonias perennes, encontradas típicamente en regiones tropicales y subtropicales del mundo ⁽²³⁾

***Escherichia coli* drogorresistente**, se trata del aislamiento de cepas de *E. coli* resistentes a los antibióticos, la resistencia de esta bacteria a los antimicrobianos es elevada, y se considera que en ello no ha influido notablemente el efecto de los antibióticos ^(57, 58).

Las bacterias aerobias mesófilas, proporcionan información acerca del número de bacterias viables, por lo que representan un recurso valioso adicional para determinar el grado de exposición de los alimentos a la contaminación por microorganismos. El recuento de estos organismos representa un respaldo al significado atribuido a los resultados de los análisis de los coliformes, indicando la posible presencia de microorganismos patógenos. La cuantificación de este grupo microbiano permite estimar de forma general la carga microbiana presente en una muestra, si bien no aporta datos concretos sobre el tipo de especies predominantes. No obstante, su conocimiento siempre es interesante, ya que su valor es reflejo de la calidad sanitaria y, adicionalmente, suele proporcionar información con respecto a la existencia de prácticas incorrectas, tales como vertidos o manipulación inadecuada. ⁽⁵⁹⁾.

CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS

2.1 Variables y su operacionalización

Las características bacteriológicas enfocadas en el estudio de la contaminación bacteriana y el efecto antibacteriano en la miel de abeja:

Variable	Indicador	Índices
Independiente:		
Efecto antibacteriano de la miel	Tiempo de supervivencia de <i>Escherichia coli</i> drogorresistente en miel de abeja.	Horas- h: 1- Ausente (0) 2- Escaso (1-24) 3- Moderado (25-48) 4- alto (49-72)
	Capacidad antibacteriana de la miel frente a <i>Escherichia coli</i> drogorresistente.	Milímetros-mm: 1- Presente (si) 2- ausente (no)
	Concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima de la miel sobre <i>Escherichia coli</i> drogorresistente.	Miligramo por litro- mg/ml: 1- baja (0.49-1.95) 2- media (3.91- 15.63) 3- alta (31.25-250)
Dependiente:		
Contaminación bacteriana	Carga bacteriana presentes en la miel de abeja.	Unidades formadoras de colonias-UFC: 1- Abundante (10^5 - 10^6) 2- Moderado (10^3 - 10^4) 3- Escaso (10 - 10^2) 4- Ausente (0)

Observación: (*) sugerencia establecida por el investigador, a partir de procedimientos aplicados en la investigación.

2.2 Formulación de hipótesis

2.2.1 Hipótesis general

La característica bacteriológica enfocada en la contaminación bacteriana presente en la miel, va a depender del efecto antibacteriano de la miel frente a *E. coli* drogorresistente.

2.2.2 Hipótesis específicas

- El tiempo de supervivencia de *Escherichia coli* en miel de abeja es moderado por la drogorresistencia del patógeno.
- La capacidad antibacteriana de la miel frente a *Escherichia coli* drogorresistente está presente por la formación de halos en el medio de cultivo inoculado.
- Concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima de la miel sobre *Escherichia coli* drogorresistente es alto por la capacidad osmofílica presente en el producto alimenticio.
- Carga bacteriana presentes en la miel de abeja es moderado - abundante por el número de colonias contenidas en el producto alimenticio.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de investigación

La naturaleza de estudio es de tipo transversal ⁽⁶⁾, el diseño de la investigación es experimental (anexo 01), siendo el método más confiable para el recojo de información a partir de un plan o estrategia para responder a las preguntas de investigación, señalando al investigador lo que debe hacer para alcanzar los objetivos de estudio ⁽⁶²⁾.

3.2 Población y muestra

a) Descripción de la población: Miel existente en las 30 colmenas en las cuencas de los ríos Ucayali y Nanay

b) Ubicación geográfica y muestra del estudio: El área de estudio está ubicado en dos cuencas hidrográficas pertenecientes al río Nanay y río Ucayali de la región de Loreto, la colecta del material biológico se realizó en dos comunidades por cuenca respectivamente, dos de las comunidades están ubicadas en el distrito de Iquitos, provincia de Maynas de la región Loreto, en zonas de tierra firme de la cuenca del río Nanay, siendo Santa Rita (lat. S - 3.730106°, Long. W -73.323632°) y San Pedro (lat. -3.752891, Long. - 73.336478) a una hora de la ciudad de Iquitos. En la cuenca del río Ucayali, se ubican dos las comunidades restantes siendo Bagazán y Chingana, pertenecientes al Distrito de Sapuena, Provincia de Requena de la región Loreto dentro del área de Amortiguamiento de la Reserva Nacional Pacaya-Samiria y del Área de Conservación Regional Tamshiyacu-Tahuayo de la Amazonía peruana; la comunidad de Bagazán (lat. S-4.725577°, Long. W - 73.533864°) está ubicada en zonas de tierra firme; en tanto que la comunidad de Chingana (lat. S -4.7159494, Long. W -73.53902977000) se encuentra ubicada en zona inundable (Anexo 02).

Las muestras de estudio son: cuatro muestras colectas de una colmena siendo estas: miel madura, miel inmadura, colectada por el apicultor y envasado para su almacenamiento. Las dos especies de abejas meliponas identificadas procedieron de la cuenca del Ucayali y Nanay.

c) Criterios de selección: Se realizó de forma aleatoria previa ubicación de la miel en paneles, seguidamente se tomaron las cantidades suficientes de miel para su análisis bacteriológicos (Anexo 01), para lo cual se empleó una jeringa descartable estéril, acondicionando las muestras en una caja de tecnopor con hielo ⁽²⁰⁾, siendo transportadas al laboratorio de microbiología del CIRNA (Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la Amazonia) para la evaluación de los análisis de análisis bacteriológicos.

d) Tamaño muestral: Miel existente en 30 colmenas en las cuencas de los ríos Ucayali y Nanay

e) Procedimiento de muestreo: Se consideraron cuatro muestras colectadas por colmena siendo: miel madura, miel inmadura, colectada por el productor y envasado para su almacenamiento, de las cuales dos primeras muestras se colectaron haciendo de uso directo una jeringa estéril previa a la desinfección del opérculo de porongos que contuvieron miel, para la muestra de miel colectada por el productor, se realizó la colecta de forma artesanal por los mismo meliponicultores, después de ello el productor empleó un recipiente, donde precedieron a envasarlo para su almacenamiento, de ello se tomaron 4800 ml del total de 30 colmenas, constituyendo cuatro muestra de mieles que se requirió para el análisis por colmena de especie de abeja (Anexo 01)

3.3 Técnicas e instrumentos

Respecto a la recolección de datos para la técnica de recuento de colonias bacterianas se confió a partir de la norma sanitaria que establece Minsa-Digesa en el 2008 ⁽⁶³⁾, la técnica de la aplicación del tiempo de supervivencia fue aplicada por Castañeda *et al.* 2014 ⁽⁴⁸⁾, en la determinación de la capacidad antibacteriana esta técnica fue orientada por Zamora *et al.* 2011⁽⁵⁾,

seguidamente la aplicación de la técnica de determinación de la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima fue validada por Malbrán. 2012 ⁽⁶⁴⁾.

3.4 Procedimientos de recolección de datos

3.4.1 Identificación de las especies de abejas meliponas productoras de miel.

La identificación de las abejas meliponas se realizó por del especialista entomólogo M.Sc. César Delgado Vásquez, en el proceso durante el cual se identificó cada una de las especies a las que pertenecen las abejas, utilizando claves taxonómicas para meliponídeos de Michener de 1990 y Roubick de 1992, descripciones de meliponas de Moure del año 1951. Comparándose con la colección de abejas nativas del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana– IIAP, las que fueron determinadas por Claus Rasmussen, especialista en abejas nativas de la Universidad de Dinamarca, determinado dos especies de abejas nativas, siendo: *Melipona eburnea* y *Melipona grandis* (Anexo 03).

3.4.2 Toma de muestra en campo para pruebas antibacterianas en laboratorio

Se llevó a cabo en forma aleatoria previa ubicación de la miel en paneles, tomándose de un mismo lote y en cantidades suficientes para cada análisis, se consideró cuatro muestras colectas por 30 colmenas siendo estas: miel madura, miel inmadura, colectada por el productor y envasado para su almacenamiento; por consiguiente las dos primeras muestras se colectaron de forma aséptica, haciendo de uso directo una jeringa descartable estéril previa a la desinfección del opérculo de porongos que contuvo miel; para la muestra de miel que fue colectada por el productor, no se tuvo esas consideraciones, se dejó realizar la colecta artesanal por los meliponicultores, después de ello el productor hizo uso de un recipiente donde se precedió a envasarlo para su almacenamiento a la venta, de ello se tomó la muestra para

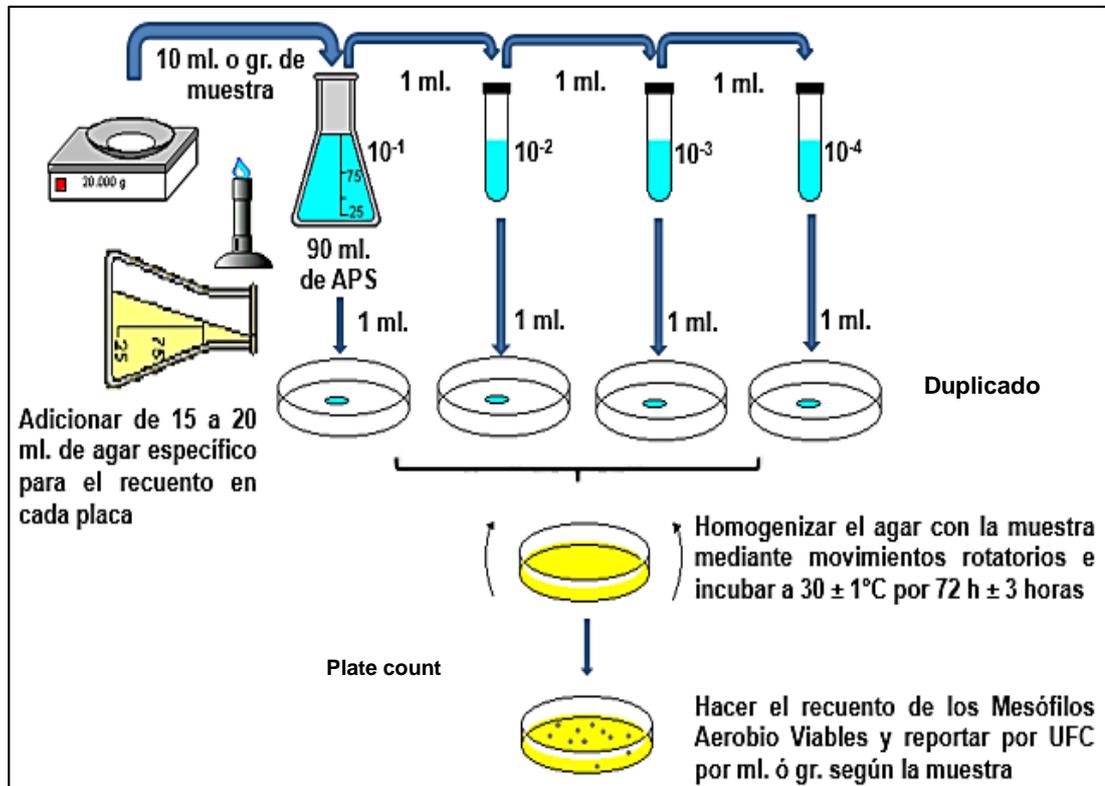
el análisis (Anexo 04) posteriormente las muestras se acondicionaron en una caja de Tecnopor con hielo ⁽²⁰⁾, para ser transportadas al laboratorio de microbiología del CIRNA (Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la Amazonia) donde se desarrollaron los procedimientos bacteriológicos (Anexo 05).

3.4.3 Empleo de cepas de *Escherichia coli* drogorresistente para pruebas antibacterianas

Se utilizó cepas drogorresistentes proporcionadas por el laboratorio de microbiología del Centro de Investigaciones de Recursos Naturales- CIRNA de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana- UNAP. El aislamiento de *E. coli* fue realizado a partir de los teclados y ratones de computadoras del Hospital Iquitos “César Garayar García”; así mismo la identificación de las cepas bacterianas fue realizado mediante técnicas y procedimientos estandarizados mediante caracterización microscópica (tinción gram) (Anexo 06) y pruebas bioquímicas de Prueba: oxidasa (-), utilización de azúcares (+), Indol (+), citrato (-) ácidos-RM (+) ⁽⁶¹⁾ (Anexo 07).

3.4.4 Determinación de la contaminación bacteriana de la miel en el proceso de extracción y envasado

Ilustración 01: Técnica de recuento de colonia de Mesófilos Aerobio Viables



La primera etapa (Ilustración 01) estuvo orientada a determinar la contaminación bacteriana de la miel utilizando la técnica de recuento de colonias bacterianas⁽⁶¹⁾, que consistió realizando diluciones decimales, para ello se utilizó una pipeta estéril conteniendo 10 ml de miel de abeja por muestra empleada, la pipeta fue utilizada para la transferencia de similar volumen de muestra en 90 ml de Agua Peptonada Alcalina (APA); se repitió el procedimiento para cuatro diluciones decimales como fue necesario, tomando 1 ml de la dilución anterior para 9 ml de APA, habiendo mezclado las diluciones utilizando un vortex durante 5 a 10 segundos; luego se inoculó asepticamente 1 ml de cada dilución en dos placa petri estéril, en pleno cumplimiento con la Norma ISO 4833:2003, posterior a ello se licuó el agar Plate Count dejando en baño María a una temperatura de 46°C, de este contenido se añadió 20 ml del agar templado a cada placa de Petri siendo un

total de ocho placas empleadas ya que se hizo cuatro diluciones por muestra, una vez contenida la solución de cada dilución en el agar empleado se mezcló con cuidado haciendo girar las agujas del reloj seis veces, seis veces de izquierda a derecha, seis veces hacia la izquierda y seis veces arriba y abajo hasta su solidificación.

Para el periodo de incubación de Bacterias Aerobias Mesófilas Viabiles (B.A.M.V). Se procedieron a invertir las placas de Petri contenido de agar Plate Count inoculado con cada dilución y se trasladaron a una incubadora a 30 ± 1 °C durante 72 horas \pm 3 horas. Finalmente, para el recuento de colonias, se contó todas las placas que contienen entre 30 a 300 colonias. Se mantuvo las placas que no contenían más de 300 colonias en dos diluciones consecutivas.

Observación: Esta técnica fue empleada a las cuatro muestras colectadas a partir de 30 colmenas

Cálculo

$$\text{El Número de Microorganismos es} = \frac{\Sigma C}{(n_1 + 0.1n_2) d}$$

ΣC = Sumatoria de las colonias contadas

n_1 = Número de placas contadas de la 1° dilución seleccionada.

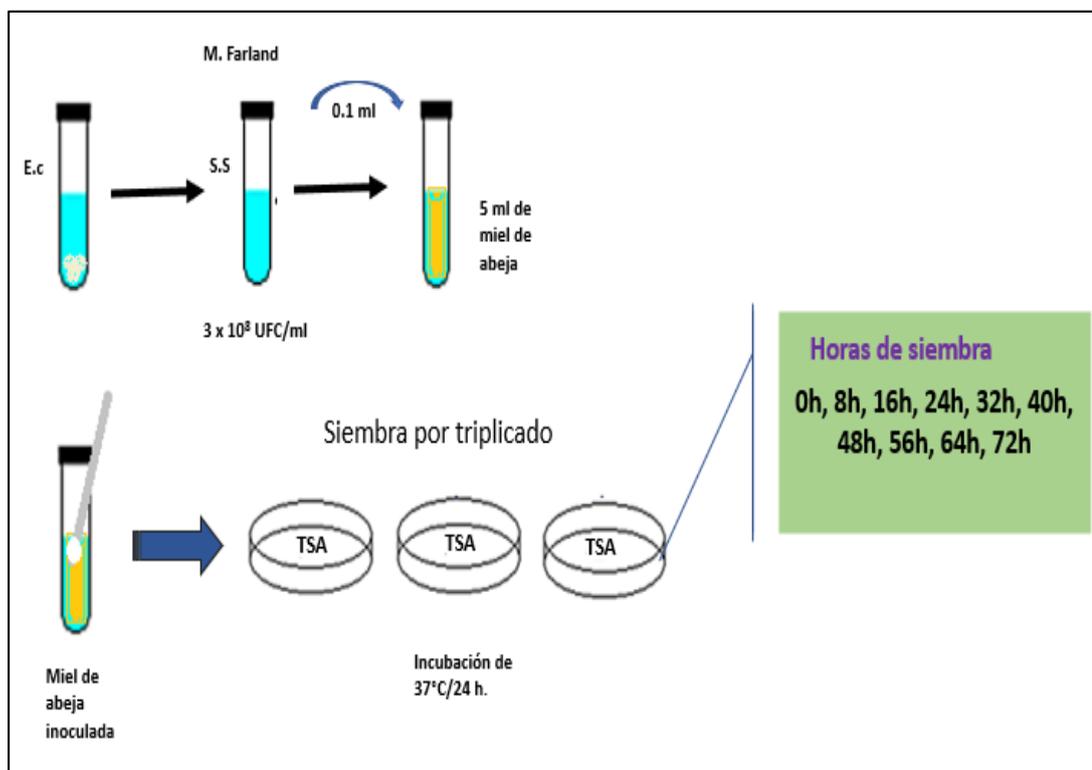
n_2 = Número de placas contadas de la 2° dilución seleccionada.

d = Factor de dilución correspondiente a la 1° dilución leída.

Se redondeó el resultado calculado con dos cifras significativas. Los resultados fueron expresados como un número entre 1.0 y 9.9 inclusive multiplicado por 10^x , donde x es la potencia de 10

3.4.5 Análisis de tiempo de supervivencia de *Escherichia coli* drogorresistente en miel de abeja.

Ilustración 02: Tiempo de supervivencia de *E. coli* drogorresistente en la miel de abeja.

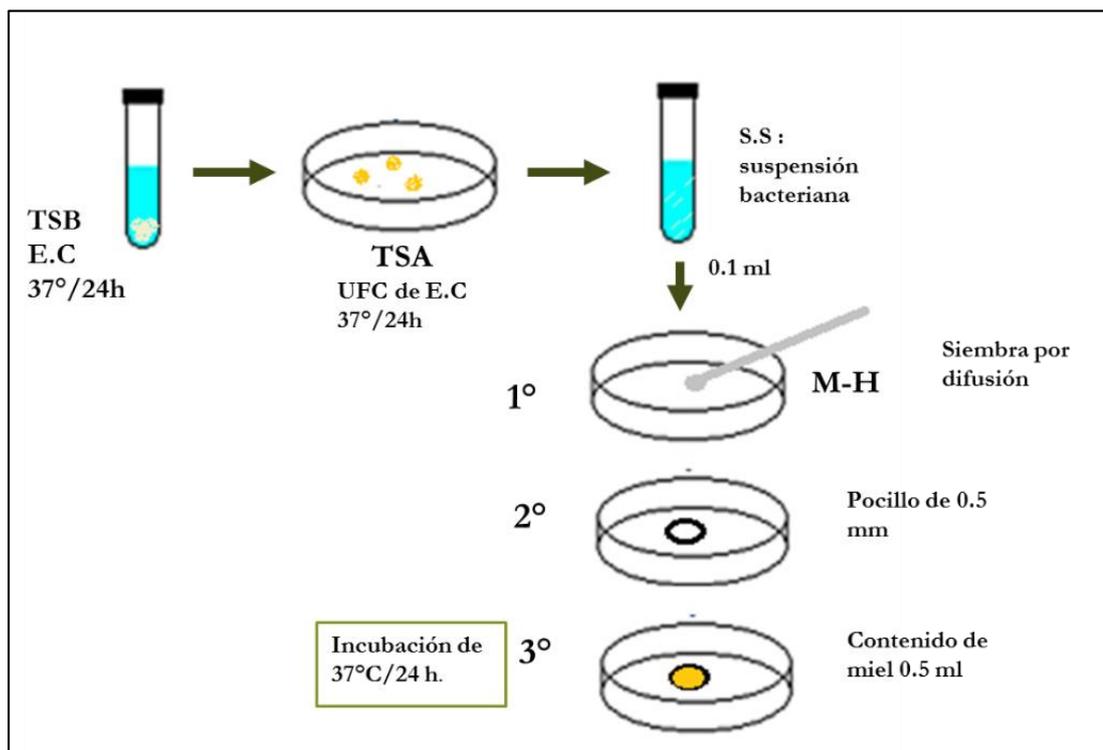


Se preparó suspensiones bacterianas (Ilustración 02) utilizando cinco cepas de *Escherichia coli* drogorresistente, equivalente al tubo N° 1 del nefelómetro de Mac Farland (aproximadamente 3×10^8 células/ml), en suero fisiológico estéril. 0.1 ml, de las cinco suspensiones por cada una de ellas se sembró un tubo conteniendo 5 ml de miel de abeja (miel de abeja inoculada), correspondiendo en total de las cinco cepas empleadas cinco suspensiones diferentes y por cada suspensión se utilizaron las cuatro muestras de miel colectadas por colmena (miel madura, miel inmadura, colectada por el meliponicultor y envasadas para su almacenamiento), constituyendo un total de 20 unidades de muestras conteniendo cada una 5ml de miel, utilizando un total de 100 ml de miel de abeja colectadas a partir de una sola colmena aplicado en 30 colmenas respectivamente.

Para determinar el tiempo de supervivencia de *Escherichia coli* en las muestras de miel de abeja y asegurar el resultado se trabajó por triplicado, empleando tres placas petri por cepa, es decir, se empleó 15 placas petri, de modo que de cada tubo con miel de abeja inoculada empleando hisopos estériles, se tomaron muestras a las 0, 8, 16, 24, 32,40 ,48 ,56 ,64 y 72 h, las cuales fueron sembradas en placas con agar soya tripticasa. Estas fueron incubadas a 37°C durante 24 h. Transcurrido dicho periodo se registraron los resultados en base a la presencia (crecimiento) o ausencia (no crecimiento) de colonias.

3.4.6 Determinación de la capacidad antibacteriana de la miel frente a *Escherichia coli* drogorresistente

Ilustración 03: Capacidad antibacteriana de la miel de abeja



Para la determinación de la capacidad antibacteriana (Ilustración 03) se empleó el método de difusión en agar muller-hinton, según kirby-Bauer, modificado, el criterio utilizado para esta determinación fue la presencia o ausencia de halos de inhibición, para lo cual, se empleó cinco cepas de

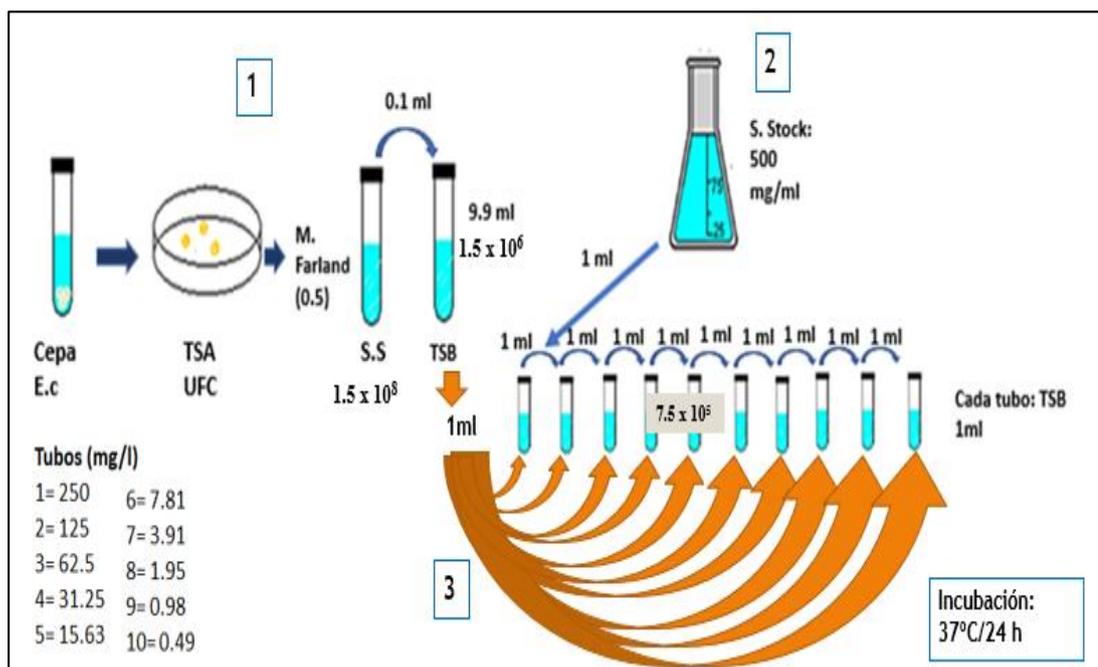
Escherichia coli procediendo a sembrarlos en caldo soya tripticasa e incubando a 37 °C durante 24 h, así mismo se prepararon placas petri con 20 ml de agar muller-Hinton. Luego con la ayuda del hisopo estéril se diseminó en la superficie de placas con agar Mueller-Hinton, para lo cual se colocó 0.1 ml del cultivo, seguidamente empleando un sacabocado estéril, se hicieron pocillos en el medio de cultivo en los cuales se colocaron 0.5 ml de la miel de abeja (por muestra). Sin ser invertidas, las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 h. después de dicho periodo se observaron halos de inhibición alrededor de los pocillos.

3.4.7 Determinación de la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima de la miel de abeja, frente a *Escherichia coli*

Estas técnicas se aplicaron debido a la presencia de actividad antimicrobiana de la miel de abeja frente a *E. coli* formados por halos de inhibición.

a) Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

Ilustración 04: Concentración inhibitoria mínima de la miel de abeja



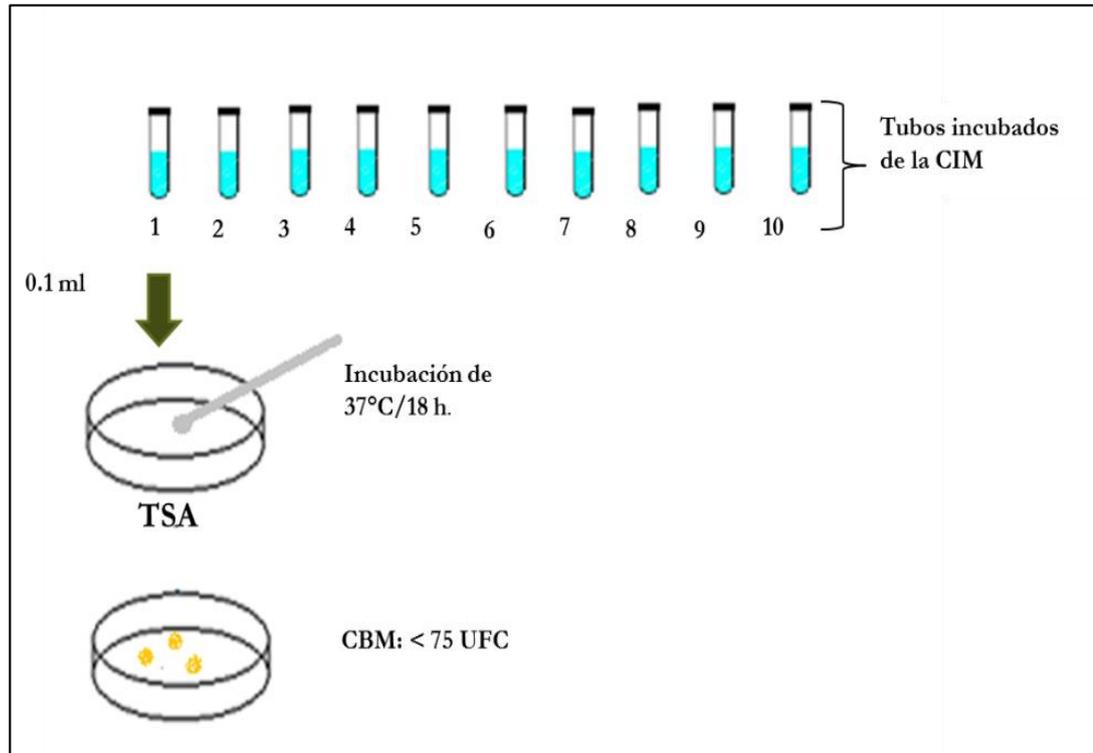
Para la CIM (Ilustración 04) se empleó el método de macrodilución en caldo, para lo cual se prepararon cultivos de 18 h de la cepa de *E. coli* (cinco cepas por muestra en una colmena), en agar tripticasa de soya, seguidamente se preparó una suspensión bacteriana en solución salina estéril a una turbidez equivalente al estándar 0.5 de la escala de McFarland (aproximadamente 1.5×10^8 Células/ml), a continuación, se realizó una dilución al 1/100 (aproximadamente 1.5×10^6 UFC/ml) transfiriendo 100 μ L (0.1 ml) de la suspensión bacteriana a 9.9 ml de caldo tripticasa de soya.

Se empleó 10 tubos con 1 ml de caldo tripticasa de soya para cada prueba (tubo N°1 al tubo N°10). Por otro lado, se dispuso de una solución stock de la miel de abeja a una concentración de 500 mg/ml. Seguidamente se añadió 1 ml de la solución stock de la miel de abeja al tubo N° 1 que contenía 1 ml de caldo tripticasa de soya (concentración de la miel en este tubo es 250 mg/ml), se mezcló bien con la ayuda de un vortex. A partir de este tubo, se preparó diluciones dobles seriadas, para lo cual se tomó 1 ml y se transfirió al tubo N°2 (concentración de miel de abeja = 125 mg/ml), después de mezclar bien el contenido, se transfirió 1 ml al tercer tubo, en el cual la concentración de miel será de 62.5 mg/ml y así sucesivamente hasta el tubo N° 10, del cual se tomó y descartó 1 ml. De este modo, se obtuvieron diluciones dobles de la miel desde 250 mg/ml hasta 0.49 mg/ml.

A continuación, se añadió a cada tubo con diferentes concentraciones de miel (Tubo N° 1 al 10), 1 ml del inóculo preparado de la cepa bacteriana que contiene aproximadamente 1.5×10^6 UFC/ml, con un inóculo final aproximado de 7.5×10^5 UFC/ml y las concentraciones finales de la miel fueron desde 125 mg/ml hasta 0.24 mg/ml. Los tubos fueron incubados a 37 °C durante 24 horas y luego se procedió a calcular la CIM, considerándola como el valor correspondiente al tubo con menor concentración de miel donde no hubo desarrollo bacteriano, demostrado por la ausencia de turbidez.

b) Determinación de la Concentración Bactericida Mínima (CBM)

Ilustración 05: Concentración bactericida mínima de la miel de abeja



A partir de cada uno de los tubos sin desarrollo bacteriano (Ilustración 05) se inoculó 0.1 ml en placas con agar tripticasa de soya y con la ayuda de una asa de vidrio se dispersó en toda la superficie del agar en tres direcciones, las que se incubaron a 37 °C durante 18 h. Finalmente, para determinar la CBM se contó el número de colonias en las placas, considerándose dicha CBM como la menor concentración de miel cuyo subcultivo produce un número de colonias menor al 0.1% del inóculo original (7.5×10^5 UFC/ml), es decir, un número menor a 750 UFC/ml, y como se inoculó la décima parte de 1 ml (0.1 ml), entonces se consideró la CBM al subcultivo que produjo menos de 75 colonias.

3.5 Técnicas de procesamientos y análisis de datos

3.5.1 Contaminación bacteriana de la miel

Se utilizó estadística descriptiva para muestras con distribución no normal, por ello se utilizó medianas, rango intercuartílico, rango al 90%, y valores máximos y mínimos. La comparación de la cantidad de bacterias por tipo de miel fue realizada con ANOVA de una vía previa transformación logarítmica con base 10, mientras que la comparación de la cantidad de bacterias por especies de que producen la miel de abeja fue realizada con T-student.

3.5.2. Tiempo de supervivencia de *Escherichia coli* drogorresistente

Este análisis de datos de tipo categórico se realizó mediante la G-test, el cual toma en consideración muestras pequeñas y grandes, resultando más sensible que la prueba Chi cuadrado. La prueba G comparó las proporciones de las frecuencias que la bacteria sobrevivió a diferentes horas.

3.5.3 Capacidad antibacteriana de la miel frente a *Escherichia coli* drogorresistente

Se utilizó estadística descriptiva para muestras con distribución normal, se calculó promedio y desviación estándar, además de mínimos y máximos. Se comparó la capacidad bactericida mediante ANOVA de una vía. Para encontrar el tipo de miel que puede explicar la mayor variabilidad en la muestra se realizó el Análisis de Componentes Principales con matriz de covarianza.

3.5.4 Concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima de la miel sobre *Escherichia coli* drogorresistente

Se realizó con estadística descriptiva, y las comparaciones entre tipo de miel fue realizado con la prueba de Kruskal Wallis, por tratarse de muestra con distribución no normal y varianza desigual.

*Los programas estadísticos empleados fueron: Sigmaplot 11.0, BioEstat 5.0, Cap 4 setup (análisis package 4.0)

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1 Determinación de contaminación bacteriana de la miel en el proceso de extracción y envasado.

La presencia de bacterias fue variable en todo el proceso de la obtención de la miel ($F_{56,3}=6.863$, $P<0.001$). La miel madura aséptica es la que tuvo menos presencia de bacterias aerobias mesófilas viables (BAMV), y estuvo entre 22.5 y 67.900 UFC (unidades formadoras de colonias) (90% de la muestra), con un valor medio de 800; es muy importante remarcar que hubo una muestra que no tuvo BAMV pero también hubo una muestra que llegó a tener 76000 UFC. Mientras que la miel inmadura aséptica tuvo entre 815 y 4,295,000 UFC (90%) y un valor medio de 46,000; aquí no hubo alguna muestra sin bacterias, todas tuvieron, lo más bajo que se encontró en una muestra fue 800 UFC pero también hubo valores que llegaron a 4,400,000. En la miel colectada por el productor hubo entre 150 y 12,895,000 UFC con un valor medio de 38,000; también todas las muestras tuvieron bacterias, el número más bajo registrado fue de 100 UFC pero también se halló valores altos hasta 17,000,000. En la miel envasado para su almacenamiento se encontró entre 405 y 3,080,000 UFC con un valor medio de 10,000; la cantidad más baja registrada en esta etapa fue de 300 pero la máxima fue de 3,200,000 (Tabla 01).

La cantidad de bacterias entre cada proceso no fue igual ($F_{56,3}=6.863$, $P<0.001$). La cantidad media más baja, 800 UFC fue registrada en la miel madura aséptica, mientras que en las demás hubo valores más altos (Gráfico 01) en donde fueron obtenidos 46,000 UFC, 38,000 UFC, y 10,000 UFC en la miel inmadura aséptica, colectada por el productor y envasado para su almacenamiento; en estas tres últimas no hubo diferencia significativa.

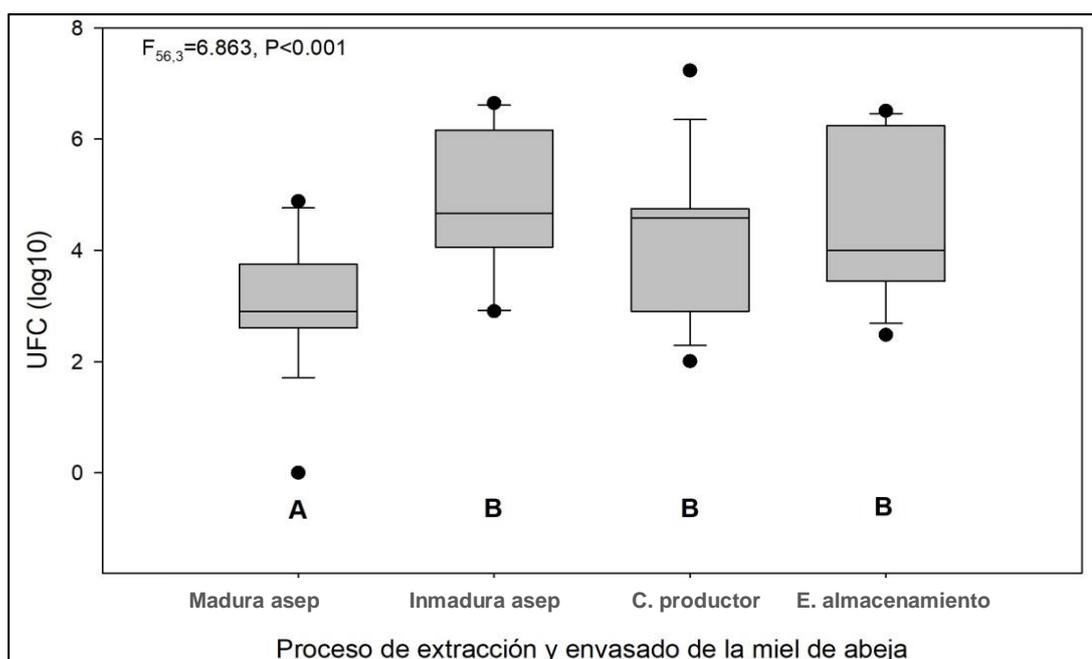
Tabla 01: Cantidades (UFC) de BAMV en diferentes muestras de miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019

Muestras colectadas	Mediana	5-95%	Máximo	Mínimo	(*)Limite/ g-Digesa 2008		Per misible
					m	M	
Madura	800	22.5 – 67,900	76,000	0	10 ³	10 ⁴	SI
Inmadura	46000	815 - 4295000	4400000	800	10 ³	10 ⁴	NO
C. productor	38000	150 -12895000	17000000	100	10 ³	10 ⁴	NO
E.almacena	10000	405 - 3080000	3200000	300	10 ³	10 ⁴	SI

(*) VI. 4 miel, jalea real y similares de la norma sanitaria MINSA/DIGESA. 2008
Fuente: Datos obtenidos a partir de la presente investigación

De las muestras colectadas haciendo referencia del límite/g-Digesa 2008 ⁽⁶³⁾ (Tabla 01), la miel madura y la miel envasado para su almacenamiento estarían dentro del límite permisible establecida en la norma sanitaria MINSA/DIGESA. 2008 ⁽⁶³⁾ del VI ítem de azúcares mieles y productos similares, sin embargo, teniendo un resultado como 800 UFC (8×10^2) de la miel madura, estaría por debajo del recuento para BAMV, la que indicaría que mientras sea menor la carga bacteriana resultaría un producto más eficaz.

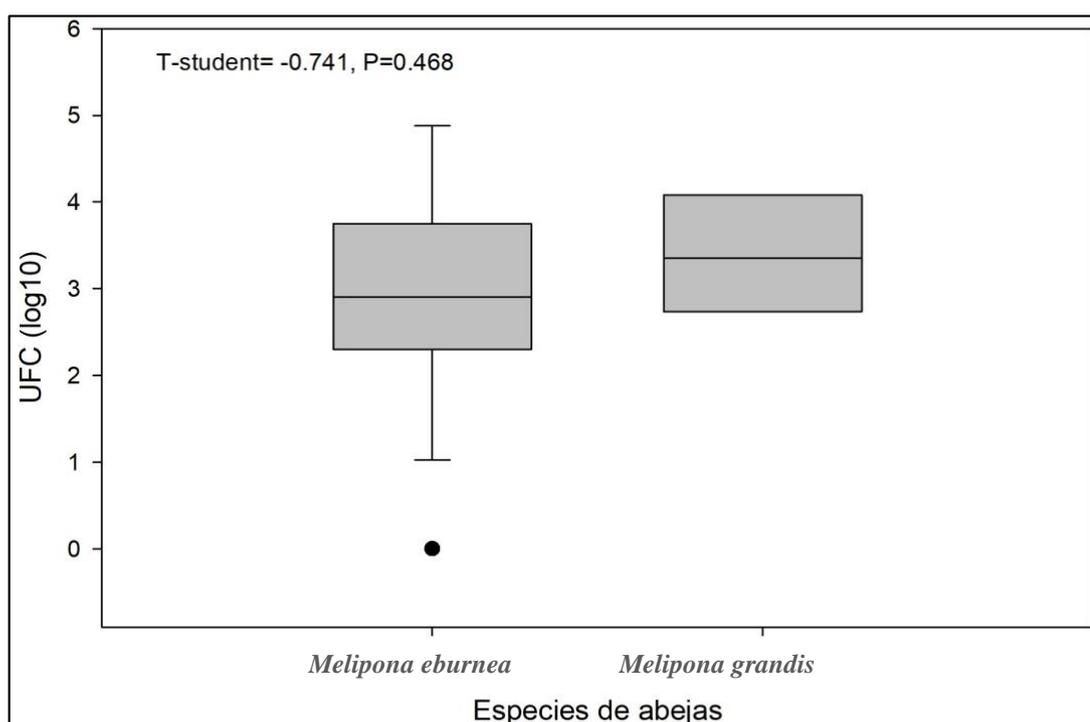
Gráfico 01. Comparación de valores de UFC en diferentes muestras de miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019



La línea media indica la mediana (Gráfico 01), la caja es el rango intercuartílico (50% de la muestra), la línea vertical es el rango del 90% de la muestra, los círculos negros son los valores atípicos. Las diferentes letras indican diferencia significativa con la prueba post-hoc Student Newam Keuls

Entre las especies de abejas, ambas especies de melipona no difieren en cantidad de BAMV, aunque *Meliponea ebúrnea* no llegó a tener bacterias en una muestra a diferencia de *M. grandis* que siempre tuvo bacterias (T-student= -0.741, P=0.468), pese a estas diferencias sutiles la prueba estadística fallo en no mostrar diferencia entre ambas especies (Gráfico 02).

Gráfico 02. Comparación de cantidades (UFC) de BAMV en miel madura aséptica por especie de abeja sin agujón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019.



4.2 Estimación de tiempo de supervivencia de *Escherichia coli* drogorresistente en miel de abeja.

En la muestra de 30 réplicas de la miel madura aséptica se observó que la bacteria tuvo un tiempo máximo de supervivencia de 32 h y el mínimo de 16 h, pero hubo mayor proporción de supervivencia hasta las 16 h. Este patrón

fue similar a la miel inmadura aséptica, a la miel colectada por el productor y envasado para su almacenamiento (Tabla 02). Aparentemente la miel inmadura tuvo diferente patrón, pero este no fue significativo, indicando que sigue el mismo patrón de la miel madura aséptica (G-test=0.834, P=0.658). Es decir, el tiempo medio de supervivencia de las bacterias, 16 h, fue similar en todas las muestras de diferente proceso; esta bacteria no sobrevive más de 32 h, y esta supervivencia tiene un comportamiento gradual, el 50% sobrevive hasta las 16 h, el 30% hasta las 24 h y el 20% restante hasta las 32 h. Estos resultados indican que la miel de abeja en cualquiera de sus procesos, al final de las 32 h, no tendrá alguna bacteria resultando en un líquido libre de bacterias.

Tabla 02: Tiempo de supervivencia de *E. coli* en los diferentes procesos de extracción y almacenamiento de miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019

Tiempo (8 h)	Madura aséptica	Inmadura aséptica	C. Product	E. almac	% esperado
0					
8					
16	7	1	5	4	50
24	3	3	4	3	30
32	4	3	0	0	20
40					
48					
56					
64					
72					
G-Test/P	0.834/0.568	4.207/0.122	4.195/0.122	3.206/0.201	

Fuente: Datos obtenidos a partir de la presente investigación

4.3 Determinación de capacidad antibacteriana de la miel frente a *Escherichia coli* drogorresistente.

La miel de abeja envasado para su almacenamiento mostró mayor acción bactericida (11.74 mm) que las demás muestras de miel de abeja, aunque esta capacidad fue similar al de la miel madura (10.31 mm) (Tabla 03). La miel

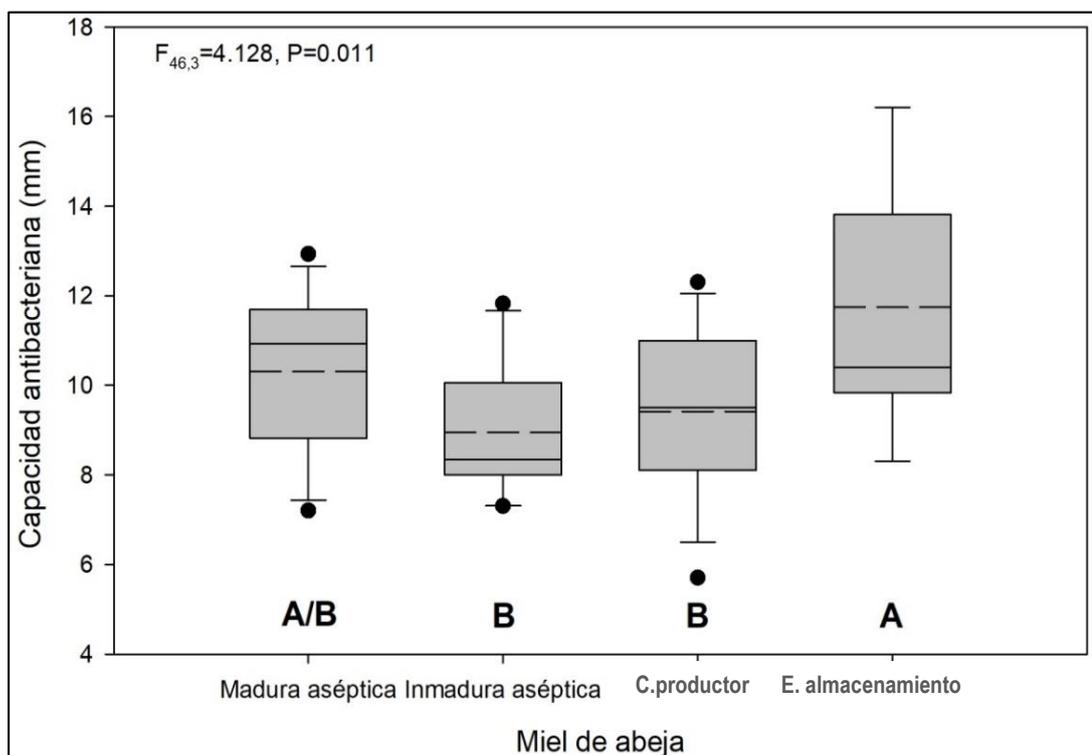
inmadura y la colectada por el productor, 8.95 mm y 9.41 mm, son las que tuvieron menor acción bactericida (Gráfico 03). Es decir, nuestros resultados avalan que la miel de abeja almacenada pudiera dar mejores resultados bactericidas ($F_{46,3}=4.128$, $P=0.011$).

Tabla 03: Valores de capacidad bactericida (mm) de los diferentes tipos de miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019

Miel de abeja	N	Promedio	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Madura aséptica	17	10.31	1.74	7.2	12.93
Inmadura aséptica	10	8.95	1.42	7.3	11.82
C. productor	14	9.41	1.86	5.7	12.3
E. almacenamiento	9	11.74	2.60	8.3	16.2

Fuente: Datos obtenidos a partir de la presente investigación

Gráfico 03. Comparación de la capacidad bactericida de los procesos de extracción y envasado de la miel de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019



Las diferencias observadas de la acción bactericida de la miel pueden ser explicada en 2 componentes principales al 91.88%. En el primer componente principal, hubo mucha diferencia que puede ser explicada al 68.29% por la acción bactericida de la miel envasado para su almacenamiento, la cual se observó que hubo mayor actividad en *Melipona eburnea* proveniente de la cuenca del Nanay (13.20 – 16.20 mm), aquellas que fueron de la cuenca del Ucayali tuvieron acción bactericida más baja (9.96-13.30 mm).

En el caso de *M. grandis*, todas colectadas en el Nanay, tuvo menor valor en la acción bactericida (8.30-9.70 mm), pero tuvo una sola muestra que tuvo una acción bactericida muy alta (14.30 mm). La diferencia en el componente principal 2 sólo puede explicar el 23.59%, en donde la miel colectada por el productor y madura aséptica fueron las más importantes. (Tabla 04), en el análisis de componentes principales con matriz de covarianza muestra la acción bactericida de la miel abeja donde la longitud de las flechas verdes indica la variable más importante (Gráfico 04)

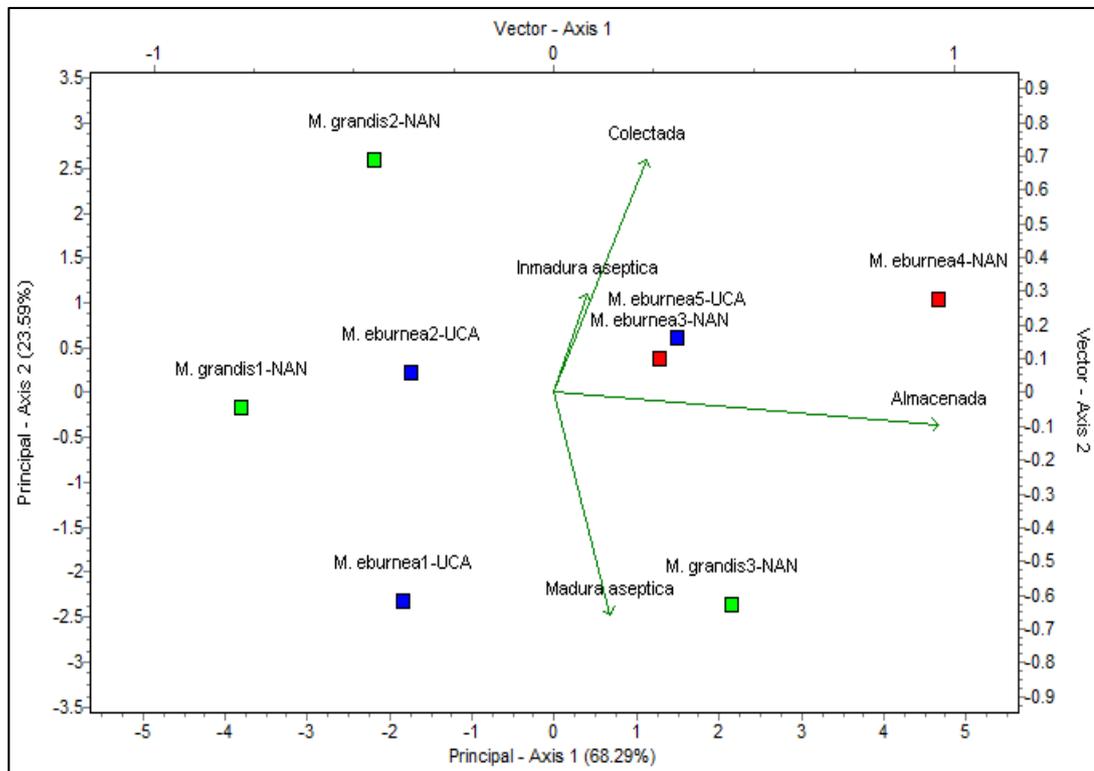
Tabla 04: Diferencia en los componentes principales de muestras de miel de abeja sin agujón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019

Miel de abeja	Componentes Principales			
	1	2	3	4
Madura aséptica	0.137	-0.657	0.392	-0.629
Inmadura aséptica	0.081	0.289	0.911	0.283
C. productor	0.232	0.689	-0.027	-0.686
E. almacenamiento	0.960	-0.097	-0.127	0.232
% de Varianza	68.28	23.59	7.84	0.28
% de Varianza acumulada	68.29	91.88	99.72	100.00

(-----) variables más importantes

Fuente: Datos obtenidos a partir de la presente investigación

Gráfico 04: Análisis de componentes principales de acción bactericida por lugar de muestreo. de miel de abeja sin agujón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019

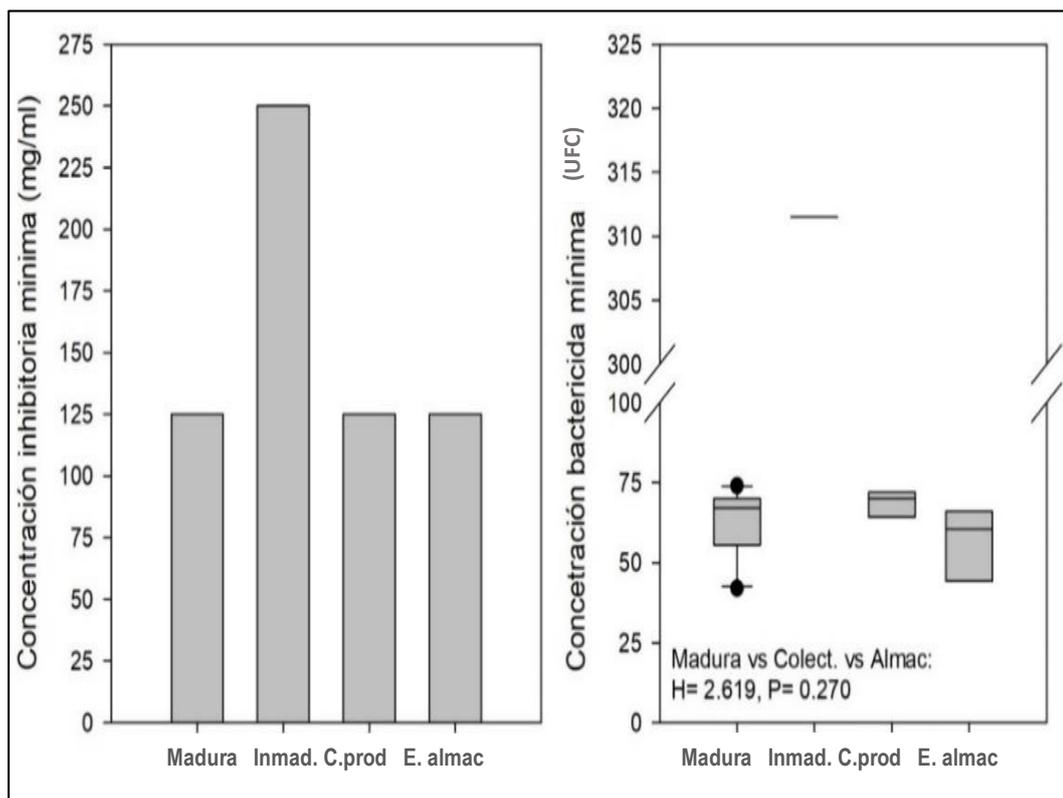


4.4 Determinación de concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima de la miel sobre *Escherichia coli* drogorresistente.

La concentración inhibitoria mínima fue similar en la miel madura, colectada por el productor y envasado para su almacenamiento, las tres formas de miel tuvieron 125 mg/ml. La miel inmadura excepcionalmente tuvo 250 mg/ml, el cual es un valor muy alto, el cual indica que se necesita mayor cantidad de miel inmadura para lograr un efecto similar al de la miel madura, colectada por el productor o envasado para su almacenamiento. Es importante anotar que atípicamente una muestra de miel colectada tuvo acción inhibitoria a 250 mg/ml (Gráfico 05). La concentración bactericida mínima fue menor a 75 colonias en 125 mg/ml en la miel madura, colectada por el productor y envasado para su almacenamiento, las pequeñas diferencias mostradas no fueron significativas ($H=2.619$, $P=0.270$). mientras que en la miel inmadura

necesitó un promedio de 311 mg/ml, es decir, se necesita cuatro veces más de concentración de miel inmadura para lograr un efecto bactericida parecido al de la miel madura, colectada por el productor y envasado para su almacenamiento. En los experimentos de concentración bactericida mínima se tuvo un resultado sin algún efecto en la miel madura colectada por el productor y envasado para su almacenamiento. Mientras que en la inmadura se tuvo cuatro resultados sin algún efecto. Estos resultados indican que la miel inmadura es la menos adecuada para inhibir o combatir bacterias ($H=2.619$, $P=0.270$)

Gráfico 05. Valores de concentración inhibitoria y bactericida mínima de la miel de abeja de abeja sin aguijón (Hymenoptera: Meliponini) en Loreto, 2019



CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La aparición de cepas resistentes contra los antimicrobianos es una realidad que se fue probando en los últimos años llevando consigo a la búsqueda de tratamientos alternativos lo que ha llevado al redescubrimiento de la miel de abeja dada sus propiedades antimicrobianas y su notable efecto desinflamatorio y cicatrizante ⁽⁶⁵⁾, no obstante estas propiedades medicinales fueron reconocidas desde tiempos antiguos ⁽⁷⁾, de modo que al ser un producto de origen animal se debe considerar la carga bacteriana ⁽⁵⁾. La importancia de los resultados expresados en la investigación reafirma las propiedades medicinales contribuyendo específicamente en mieles producidas por abejas sin aguijón, pese a la carga bacteriana presente en su composición.

Determinación de contaminación bacteriana de la miel en el proceso de extracción y envasado.

En un estudio realizado por Fontes y colaboradores en el 2013⁽⁶⁶⁾ afirman que existe contaminación por parte del productor de miel de abeja cuando no tienen buenas prácticas de manufactura en el momento de recolección, y que además esta colecta de tipo artesanal no cuenta con las condiciones higiénicas sanitarias adecuadas para llevar una buena cosecha de miel, ante esta realidad, este estudio determina la contaminación de miel en el proceso de extracción y envasado por parte del meliponicultor, frente a ello Sánchez y estudios en el 2012⁽⁶⁷⁾, mencionan que se olvida que el proceso de producción que se realiza artesanalmente carece de tecnología que garantice un alimento inocuo listo para el consumo, frente a ello en los resultados del presente estudio se presenta que la miel madura y la miel envasado para su almacenamiento contiene una carga bacteriana de 800 UFC y 10000 UFC de bacterias aerobias mesófilas viables que estaría dentro del límite permisible establecido en la norma sanitaria MINSA/DIGESA. 2008⁽⁶³⁾ del VI ítem de azúcares mieles y productos similares, así como del ICONTEC en el 2012⁽⁶⁸⁾, presentando como parámetros de 10^3 a 10^4 , haciendo mención que esta

norma establecida es en base a mieles producidas por abejas del género *Apis*, de modo que esta referencia se tomó para la presente investigación la indicación sobre productos similares de esta normativa peruana, así como lo mencionó Grajales en el 2001⁽⁴⁷⁾ y Souza y colaboradores en el 2006⁽⁶⁹⁾, sobre la no existencia de una regulación para mieles producidas por abejas sin aguijón. Por otro lado no se encontró diferencias significativas entre las especies evaluadas de *Melipona ebúrnea* y *Melipona grandis* presentando alguna diferencia sutil de que en *M. ebúrnea* no llegó a tener bacterias en una sola muestra a diferencia de *M. grandis*, esta evidencia puede deberse a lo indicado por Zamora en el 2011⁽⁵⁾, que las muestras de las mieles son dependientes de su origen de la fuente del néctar, así como del área geográfica, esta información también puede ser corroborado por Roubik en 1989⁽²²⁾, en la que hace mención la dependencia de las características del ambiente como la distribución y abundancia de diferentes tipos de recursos, adicionales a las características específicamente florales.

Estimación de tiempo de supervivencia de *Escherichia coli* drogorresistente en miel de abeja.

Respecto a la estimación de tiempo de supervivencia de *Escherichia coli* no se encontraron estudios específicos al respecto, se encontró estudios realizados de supervivencia del mismo agente patógeno en otros productos de consumos como las frutas y verduras, donde esta bacteria logró una supervivencia de tiempo promedio de 72 h.⁽⁴⁷⁾

Sin embargo, otros estudios más próximos a la investigación han demostrado que determinadas especies de bacterias pertenecientes a la familia enterobacteriaceae en particular *Escherichia coli* como bioindicador de contaminación de origen fecal validando la posible presencia de otras bacterias del genero de Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Erwinia, y Aeromonas que son comúnmente encontradas en tierra, agua y granos⁽⁷⁰⁾ siendo estos agentes microbianos capaces de resistir hasta 34 días en miel de *A. mellifera*⁽⁵⁶⁾. En los resultados obtenidos de la investigación en las muestras colectadas de mieles de melipónidos *Escherichia coli* logra

sobrevivir hasta las 32 horas de tiempo promedio, donde se podría comprobar que ciertamente la miel de abeja sin agujón resulta ser más eficaz.

Determinación la capacidad antibacteriana de la miel frente a *Escherichia coli* drogorresistente.

Quienes también reportaron mayor sensibilidad de cepas de *E. coli* frente a mieles fueron los resultados obtenidos por Cabrera y colegas en el 2006⁽⁷¹⁾ evaluadas a partir de mieles zulianas, así mismo Fangio y colegas en el 2007⁽⁴⁾ observaron la presencia de halos de inhibición de crecimiento de *E. coli* los valores de halos formados fueron superiores de 20 mm de diámetro, sin embargo en la investigación realizada a pesar que todas las muestras mostraron halos de inhibición el mayor diámetro obtenido fue de 11.74 mm, concluyendo que las mieles son activas frente a *E. coli*.

Determinación la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima de la miel sobre *Escherichia coli* drogorresistente

Con respecto a las mieles evaluadas en el estudio, mostró un efecto inhibitorio sobre *Escherichia coli* al 95 % esto coincide en un estudio realizado en Egipto por Badawy en el 2014⁴⁸⁾, así mismo años anteriores Estrada y colaboradores en el 2004⁽⁴⁴⁾ hicieron comparaciones de la miel de abeja sin agujón con la miel de abeja con agujón midiendo su capacidad inhibitoria haciendo efectiva sobre *E. coli* coincidiendo estos resultados con el estudio realizado.

CAPÍTULO VI: PROPUESTA

Seguir con los diversos estudios de la comunidad de abejas sin aguijón aludiendo a la principal actividad antibacteriana realizando estudios exhaustivos y minuciosos investigando la presencia de peróxido en cada una de las muestras analizadas, así como la determinación de flavonoides, ácidos aromáticos y ácidos fenólicos siendo estos componentes reconocidos por inhibir un amplio rango de bacterias gram positivas y gram negativas ⁽⁷⁾, además de esclarecer la presencia de lisozima en la miel ya que algunos reportes mencionan a está como uno de los antimicrobianos presente en la miel ^(7, 51).

Continuar con los estudios de base científica con la finalidad de implementar una norma para la miel de melipónidos ya que su composición difiere con las mieles de especies de abejas del género *Apis* ⁽⁴⁶⁾.

Implementar actividades lúdicas para diferentes grupos etarios de niños y adolescentes, respecto a ecología y producción de miel de abeja sin aguijón en nuestra amazonia.

Difundir información como trípticos para desarrollar conocimientos básicos en la meliponicultura y sus buenas prácticas (Anexo 08)

Elaborar una ficha informativa de la investigación desarrollada en base a estudios de las características bacteriológicas de miel de abeja sin aguijón (Anexo 09)

CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES

- La contaminación bacteriana en el proceso de extracción y envasado, la cantidad media más baja de bacterias fue registrada en la miel madura aséptica con 800 UFC, mientras que, en los otros procesos de la miel inmadura aséptica, colectada por el productor y envasado para su almacenamiento fueron de 46,000 UFC, 38,000 UFC y 10,000 respectivamente.
- El tiempo de supervivencia de *Escherichia coli* drogorresistente de ambas especies de meliponas fue similar en todas las muestras colectadas, esta bacteria tiene una supervivencia con un comportamiento gradual y no logro sobrevivir a más de 32horas.
- La capacidad antibacteriana de la miel frente a *E. coli* drogorresistente, los resultados obtenidos en la muestra de la miel madura y colectada por el productor fueron las más eficientes siendo 10 mm y 11.74 mm respectivamente.
- En la concentración inhibitoria mínima y concentración bactericida mínima las acciones de inhibición y bactericida fueron similares en la miel madura, colectada por el productor, envasado para su almacenamiento se obtuvo a 125 mg/ml, mientras que en la muestra de miel inmadura a 250 mg/ml.

CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES

Realizar evaluaciones de las propiedades antimicrobianas de la miel de meliponas contra microorganismos patógenos, elaborando parámetros microbiológicos de miel de meliponas incluyendo variables de madurez, humedad y pH que deberán ser valorados y correlacionados.

Realizar protocolos de extracción enfocados en reducir la contaminación de la miel en el momento de extracción y así cumplir con las normas que se establecen para el producto, así mismo, capacitar a los apicultores acerca de la crianza tecnificada de abejas sin aguijón (meliponicultura) para brindar nuevas alternativas comerciales y puedan generar mayores ingresos.

Respecto al trabajo de campo, es necesario precaver los materiales para la conservación pertinente de la miel colectada llevadas para su procesamiento en análisis microbiológicos.

Es necesario tener cuidado en el registro de colecta de datos por cada muestra de miel y las condiciones en las que esta debe ser colectada.

Tener las consideraciones necesarias para colectar las muestras de miel en su distinta fase en condiciones de miel madura e inmadura.

Respecto al procesamiento de análisis microbiológico, tener cuidado en el manipuleo del agente patógeno en estudio *Escherichia coli*, debido a que manipulación inapropiada puede convertirse en una fuente de riesgo biológico para las personas que están en contacto, para ello se debe utilizar los elementos de protección personal necesarios para evitar la exposición con riesgo biológico.

CAPITULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pérez C. Hojas divulgadoras: Manejo y alteraciones de la miel. Madrid: HD Neografis, S. L. - Santiago Estévez;1985.
2. Souza B, Roubik D, Barth O, Heard T, Enríquez E, Carvalho C, Villas-Boas J, Marchini L, Locatelli J, Persano-Oddo L, Almeida-Muradian L, Bogdanov S y Vit P. Composición de la miel abejas sin aguijón: Normas de calidad de ajuste. 2006; 31(12).
3. Radwan S, El-Essawy A, Sarhan M. Experimental evidence for the occurrence in honey of specific substances against microorganisms. Zentralblatt fur Mikrobiologie. 1984; 139: 249-55.
4. Fangio M, Iurlina M.O y Fritz R. Actividad antimicrobiana de mieles del sudeste de la provincia de Buenos Aires frente a *Escherichia coli*. Revista Argentina de Microbiología. 2007; 39: 120-123.
5. Zamora L y Arias M. Calidad microbiológica y actividad antimicrobiana de la miel de abejas sin aguijón. Revista Biomédica. 2011; 22: 59-6.
6. Enrique F. Naturaleza y objetivos de toda investigación. 2012 <http://www.defensa-nacional.com/blog/2012/08/sin-categoria/naturaleza-y-objetivos-de-toda-investigacion/>
7. Cooper R, Molan P, Harding K. The sensitivity to honey of gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. J Appl Microbiol. 2002; 93: 857-863.
8. Codex. Revisada del Codex para la miel. CODEX STAN 12-1981. Roma, Italia; 2001 Comisión del Codex Alimentarius. FAO / OMS. 7p.
9. Mazariegos A. Determinación de la actividad de la enzima diastasa y análisis microbiológico en miel producida en la finca el guardabarranco, municipio de pastores, Departamento de Sacatepequez. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala facultad de ciencias químicas y farmacia escuela de química biológica; 2006.
10. RSA-CONICET. Estándares de calidad microbiológico y fisicoquímico en mieles de abejas nativas sin aguijón (ANSA). Red de seguridad alimentaria. Consejo nacional de investigación científica y técnicas ;2018. 12-13 p.
11. CODEX. Codex Alimentarius, Norma del CODEX para la Miel CODEX STAN 1987. 12-1981, Rev. 2 (Alinorm 01/25, 2001).

12. American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 4th. Ed. Washington, Pouch, F. & Keith, I. Editor; 2001. 659 p.
13. ANMAT. Guía de interpretación de resultados microbiológicos de alimentos. Administración nacional de medicamentos, alimentos y tecnología médica. 2003 [Internet] [consultado en febrero 2014]. Disponible en: <http://www.anmat.gov.ar>.
14. Salamanca G; Henao C; Moreno G & Luna A. Características microbiológicas de las mieles tropicales de *Apis mellifera*. Galería Apícola virtual. Apiservices 1995-2001. 2001 [internet] [consultado en febrero del 2014]. Disponible en:
http://www.beekeeping.com/articulos/salamanca/caracteristicas_microbiologicas_mieles.htm
15. Malinka N, Mohamed F, Chakib A. Antimicrobial Activities of Natural Honey from Aromatic and Medicinal Plants on Antibio – Resistant Strains of Bacteria. International Journal Microbiology. 2009; 27(1):77-82.
16. Pack Ar, Molan Pc. The effect of manuka honey on plaque and gingivitis. J Int Acad Periodont. 2004; 6 (2): 63 – 7.
17. Amina A. Efecto antibacteriano de miel de abeja en comparación con antibióticos en microorganismos de quemaduras infectadas. Rev. Anuales de las Quemaduras y Desastres de Fuego. 2007; 20(2): 122-131.
18. Cruzado L, Gutierrez D, Ruíz G. Ensayo químico y efecto de antibiosis “in vitro” de la miel de abeja sobre microorganismos gran positivos y gran negativo. Rev Médico Vallejina. 2007; 4(2): 95 – 107.
19. Aguilera G, Gil F, González A, Nieves B, Rojas Y, Rodríguez A. Evaluación de la actividad antibacteriana de mieles de *Apis mellifera*, contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Rev. Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. 2009; 40 (1): 21- 5.
20. Noia M, Coll Cárdenas, Villat M, Laporte G, Sereno D, Otrosky R & Mestorino N. Características físico-químicas y microbiológicas de mieles de la pampa. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP, UNLP. 2010. Disponible en: fcollcardenas@fcv.unlp.edu.ar
21. Brown N. & S. Desai. Infantile botulism: a case report and review. The journal of emergency Medicine. 2013; 45(6): 842-845.
22. Roubik D. Ecology and natural history of tropical bees. Cambridge University New York. 1989. 520 p.

23. Michener, C. The bees of the world. The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London. 2000. 913 p.
24. Lobo, A. & De Camargo J. New stingless bee genus endemic to Central America cloudforest: phylogenetic and biogeographic implications (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Systematic Entomology*, 1997; 22: 67-80 pp.
25. Fernandez; F. La diversidad de los himenopteros en Colombia. En: Rangel, J.O (Ed.) Colombia diversidad biótica 1. Universidad Nacional de Colombia e Inderana, Santafé de Bogotá, D.C, 1995; 373-442 pp.
26. Nates- Parra, G. Las abejas sin aguijón (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) de Colombia. *Biota Colombiana*. 2001; 2(3): 233-248.
27. O' Toole, C. Thopse others bees: changing the funding culture. Brasilia: In: Kevan, P.Gand Imperatriz- Fonseca, V.L (Eds) pollinating bees. The conservation link between agriculture and nature. Ministry of environment, secretariat for biodiversity and forests. 2002. 37 – 40 pp.
28. Johnson, L & Hubbell, S. Aggression and competition among stingless bees: field studies. *Ecology*. 1974; 55(1): 120-127.
29. Odum, E.P. *Ecología*. 3ra. ed. México: Interamericana. 1972; 639 pp.
30. Griswold, T., Parker F. and Hanson, P. The bees (Apidae) in: Hanson, P and Gauld The Hymenoptera of Costa Rica. Oxford University Press, Oxford. 1995; 650 pp.
31. Nates-Parra, G. Abejas sin aguijón (Hymenoptera: Meliponinae) de Colombia. Santafé de Bogotá: En: G. Amat, G. Andrade y F. Fernández (Eds). *Insectos de Colombia*. Universidad Javeriana y Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1996; 181-268 pp.
32. Roubik D; Lobo Segura J; De Camargo J. New stingless bees genus endemic to Central America cloudforests: phylogenetic and biogeographic implications (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Systematic Entomology* 1997; 22: 67-80.
33. Camargo J. M. & Pedro M. Sistemics, phylogeny and biogeography of the meliponinae (Hymenoptera, Apidae): A minireview. *Apidologie*. 1992 23:509-522.
34. Michener, C. The social behavior of the bees. Harvard University Press, Cambridge, Mass 1974; 404 p.
35. Parra, G. Bionomia de las abejas sin aguijón (Meliponinae: Apidae) del occidente colombiano. *Cespedesia* 1990; 57(58): 77-116

36. Nogueira- Neto, P. Vida e criação de abelhas na manutenção da biodiversidade e geração de renda. Anais do XII Congresso brasileiro de Apicultura. Salvador, Bahia, Brasil. 1997; 101-105 pp.
37. Palacios M. Eliana P. Estructura de la comunidad de abejas sin aguijón en tres unidades de paisaje del piedemonte llanero colombiano (meta, Colombia). Bogotá: Pontificia universidad javeriana; 2004.
38. SENASA. Guía de Aplicación de Buenas Prácticas Apícolas y de Manufactura de Miel. Recomendaciones. Argentina: 2005 [Consultado el 25 octubre 2005]. Disponible en: <http://www.alimentosargentinos.gov.ar>.
39. Benoit O & Combeaud L. Enfoque de mercado mundial de la miel. Mayazine; 2011; 20: 1-5.
40. Finola M., Lasagno M & Marioli J. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. Food Chemistry, 2005, 100(4) 1649-1653 pp.
41. Rodríguez M. Composición, calidad y consumo de miel en España. 2003: Disponible en: www.consumaseguridad.com
42. Bogdanov S. Antibacterial substances un honey. 1997: Disponible en: [Http://www.apis.admin.ch/english/pdf/BeeProducts/%20AntibacterialInternete.pdf](http://www.apis.admin.ch/english/pdf/BeeProducts/%20AntibacterialInternete.pdf).
43. Ramirez J; Calderón R; Ortiz R; Sánchez L. Manual de Apicultura. Tomo I. Costa Rica: Programa de Publicaciones e Impresiones de la Universidad Nacional; 2003 44-77 pp.
44. Estrada H; Gamboa M; Chaves C & Arias M. Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus niger*. Sociedad Latinoamericana de Nutrición. 2004; 55: 167-71 pp.
45. Frías, I., Y Hardisson, A. Estudio comparativo entre mieles comerciales y artesanales de Santacruz de Tenerife. Rev. Alimentación, Equipos y Tecnología. Noviembre; 1991.
46. Grajales, J. Características físicas, químicas y efecto microbiológico de mieles de melipónidos y *Apis mellifera* de la región Soconusco, Chiapas. Memorias. II Seminario Mexicano sobre Abejas sin Aguijón. Yucatán. Eds. J.J.G. Quezada-Euán, L. Medina y J.H. Moo-Valle. Mérida. 2001; 61 p.
47. Castro Del Campo N, Chaidez C, Carrasco W & Valdez B. Sobrevivencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en frutos mínimamente procesados. Ciudad de La Habana. Centro de investigación en

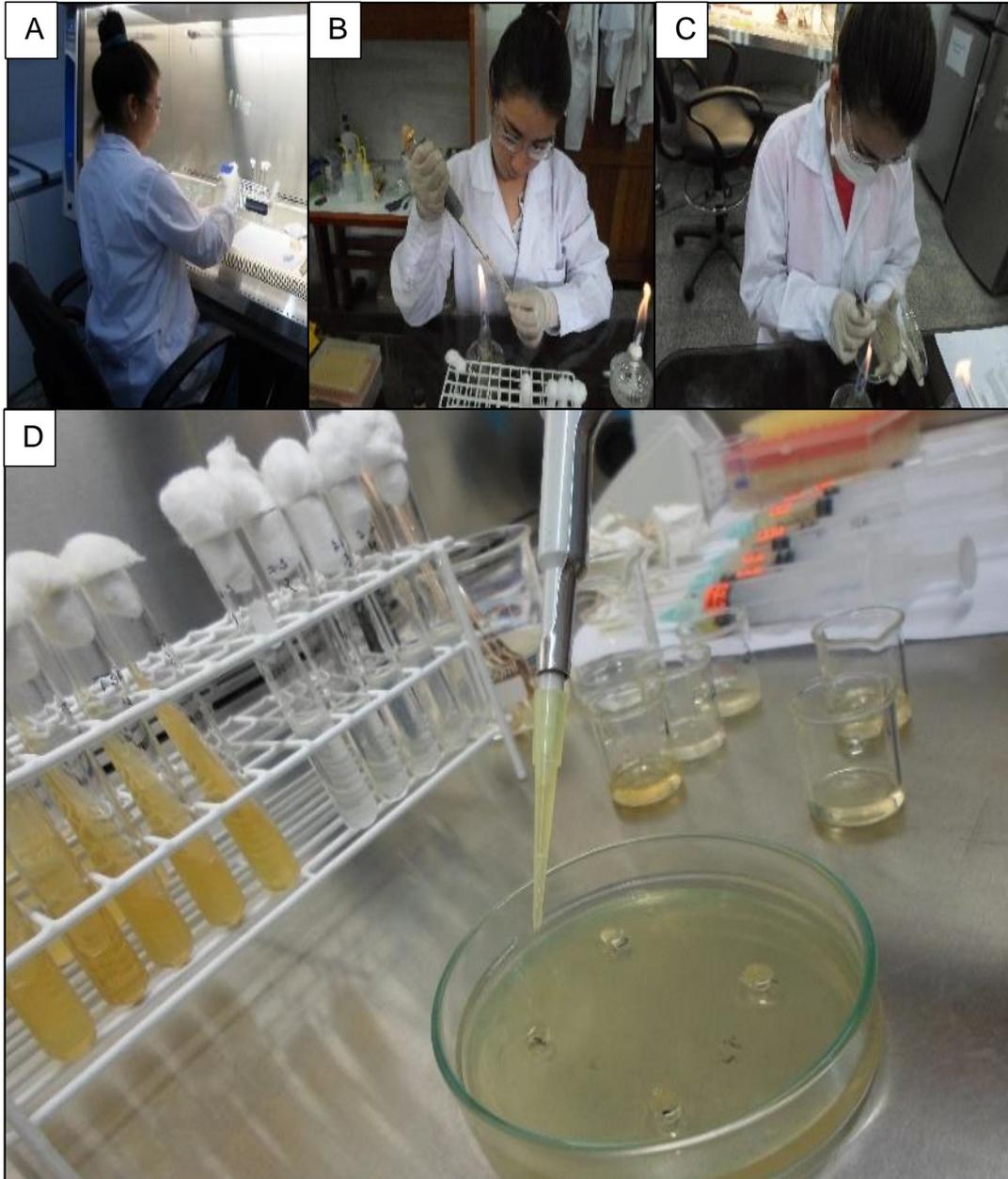
- alimentación y desarrollo, México. Rev Cubana Salud Pública. 2004; 30 (1).
48. Castañeda J. Ortega J. La supervivencia de los gérmenes intrahospitalarios en superficies inanimadas. Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría. 2014; 27(107).
49. Lusby P, Coombes A, Wilkinson J. Bactericidal Activity of Different Honeys against Pathogenic Bacteria. Arch. Med. Res. 2005; 36: 464-467.
50. Molan P. The Evidence Supporting the Use of Honey as a Wound Dressing. Int. J. Lower Extrem. Wounds 2006; 5: 40-54.
51. Molan P. Potential of honey in the treatment of wounds and burns. American Journal of Clinical Dermatology. 2001; 2(1): 13-19.
52. Dardón M. Enríquez E. Caracterización fisicoquímica y Antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (Meliponini) de Guatemala. Dec. 2008; 33: 12.
53. Vit P, Gutiérrez M, Rodríguez-Malaver J, Aguilera G, Fernández-Díaz C, Tricio A. Comparación de mieles producidas por la abeja yateí (*Tetragonisca fiebrigi*) en Argentina y Paraguay. Acta Bioquím Clín Latinoam. 2009; 43 (2): 219-26.
54. Enríquez M. Peralta M. Caracterización de la Miel de Meliponinos de Distintas Regiones Biogeográficas de Guatemala". Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación –DIGI. 2007.
55. Real Academia Española. Aviso legal. Accesibilidad. ayuda-contacto. Felipe, 4-28014 Madrid. [Internet]. 2018. Disponible en: <http://www.rae.es/publicaciones/1-caracteristicas-del-diccionario/>
56. Coll Cárdenas, F, Villat, C, Laporte, G, Noia, M, Mestorino, N. Características microbiológicas de la miel. Artículos de Investigación. 2008; 3: 29-34.
57. Cho S, Fossler Ch, Diez-González F, Wells S, Hedberg C, Kaneene J. Antimicrobial susceptibility of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from organic dairy farms, conventional dairy farms, and county fairs in Minnesota foodborne pathogens and disease. Foodborne Pathogens Disease 2007; 4:178-86.
58. Jouini A, Slama Kb, Sáenz Y, Klibi N, Costa D, Vinué L, Zarazaga M, Boudabous A, Torres C. Detection of multiple-antimicrobial resistance and characterization of the implicated genes in *Escherichia coli* isolates from foods of animal origin in Tunis. *Íbidem*. 2009; 72: 1082-8.

59. Olivas E, Alarcón L. Manual de Prácticas de Microbiología Básica y Microbiología de Alimentos: Programa de Nutrición. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Cd. Juárez, México. 2004.
60. Cunha S. García E. Presencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, en teclados y ratones de computadoras del hospital Iquitos cesar Garayar García". Facultad de ciencias biológicas. Escuela de formación profesional de biología. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Iquitos, Perú. 2012.
61. ANMAT. Análisis microbiológico de alimentos. Metodología analítica oficial, microorganismos indicadores 2014; 3: 3-43.
62. Vásquez A. Investigación científica. Aplicaciones, Enfoque Ambiental, 20146; 3-66 pp.
63. MINSA-DIGESA. Resolución Ministerial. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. 2008; 12pp
64. Malbrán C. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. MIC testing. 2012; 32(2): 2-48.
65. Cruz E, Miranda M. Perdiendo la batalla: Resistencia microbiana en enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLESS) y estrategias de control. Enf Infec Microbiol; 25. 2005.
66. Fonte L, Díaz M, Machado R, Demedio J, García A, Blanco D. Caracterización físico-química y organoléptica de miel de *Melipona beecheii* obtenida en sistemas agroforestales. 2013; 36(3): 345-349.
67. Sánchez O, Castañeda P, Muños G, Tellez G. Aportes para el análisis del sector apícola Colombiano. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC), Norma Técnica Colombiana 1273. Journal of Agricultural science and Technology. 2012; 2(4): 469-483.
68. ICONTEC. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación, Norma Técnica Colombiana 1273: Miel de Abejas, 2012.
69. Souza B; Roubik D; Barth O; Heard T; Enríquez E; Carvalho C, Villas-Boas J, Marchini L; Locatelli J; Persano-Oddo L; Almeida-Muradian L; Bogdanov S & Vit P. Composición de la miel abejas sin aguijón: Normas de calidad de ajuste. DIC Caracas. 2006; 31(12).
70. Pucciarelli A, Schapovaloff M, Kummritz S, Seňuk S, Brumovsky L, Dallagnol A. Microbiological and physicochemical analysis of yateí (*Tetragonisca angustula*) honey for assessing quality standards and commercialization. Rev Argent Microbiol. 2014; 46 (4):325-332.

71. Cabrera L, Cespedes E, Nava R, Ojeda G. Actividad Antibacteriana No-Peróxido de Mielles Zulianas. Revista Científica. 2006; 16:53-7.

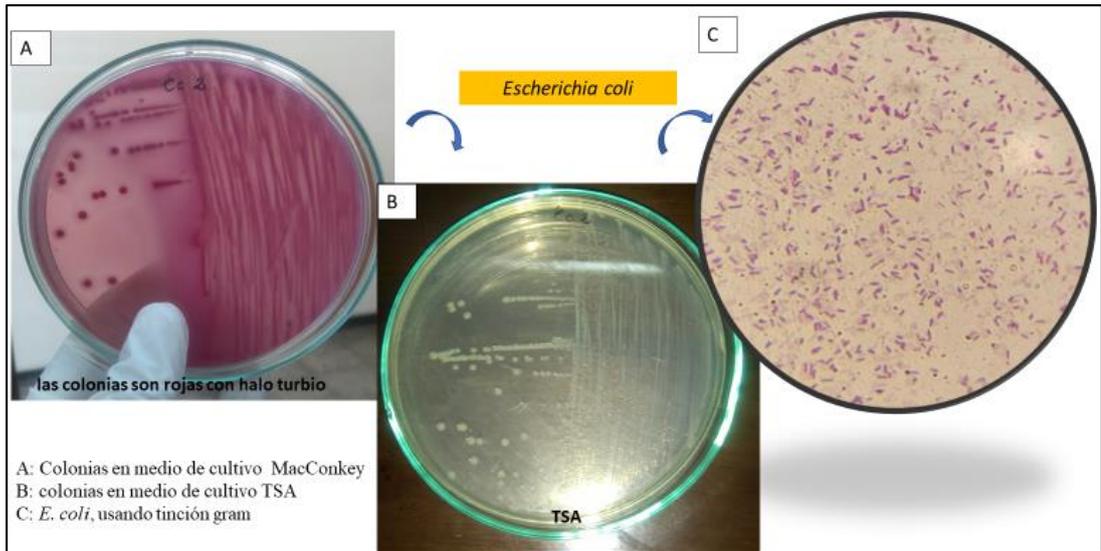
ANEXOS

Anexo 01: Algunos procedimientos bacteriológicos desarrollados en el Centro de Investigaciones de Recursos Naturales-Iquitos

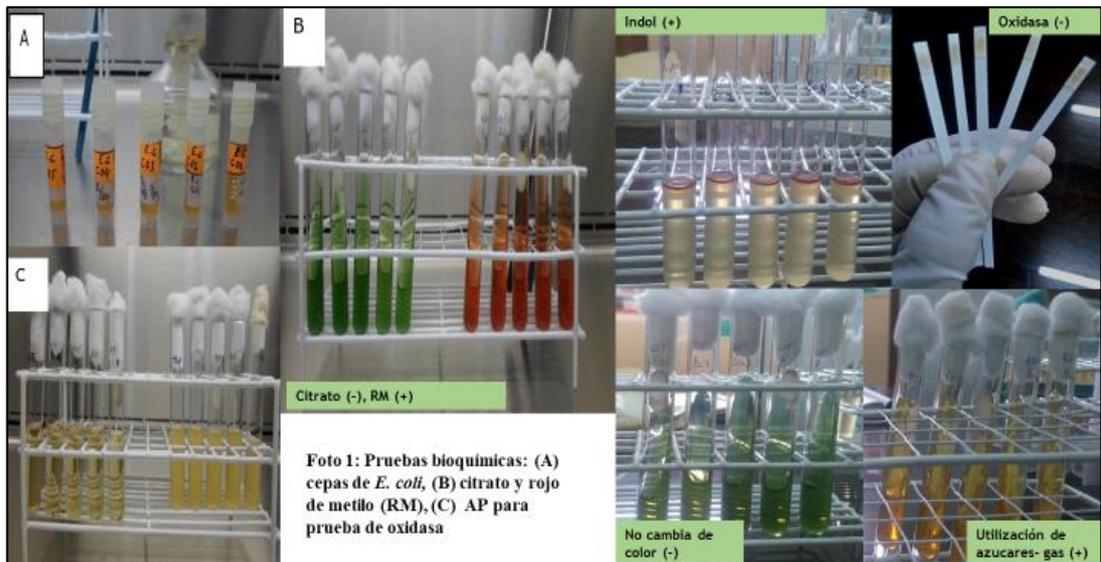


(A) uso de la cabina de flujo laminar; (B) inoculación de cepas de *E. coli* en miel de abeja; (C) utilización de sacabocado para crear pocillos (hoyos); (D) empleo de miel de abeja en la prueba de capacidad antibacterial.

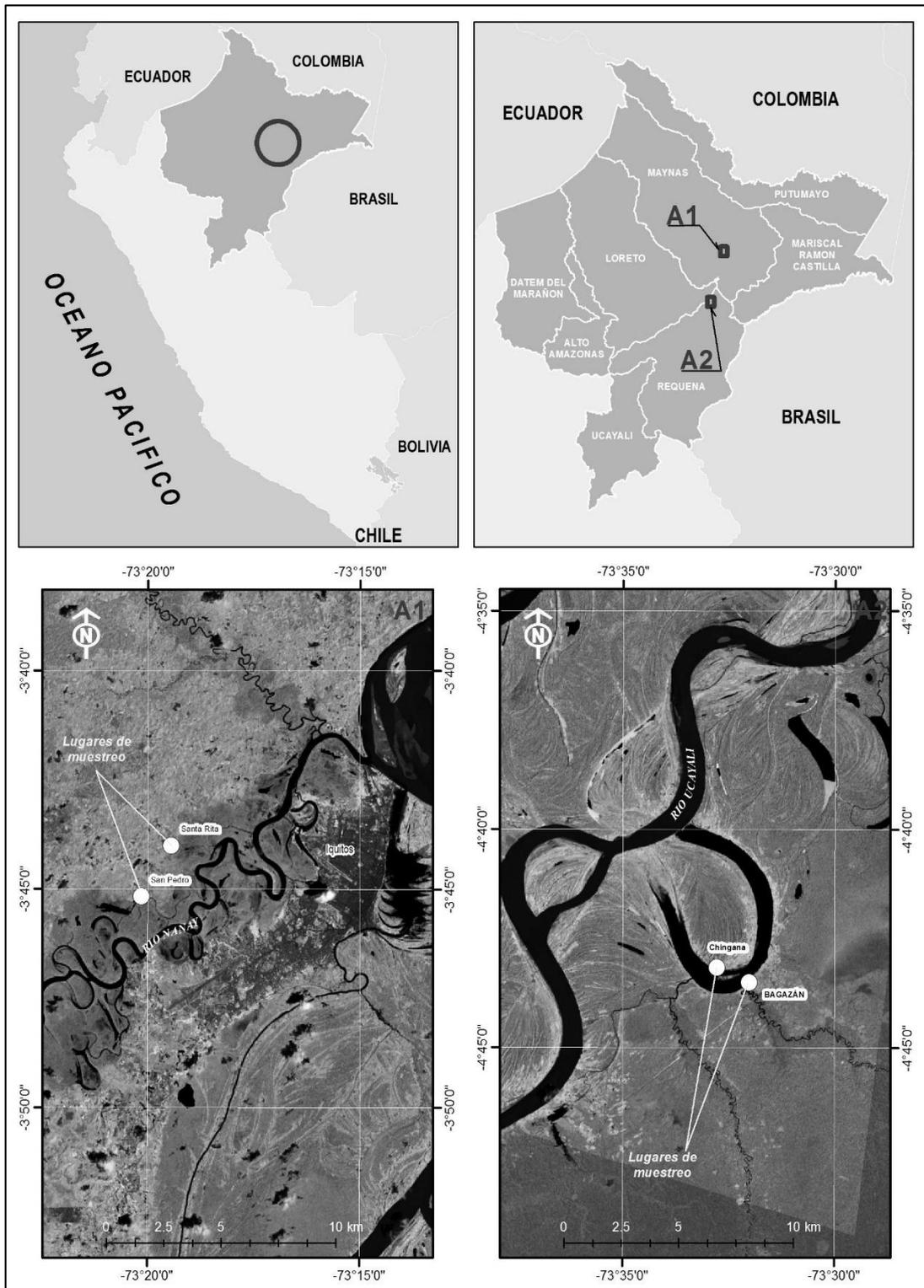
Anexo 02: Caracterización microscópica de *Escherichia coli* drogorresistente



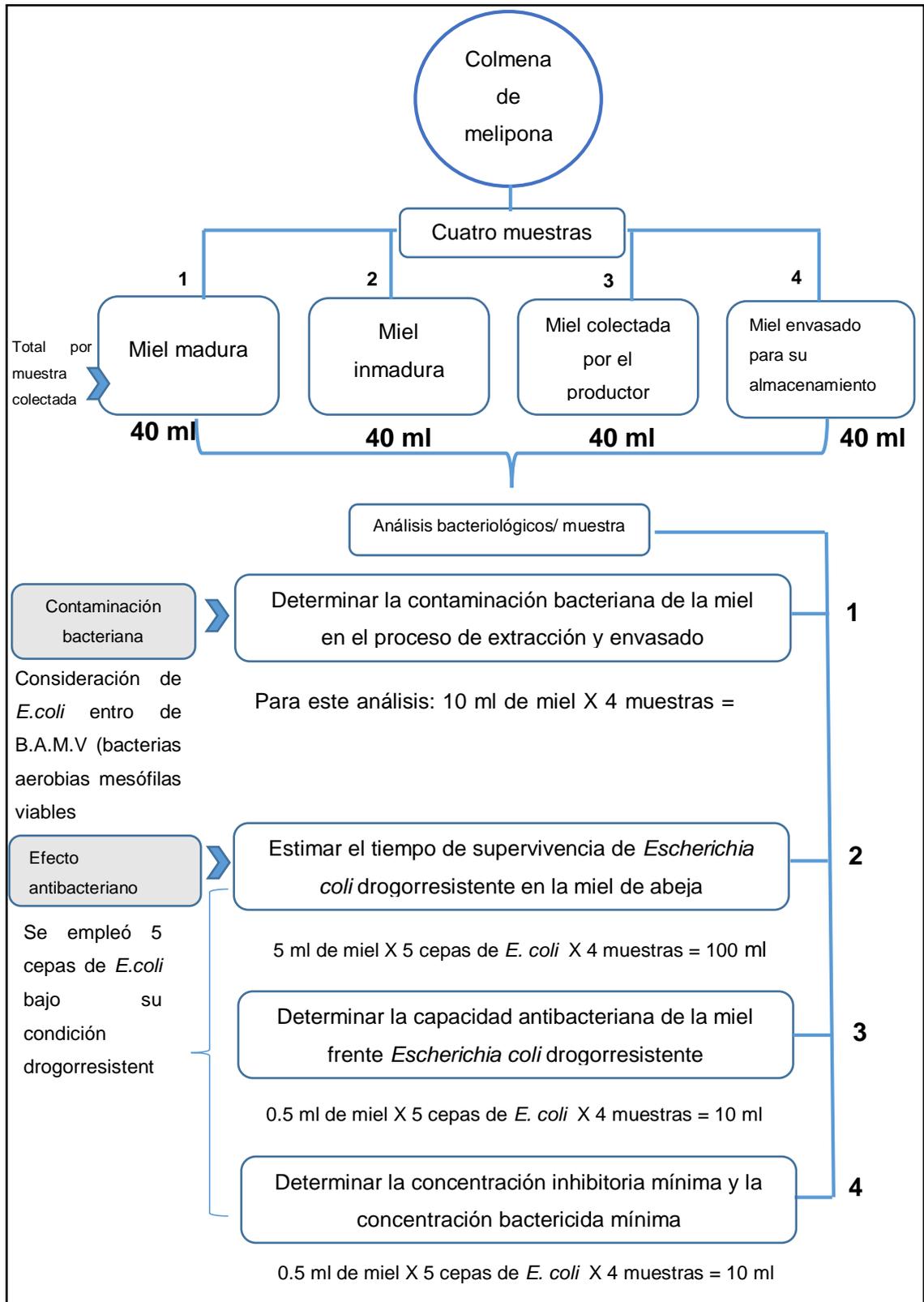
Anexo 03: Determinación de *Escherichia coli* drogorresistente, Prueba bioquímica



Anexo 04: ubicación de lugares de muestreo. (A1) Cuenca del río Nanay: Santa Rita y San Pedro (A2) Cuenca del río Ucayali: Chingana y Bagazán.



Anexo 05: Evaluación de análisis bacteriológicos.



Anexo 06: Muestras de mieles de abejas sin aguijón colectadas por 30 colmenas en las cuencas de los ríos Ucayali y Nanay.



Anexo 07: Especies de abejas sin aguijón identificadas.

Tribu	Género	Especie
	Melipona	<i>Melipona eburnea</i> Friese, 1900
Meliponini		<i>Melipona grandis</i> , Guerin, 1844

	
<i>Melipona eburnea</i>	<i>Melipona grandis</i>

Anexo 08: Tríptico, conocimientos básicos para la meliponicultura y sus buenas prácticas.

Haz

CONOCIMIENTOS BÁSICOS PARA LA MELIPONICULTURA Y SUS BUENAS PRÁCTICAS

Las abejas son insectos que visitan las flores en busca de polen y néctar, que utilizan como alimento. En sus visitas en busca de alimento, transportan el polen de una flor a otra, actuando como polinizadores. Dentro de la gran diversidad de abejas, las abejas sin aguijón o meliponas se diferencian de todas las demás porque no pican, si bien tienen otros mecanismos de defensa, como por ejemplo cortar las alas de otros insectos. Son comunes en las tierras cálidas y templadas de las zonas tropicales y subtropicales del mundo.

En la actualidad, las meliponas están desapareciendo como consecuencia de la destrucción de los bosques nativos relacionada con la expansión de los campos para la agricultura y ganadería. Por otro lado, sufren el daño producido



por personas que no poseen conocimientos sobre la cría de las abejas sin aguijón y que, por el afán de obtener la miel, destruyen colonias enteras.



¿Por qué criar abejas sin aguijón?

- Porque son parte esencial de los bosques y contribuyen a la reproducción de las plantas cultivadas y silvestres.
- Porque producen una excelente miel.
- Porque son domesticables y no son peligrosas.
- Porque la tala de bosques y el aprovechamiento incorrecto de este grupo de abejas han llevado a una disminución de especies y poblaciones.

¡Consideraciones importantes!



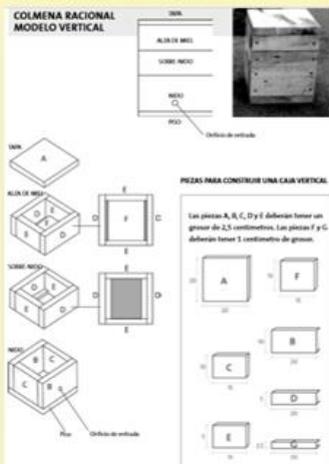
Recolectar miel en nidos del bosque: No es un buen método porque el cazador deja el nido en mal estado y con pocas probabilidades de recuperarse. De esta manera es un melero y no un meliponicultor.

Cultivo en colmenas racionales: Este es el mejor método, ya que podemos obtener miel y otros beneficios, al mismo tiempo que mantenemos vivas las abejas. Esta es la forma en que obtiene miel un meliponicultor.

Envés

LA COLMENA RACIONAL

Existen diversos modelos de cajas racionales. Son preferibles aquellas cajas con divisiones o alzas y construidas con madera de buen grosor (2.5 cm preferentemente) y bien seca.



CÓMO OBTENER LA MIEL

1. Abrir cuidadosamente la colmena.
2. localizar los pots con miel madura (aquellos que están cerrados).
3. Si los pots se encuentran en un alza, sacarla con cuidado.
4. Si no se pueden sacar los pots, realizar un agujero en cada uno y con la ayuda de una jeringa nueva se extrae la miel.
5. La miel debe ser depositada en recipientes limpios y, si se quiere comercializarla, se la puede poner en frascos de vidrio debidamente marcados.

COMO OBTENER LA MIEL

- ¡IMPORTANTE!**
- Jeringas y recipientes estériles
 - Para disminuir carga microbiana



Anexo 09: Ficha informativa, características bacteriológicas de miel de abeja sin aguijón

Haz

CARÁCTERÍSTICAS BACTERIOLÓGICAS DE MIEL DE ABEJA SIN AGUIJÓN

Característica bacteriológica de la miel, carácter propio y específico de la miel donde estas características están determinadas por su valor nutricional y sus propiedades medicinales frente alguna bacteria presentes en ella (Coll Cárdenas et al, 2008)

Se tiene como objetivos:

- ❖ Determinación de la contaminación bacteriana de la miel en el proceso de extracción y envasado
- ❖ Tiempo de supervivencia de *E. coli*,
- ❖ Determinación de la capacidad antibacteriana
- ❖ Concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM) de la miel frente a *E. coli*

La miel como producto de origen animal, tiene una microbiota original propia, con características específicas (Pérez, 1985, Souza *et al*, 2006). Sin embargo la manipulación antropogénica puede atribuirle características bacteriológicas diferentes al producto original (Radwan et al, 1984).

Estas características se agudizan con la presencia de gérmenes patógenos como *Escherichia coli*, la que indicaría la existencia de una contaminación fecal (Pérez, 1985),



MADURA E INMADURA

COLECTADA POR EL PRODUCTOR

ENVASADO PARA ALMACENAMIENTO



1' y 2'

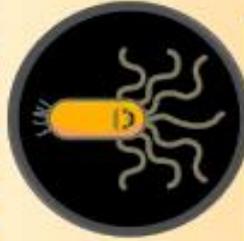
3'

4'

CARACTERÍSTICAS BACTERIOLÓGICAS DE MIEL DE ABEJA SIN AGUIJÓN



Como objetivo de estudio para este fin se utiliza E. coli drogoresistente para probar su efecto antibacteriano de las mieles colectadas.



En el proceso de extracción y envasado, fue la cantidad media más baja de 800 UFC en miel madura, mientras que en las demás hubo valores más altos; E. coli logra sobrevivir hasta 32 h de tiempo promedio, la miel de abeja envasado para su almacenamiento mostró mayor acción bactericida de 11.74 mm de diámetro en tamaño de halo de inhibición, respecto a la CIM fue similar en la miel madura, colectada por el productor y envasado para su almacenamiento tuvieron 125 mg/ml, sin embargo se necesita cuatro veces más de miel inmadura para lograr un efecto similar.

Se concluye que la miel producida por melipónidos presenta carga bacteriológica lo que fue sometida a análisis antibacterial mostrando efecto inhibitorio sobre el crecimiento de E. coli por lo que su potencial uso medicinal es muy prometedor para salvaguardar la salud de la población.



Técnica de recuento de bacterias aerobias mesófilas



Técnica de supervivencia



Capacidad antibacteriana

Concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM)