



**UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**ARTICULO ACADEMICO
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA
AGROINDUSTRIAL**

TEMA:

Evaluación de las propiedades antimicrobianas de extracto de propóleo frente a *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, y *Staphylococcus aureus*.

AUTORA:

ALCIVAR SANTANA RUTH ANDREINA

TUTOR:

ING. ALDO MENDOZA GONZÁLEZ MG.

ECUADOR, FEBRERO 2020

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente declaran que han APROBADO el artículo académico **“Evaluación de las propiedades antimicrobianas de extracto de propóleo frente a *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*”** que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por la egresada Alcívar Santana Ruth Andreina, previa la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial, de acuerdo con el REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE GRADO DE TERCER NIVEL de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (ULEAM).


Ing. George García Mera Mg. Sc.
DECANO DE LA FACULTAD


Ing. Aldo Eduardo Mendoza González Mg.
TUTOR DEL PROYECTO

MIEMBROS DEL TRIBUNAL

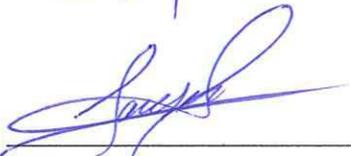
Ing. Mantuano Cusme María Isabel Mg.



Ing. Reyna Arias Kathya Sayonara Mg.



Ing. Lavayen Delgado Edison Mg.



CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Ing. Aldo Eduardo Mendoza González Mg, certifico haber tutorado el artículo académico de **“Evaluación de las propiedades antimicrobianas de extracto de propóleo frente a *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*”**, que ha sido desarrollado por Alcívar Santana Ruth Andreina, egresada de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial, de acuerdo con el REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE PROYECTO DE INVESTIGACION DE GRADO DE TERCER NIVEL de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí (ULEAM).



Ing. Aldo Eduardo Mendoza González Mg.,

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Los hechos, ideas y doctrinas expuestos en el presente artículo académico son de exclusiva responsabilidad de Ruth Andreina Alcívar Santana egresada de la carrera de Ingeniería Agroindustrial.

Alcívar Santana Ruth Andreina
CI: 135019113-4

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por cada una de sus bendiciones sobre mí, por mantenerme en pie y con las fuerzas necesarias para poder superar los obstáculos.

A la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, a cada uno de los docentes por impartir sus conocimientos durante todo el proceso de mi carrera, por ser la guía para mi crecimiento profesional.

A mi tutor Ing. Aldo Eduardo Mendoza González Mg. y a mi padre el Ing. Rubén Alcívar Murillo Mg. excelentes profesionales, quienes estuvieron conmigo durante todo el proceso compartiendo sus conocimientos para llevar a cabo de la mejor manera este proyecto. De la misma manera a cada uno de los docentes miembros del tribunal.

DEDICATORIA

A mis padres Rubén Alcívar Murillo y Ruth Santana Parrales por ser mi pilar fundamental, mi principal inspiración para lograr todo lo que me propongo, quienes siempre me repiten que puedo lograr todo lo que puedo soñar e imaginar hasta conseguir aquello que parece imposible si me esfuerzo lo suficiente, ser su orgullo es la mejor manera de poder recompensar todo lo que han hecho y harían por mí, porque durante toda mi vida y lo que me falta por vivir han sido mi guía infaltable en cada paso que doy, porque confían en mi como nadie más podría hacerlo, todo lo que soy se lo debo a ellos.

A mi hermano Rubén Alcívar Santana, por nunca dejarme sola por ser mi compañero de vida mi otra mitad y mi respaldo no solo durante mi carrera sino en el transcurso de mi vida.

A mi abuelita María Luisa Parrales quien es como una madre para mí, de ella he aprendido a tener una actitud de guerrera y nunca darme por vencida a pesar de lo dura que pueda volverse la vida, a mis demás abuelos, tíos y primos.

A Yens Bravo Moreira, por ser parte esencial durante mi carrera, por cada consejo por siempre creer en mí, por todo el apoyo brindado cada palabra de aliento para no darme por vencida y caminar a mi lado durante todo este proceso que ha sido difícil pero no imposible.

A Sabelly Saltos y Argelis Anchundia, quienes se convirtieron en unas hermanas para mí, por compartir y mantenernos juntas estos años de carrera, por apoyarnos, alentarnos durante todo este camino de altos y bajos para así lograr nuestras metas.

Ruth Andreina Alcívar Santana

Evaluación de las propiedades antimicrobianas de un extracto de propóleo a *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus*

Evaluation of the antimicrobial properties of an extract of propolis to *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* and *Staphylococcus aureus*.

Alcívar Santana Ruth Andreina^{1*}, Mendoza González Aldo Eduardo², Alcívar Murillo Rubén Melquiades³, Mantuano Cusme María Isabel⁴, Reyna Arias Kathya Sayonara⁵, Lavayen Delgado Edison⁶

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (ULEAM), Manta-Ecuador^{1, 2,3,4,5,6} Carrera de Ingeniería Agroindustrial^{1, 2,4,5,6} Carrera de Ingeniería Agropecuaria³

*Contacto: andreinalcivar21@gmail.com

Resumen

La investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana de un extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y etanol concentrado frente a tres diferentes microorganismos. Una vez obtenido el propóleo, para su extracción se utilizó etanol al 96%, se lo mantuvo en proceso de maceración agitándolo cada 12 horas por cinco minutos, conservando esta solución a 4°C en un frasco oscuro o color ámbar para de esta manera poder protegerlo de la luz hasta su posterior uso. El etanol concentrado fue utilizado como control de referencia ya que fue utilizado para el proceso de la extracción del propóleo. La actividad antimicrobiana del extracto de propóleo fue evaluada *in vitro* por el método de difusión en agar con discos conforme a la técnica Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI, se utilizaron cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus*. enriquecidas en caldo nutritivo BHI e incubadas a 37 °C, las zonas de inhibición fueron evaluadas a las 24, 48 y 72 horas. Aplicando un diseño completamente al azar (D.C.A) Bifactorial: Tipo de microorganismo y concentración de extracto de propóleo. Una vez evaluados los resultados se pudo comprobar que el extracto de propóleo no tuvo efecto inhibitorio en

Staphylococcus aureus siendo esta bacteria resistente ante esta solución pero sensible al etanol con un halo de 4 mm. Sin embargo, la *E. coli* fue sensible ante la concentración al 20% del extracto de propóleo desarrollando un halo de 9,33 mm, mientras que el control de etanol no tuvo efecto frente a *Salmonella* ni en *Escherichia coli*.

Palabras claves: Antimicrobiano, Bacterias, difusión en agar, inhibición, propóleo

Abstract

The research was aimed to evaluate the antibacterial activity of an extract of propolis at 10%, 20% and ethanol concentrated against three different microorganisms. Once the propolis was obtained, 96% ethanol was used for its extraction, it was kept in a maceration process, stirring every 12 hours for five minutes, keeping this solution at 4 ° C in a dark or amber bottle so that it can be protected from light until later use. Concentrated ethanol was used as a reference control since it was used for the process of propolis extraction. The antimicrobial activity of the propolis extract was evaluated in vitro by the method of diffusion in agar with discs according to the Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI technique, strains of *Escherichia coli*, *Salmonella spp* and *Staphylococcus aureus* were used. enriched in BHI nutrient broth and incubated at 37 ° C, the zones of inhibition were evaluated at 24, 48 and 72 hours. Applying a completely random design (D.C.A) Bifactorial: Type of microorganism and concentration of propolis extract. Once the results were evaluated, it was found that the propolis extract had no inhibitory effect on *Staphylococcus aureus*, this bacterium being resistant to this solution but sensitive to ethanol with a 4 mm halo. However, *E. coli* was sensitive to the 20% concentration of the propolis extract by developing a 9.33 mm halo, while the ethanol control had no effect against *Salmonella* or *Escherichia coli*.

Keywords: Agar diffusion, antimicrobial, bacteria, inhibition, propolis.

1. INTRODUCCIÓN

En la industria alimentaria la pérdida de la calidad en un alimento puede ser ocasionada por algún tipo de microorganismos presente en ellos o por una diversidad de reacciones fisicoquímicas que ocurren después de cualquier proceso al que es sometido. Por este motivo tienden a añadir conservantes sintéticos que tienen la función de minimizar el crecimiento de estos agentes patógenos o deterioradores exponiéndolos a un medio hostil que estrese su ciclo celular para causar su muerte o inhibición, sin embargo pueden ser perjudiciales para la salud (Clayton 2016).

Esto ha producido interés por parte de investigadores sobre la posible regresión al uso de sustancias naturales para contribuir de manera positiva en la salud de los consumidores (Fernández-López et al 2005). Entre varios estudios de productos naturales que se han ejecutado en los últimos años han sido los apícolas, uno de ellos es el propóleo el cual posee propiedades antibacterianas gracias a la presencia de flavonoides, por lo cual su uso puede ampliarse y ser aprovechado en la industria como un antimicrobiano para combatir patógenos de una manera natural (López 2004).

Considerado como un arsenal químico debido a sus propiedades antimicrobianas, se le atribuye el rol de combatir la contaminación e invasión de agentes patógenos dentro de la colmena. Químicamente consiste en una mezcla de resinas producida por las abejas melíferas con un contenido de bálsamos y resinas del 50 %, cera 35%, aceites esenciales 10% y polen con un 5%. Debido a su contenido en aceites esenciales, el propóleo suele ser aromático y en función de su origen botánico difiere en su color de amarillo claro a castaño oscuro, con un sabor amargo, ligeramente picante o insípido (Farré, et al 2004).

Este producto posee diferentes actividades biológicas: desde propiedades antibacteriana, antifúngica, anticancerígena, antioxidante, cicatrizante, analgésica hasta fitoinhibidora; por esto su principal destino ha sido la industria farmacéutica, sin embargo su uso puede ser aprovechado en la industria alimentaria, cosmética o química. Su actividad antimicrobiana está relacionada con la presencia de compuestos flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres, en su composición destacan ocho flavonoides, incluyendo rutina, miricetina, quercetina, kaempferol, apigenina, pinocembrina, crisina y galangina (Vargas *et al* 2013).

Se han realizado varias investigaciones acerca de las aplicaciones que puede tener el propóleo una de ellas fue en carne de res molida, que con una dosis al 1% arrojó resultados efectivos en la evaluación antimicrobiana, evidenciándose en reducción de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) frente a la *E. coli* (ATCC 25922) (Macías y Yunda 2015). También se ha utilizado extracto etanólico de propóleo en queso cabaña como preservante, en este estudio las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* presentaron sensibilidad frente al propóleo. (Carrera, H 2016).

Así también se ha estudiado la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos y acuosos de propóleos, utilizando cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*, donde los extractos etanólicos tuvieron una actividad de inhibición significativamente mayor que los extractos acuosos, siendo las bacterias Gram positivas más susceptibles que las bacterias Gram negativas (Carrillo *et al* 2011).

Fonte-Carballo, L. *et al* (2016) efectuaron una investigación acerca de la potencialidad antimicrobiana y caracterización de propóleos manipulando cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y la levadura *Candida albicans*. El cual mostró un mayor efecto inhibitorio siendo *Staphylococcus aureus* la bacteria más susceptible ante esta solución

Diversos estudios han demostrado el efecto de los extractos de propóleos ante algunas bacterias y hongos, así como en patógenos de interés alimentario, conjuntamente con la capacidad que tienen para prevenir o retardar reacciones de oxidación, lo cual los convierte en productos naturales potencialmente atractivos para ser utilizado como inhibidor en matrices alimentarias debido a las diversas propiedades biológicas que presentan. (Vargas et al 2013).

Por este motivo el objetivo principal de esta investigación fue evaluar la actividad antimicrobiana in vitro de un extracto etanólico de propóleo frente a *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, por ser estas bacterias las más comunes en los alimentos. Haciendo énfasis en la pregunta de investigación ¿Presentará efecto inhibitorio el extracto de propóleo frente a estos tres diferentes microorganismos?

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

En esta investigación se desarrolló un diseño completamente al azar (D.C.A.) bifactorial de seis tratamientos con tres repeticiones más un control de etanol para cada microorganismo. Los resultados fueron analizados en el programa estadístico IBM SPSS Statistics Visor complementados con un test de Dunnett ($P < 0,05$). Siendo el Factor A el tipo de microorganismo (*Salmonella spp.*, *Escherichia coli.* y *Staphylococcus aureus*) y el Factor B consistió en la concentración del extracto de propóleo (10%, 20%) (Tabla 1).

Tabla 1: Tratamientos analizados con sus respectivos factores

Factor A	Factor B
<i>Escherichia coli</i>	T1: 10%
	T2: 20%
	*Control de Etanol concentrado
<i>Salmonella spp.</i>	T3: 10%
	T4: 20%
	*Control de Etanol concentrado
<i>Staphylococcus aureus</i>	T5: 10%
	T6: 20%
	*Control de Etanol concentrado

2.2. OBTENCIÓN DEL PROPÓLEO

El propóleo utilizado en el experimento fue del apiario de Feagri_Junco, ubicado en la comuna "El Junco" de la parroquia Charapotó cantón Sucre provincia de Manabí, Ecuador, se encuentra en un bosque seco con especies de flores melíferas como algarrobo *Ceratonia siliqua*, ceibo *Ceibo trichistandra*, frutillo *Mutigia calabura*. Para obtener el propóleo se colocaron

mallas plásticas en las colmenas con dimensiones de 50 cm de largo por 40 cm de ancho durante los meses de Julio hasta Septiembre del 2019.

Las mallas fueron retiradas de las colmenas y transportadas hasta los laboratorios de la ULEAM conforme a la norma de Productos de Apicultura NTE INEN 2794, en su ítem número 4 de requisitos generales.

2.3.ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO

Se partió como referencia la metodología empleada por Fatma H. con ciertas modificaciones. Una vez obtenido el propóleo (100g), este fue fragmentado y colocado en envase de vidrio oscuro, adicionando 200 ml de etanol al 96%, el cual se dejó macerando durante 21 días a 4°C, agitándose cinco minutos cada 12 horas. Transcurrido ese tiempo, la solución fue filtrada con papel Whatman No. 1 y sometida a un último proceso de agitación a 90 rpm por una hora en un agitador magnético (Heating Magnetic Stirrer). Posterior al proceso de agitación, la solución se mantuvo a 4°C protegiéndola de la luz hasta su posterior uso.

2.4.ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO DE PROPOLEO FRENTE A *Escherichia coli*. *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*.

El desarrollo de esta fase se llevó a cabo en el laboratorio de Análisis de alimentos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (ULEAM). El cual se detalla a continuación:

Preparación del Inóculo: Se seleccionaron colonias de *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*. y *Staphylococcus aureus*; más dominantes las cuales fueron colocadas en tubos de ensayos y enriquecidas en 9ml de BHI (Brain Heart Infusion) el cual es un medio altamente nutritivo para la recuperación de microorganismos Gram positivos y Gram negativos; posterior a esto los tubos fueron colocados en una incubadora memmert por 24h a 37°C.

Método de difusión en agar con discos: Este se desarrolló conforme a la técnica Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI (2009), con algunas modificaciones. Consistió en colocar en cajas Petri el medio de cultivo *SS Agar Salmonella Shigella* (HiMedia Laboratories, India) adicionando 0,5 ml del inóculo del microorganismo a evaluar previamente diluido en una solución de agua peptonada, dejándolo reposar entre 15-20 minutos manteniendo la caja cerrada. Cuando las cajas con el inóculo estén aparentemente secas se procederá a colocar los discos (5mm de papel Fisher Scientific Q2) con el extracto de propóleo al 10%, 20% y etanol concentrado. Las placas fueron llevadas a una incubadora memmert a 37°C, midiendo el área de la zona de inhibición (mm) en 24, 72 y 48 horas.

Esta actividad se efectuó por triplicado para cada tratamiento en una cámara de flujo laminar HRCJ-1S (Haier Clean Bench). Este proceso se realizó para *Escherichia coli* en *SS Agar Salmonella Shigella* (HiMedia Laboratories, India) y para *Staphylococcus aureus*, en medio de cultivo Agar Sangre de Cordero (HiMedia Laboratories, India).

3. RESULTADOS

3.2 ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO SOBRE LOS MICROORGANISMOS

En el Grafico 1 se detalla un análisis de varianza estadístico de la evaluación del extracto etanólico y del control de etanol que corresponde a la bacteria de *Escherichia coli*. Observando que durante las primeras 24 horas el T1 (EEP al 10%) y el control de etanol no manifiestan diferencia significativa entre sí, por lo tanto ambas soluciones tuvieron un efecto semejante frente a esta bacteria con zonas de inhibición de 2,67 mm (24 horas) 3,67 mm (48 horas) y 4 mm (72 horas). Conforme a las comparaciones múltiples, entre el T2 (EEP al 20%) y el control de etanol si hubo diferencia significativa considerándose el T2 como el mejor tratamiento inhibiendo *E. coli* con un halo de 6,67 mm en 24 horas, 8,33mm en 48 horas y 9,33 a las 72 horas con la adición del extracto al 20%.

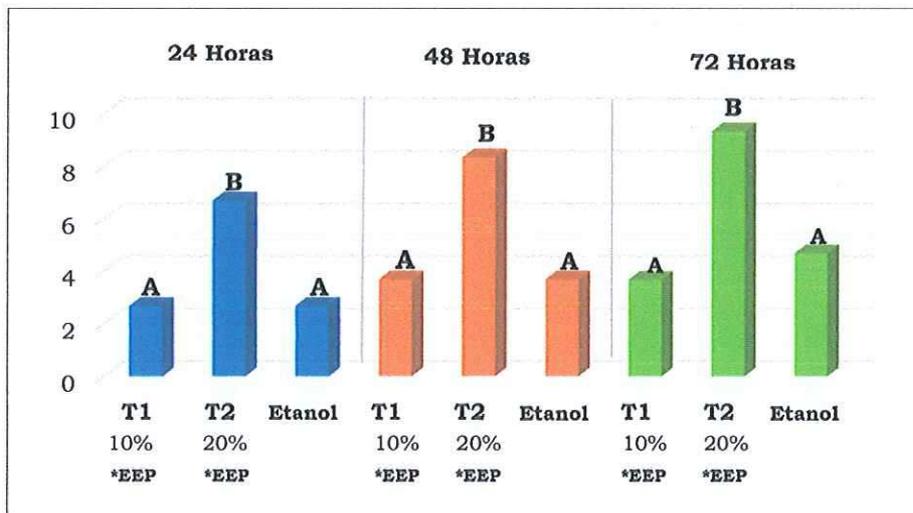


Gráfico 1: Evaluación del extracto de propóleo y control de etanol frente a *Escherichia coli* durante 24, 48 y 72 horas.

*EEP: Extracto etanólico de Propóleo

Lo que corresponde a la evaluación en *Salmonella spp.* se muestra en el Grafico 2, resaltando que no hubo formación de halo inhibitorio, presentando un área de 0 mm de crecimiento microbiano, es decir que no existió actividad antibacteriana frente a *Salmonella spp.* en ninguno de los tiempos establecidos. Este agente patógeno resultó ser muy resistente ante los extractos en estudio siendo semejantes entre sí.

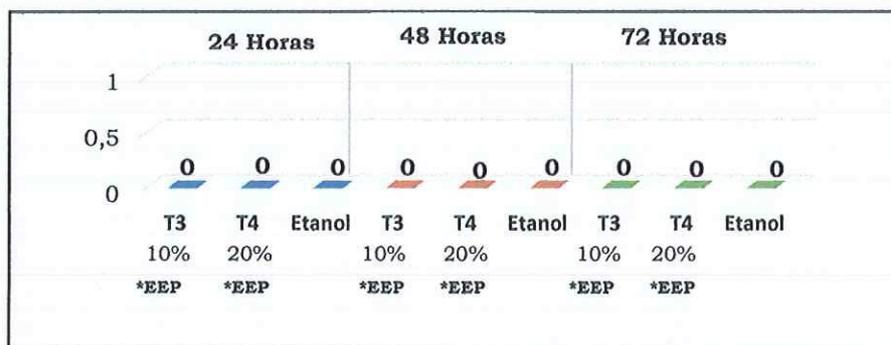


Gráfico 2: Evaluación del extracto de propóleo y control de etanol frente a *Salmonella spp.* durante 24, 48 y 72 horas.
*EEP: Extracto etanólico de Propóleo

El Grafico 3 muestra los resultados estadísticos para *Staphylococcus aureus.* de acuerdo a las comparaciones entre el T5 (EEP 10%) y el control etanol resultaron ser diferente significativamente conjuntamente con el T6 (EEP 20%) que también mostró discrepancia versus el etanol. En este caso el extracto de propóleo no tuvo efecto ante esta bacteria en ninguno de los tiempos correspondientes ya que el halo mantuvo una zona de inhibición de 0mm. A diferencia del control de etanol que logró inhibir este microorganismo con un halo a las 24 horas de 2,67mm, 3,67mm (48 horas) y 4 mm en las últimas 72 horas

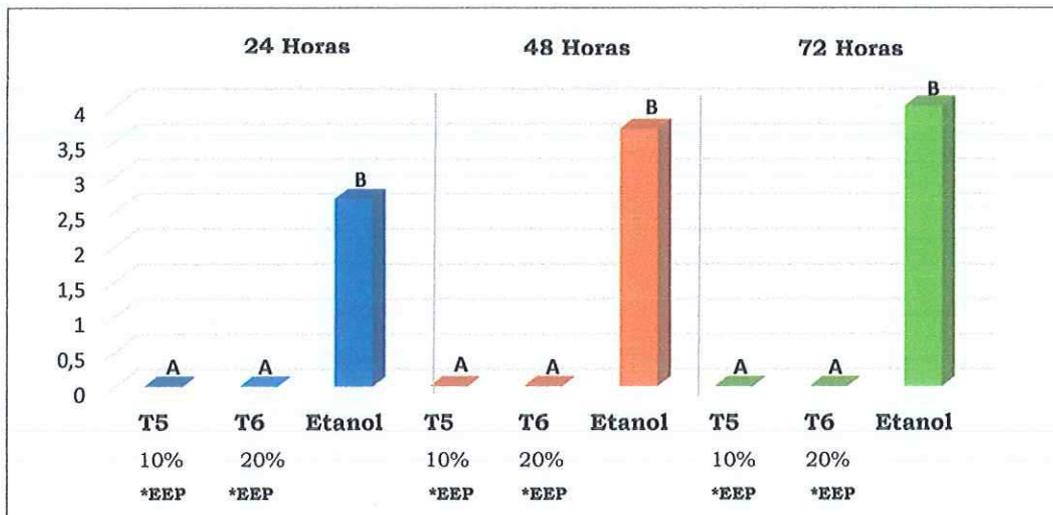


Gráfico 3: Evaluación del extracto de propóleo y control de etanol frente a *Staphylococcus aureus* durante 24, 48 y 72 horas.
*EEP: Extracto etanólico de Propóleo

4. DISCUSIÓN

Al propóleo se le atribuyen varias propiedades conforme se ha estudiado su mecanismo de acción frente bacterias grampositivas y gramnegativas en los últimos años. (Huaytalla *et al* 2018). Se empleó etanol para poder comprobar si él influía o no en la capacidad de inhibición.

Bucio y Martínez (2017) evaluaron dos tipos de extracto de propóleo, uno acuoso otro etanólico y un control de etanol los cuales ninguno tuvo efecto frente a *Salmonella*, esto coincide con esta investigación que, tanto el extracto de propóleo como el etanol no tuvieron efecto sobre *Salmonella spp.* en ninguno de los tiempos debido a que no hubo formación del halo. Sin embargo un estudio opuesto en España Serra y Lacalle (2012) demostraron que la actividad antimicrobiana fue elevada contra bacterias Gram-negativas una de ellas era *Salmonella*.

Las bacterias Gramnegativas ofrecen una mayor resistencia que las Grampositivas a la entrada de antimicrobianos, pues poseen una membrana celular externa compuesta por fosfolípidos y lipopolisacáridos que rodea la capa de peptidoglucano la cual desempeña un importante papel de barrera frente a determinados antimicrobianos.

El extracto de propóleo tampoco tuvo efecto inhibitorio frente a *Staphylococcus aureus* siendo esta bacteria resistente ante esta solución. Estos resultados se mostraron similares a Palomino *et al* (2010) en dicha investigación la bacteria *S. aureus* no presentó reducción del crecimiento en presencia de la fracción del propóleos. No obstante Bucio y Martínez (2017) en su ensayo lograron inhibir *S. aureus* con un halo de 1.7cm. Sin embargo su control de etanol fue negativo en el cual no se observó ningún efecto antimicrobiano así como sucedió con *E.coli* en esta investigación, pero *S. aureus*, fue inhibida en presencia del etanol con un halo de 4 mm a las 72 horas. En otro estudio de evaluación de muestras de propóleos Ferreira *et al* (2011) presentaron resultados de actividad antibacteriana positiva frente a *S. aureus*, con halos comprendidos entre 8,3 y 23,5 mm.

Cushnie y Lamb en una investigación en el año 2005 reportaron que la galangina aumenta la pérdida de potasio en *Staphylococcus aureus*, degradando la membrana citoplasmática de las bacterias por lisis osmótica. Debido a que el propóleo de esta investigación no logró inhibir esta bacteria se puede atribuir a que su porcentaje de este flavonoide (galangina) era bajo, por ende no logró desarrollar una actividad de inhibición. Sin embargo el control de etanol tuvo más potencia y logró disminuir el crecimiento bacteriano.

Uno de los mejores resultados de inhibición en presencia del extracto de propóleo con una concentración al 20% fue frente a *E. coli*, mostrando un halo dominante de 9,33 mm sobre los demás tratamientos. Coincidiendo con Gavanji *et al.* (2012) en reportes similares a estos resultados en el cual también evaluaron el propóleo ante este microorganismo logrando una inhibición frente

E. coli. En estudios más recónditos, se ha aplicado este extracto como conservante en alimentos y ha sido evaluado en carne de res molida que se expenden en el mercado de sauces IV de la ciudad de Guayaquil el cual redujo la proliferación bacteriana de este microorganismo Macías y Yunda (2015). De la misma manera Sagdic et al. (2007) evaluaron el efecto de extractos acuosos de propóleos sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *E. coli O157:H7* en jugo de manzana encontrando una importante reducción de gram negativos por efecto de la presencia de propóleos, lo cual indica que éste podría ser utilizado como un agente bactericida contra esta bacteria con un gran potencial como alternativa natural en la conservación de los alimentos, siempre y cuando sea organolépticamente aceptable (Vargas et al 2013).

Desde el punto de vista molecular el mecanismo de acción antibacteriano está dado por la inhibición de la división celular, interrupción del ADN, desorganización de la membrana citoplasmática e inhibición de la síntesis de la pared celular, causando bacteriólisis parcial e inhibiendo la síntesis proteica. La alteración de la pared celular conduce a la lisis de la bacteria en la primera etapa de acción los antibióticos, *E coli* a pesar de ser una Gramnegativo y poseer dos membranas lipídicas, los flavonoides del propóleo lograron conducirse en el sitio de acción, siendo capaz de llegar a la pared o la membrana de la bacteria inhibiéndola de manera parcial, mas no en su totalidad.

5. CONCLUSIONES

Se utilizó etanol concentrado al 96% en la extracción por ser la práctica tradicional que los apicultores realizan cuando elaboran sus extractos de propóleo, obteniendo una solución mediante método de maceración, siendo este proceso fácil, rápido y económico. Para obtener un antibiograma de la evaluación de este extracto se realizó el método de difusión en agar con discos conforme a la técnica CLSI resultando ser una práctica accesible para este ensayo de investigación

La actividad antimicrobiana de los extractos de propóleo con relación al control de etanol tuvo mejor resultado frente a *E. Coli* a partir de las primeras 24 horas y al cabo de 72 horas a una concentración del 20% EEP obtuvo una zona de inhibición dominante ante los demás tratamientos con un halo de 9,33 mm, es decir que este patógeno fue sensible ante el extracto de propóleo conforme se va aumentando el porcentaje de concentración, el propóleo tiene mejor resultado de inhibitorio. Debido a que la solución al 10% no tuvo un efecto sobre *Salmonella spp.* ni en *Staphylococcus aureus*. Sin embargo el control de etanol logró inhibir *S. aureus* con una zona de 4mm considerando estos dos patógenos como resistentes ante las propiedades del propóleo.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bucio-Villalobos, C; Martínez-Jaime, O. 2017. Actividad antibacteriana de un extracto acuoso de propóleo del municipio de Irapuato, Guanajuato, México (en línea). *Revista Agronomía Mesoamericana* 28(1):223-227. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en http://www.apitel.cl/productos/propoleo/cientificospropolis/propolis_y_salud.pdf
- Carrera, H. 2016. Evaluación del extracto etanólico de propóleo como conservante en queso cabaña (en línea). Zamorano, Honduras. Consultado 30 abr. 2019. Disponible en <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5947/1/AGI-2016-T011.pdf>
- Carrillo, M; Castillo, L; Rosalba, M. (2011). Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Propóleos de la Huasteca Potosina México (en línea). *Revista Información tecnológica*, 22(5) 21-28. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642011000500004
- Cushnie, T; Lamb, A (2005). Detection of Galangin-Induced Cytoplasmic Membrane Damage in *Staphylococcus aureus* by Measuring Potassium Loss (en línea). *Journal of Ethnopharmacology* 101, 243-248. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.014>
- Clayton K, Bush D, Keener K. 2016. Emprendimientos alimentarios: Métodos para la conservación de alimentos. PURDUE EXTENSION. EEUU (en línea). Consultado 10 ene. 2020. Disponible en <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/FS/FS-15-S-W.pdf>
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).2009. *Revista Chilena* 26(2): 144-150 (en línea). Consultado 10 ene. 2020. Disponible en <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v26n2/art05.pdf>
- Farré, R; Frasset, I; Sánchez, A. 2004. El própolis y la salud (en línea). *Revista Ars Pharmaceutica* 45(1):21-43. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en http://www.apitel.cl/productos/propoleo/cientificospropolis/propolis_y_salud.pdf
- Fatma, A; Kassem, Gehan; Atta-Alla, O. (2010). Propolis as a natural decontaminant and antioxidant in fresh oriental sausage (en línea).

Revista Veterinaria italiana, 46(2), 167-172. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en http://www.izs.it/vet_italiana/2010/46_2/167_ita.pdf

- Fernández-López J, Zhi N, Aleson-Carbonell L, Pérez-Alvarez JA, Kuri V (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs (en línea). *Meat Sci.* 69: 371-380. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/222083508_Antioxidant_and_antibacterial_activities_of_natural_extracts_Application_in_beef_meatballs
- Ferreira, E; Guzmán, D; Figueroa, J; Tello, J; Oliviera, D. 2010. Caracterización antimicrobiana y fisicoquímica de propóleos de *Apis Mellifera* L. (hymenoptera: apidae) de la región andina colombiana (en línea). *Red de revistas Científicas de America Latina, el caribe, España y Portugal.* 16(1): 175-183. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/3190/319027887013.pdf>
- Fonte-Carballo, L; Milián-Rodríguez, Y; Díaz-Solares, M. (2016). Potencialidad antimicrobiana y caracterización de propóleos de *Melipona beecheii* provenientes de dos fincas agroenergéticas (en línea). *Revista Pastos y Forrajes,* 39(2), 149-156. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942016000200010
- Gavanji, S., B. Larki, A.J. Zand, E. Mohammadi, M. Mehrasa, and A.H. Taraghian. 2012. Comparative effects of propolis of honey bee on pathogenic bacteria (en línea). *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 6:2408-2412. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26149083>
- Huaytalla, R; Gálvez, C; Carhuapoma, M; Alvarez, M; López, S. 2018. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de propóleo al 15% y 30% frente a cepas de *Lactobacillus acidophilus* (en línea). *Revista Estomatol Herediana.* 28(1):36-43. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en <http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v28n1/a05v28n1.pdf>
- López, A. 2004. Propoleo: composición y beneficios (en línea). In Pérez, N (ed.). *Imagen Veterinaria.* Coyoacán, DF, México. p. 41-44. Consultado 30 abr. 2019. Disponible en <http://www.fmvez.unam.mx/fmvz/imavet/v4n1a04/v4n1a04.pdf>
- Macías, A; Yunda, E. 2015. Aplicación de extracto de propóleo como agente conservante en carne de res molida que se expenden en el mercado de salsas IV de la ciudad de Guayaquil, Ecuador, UG (en línea). Consultado 30 abr. 2019. Disponible en

<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/8997/1/BCIEQ-T-0131%20Mac%C3%ADas%20Pico%20Ana%20Mar%C3%ADa%3B%20Yunda%20Guacho%20Esa%C3%BA%20Fernando.pdf>

NTE INEN 2794 (NORMA TECNICA ECUATORIANA). PRODUCTOS DE APICULTURA. PROPÓLEOS. REQUISITOS. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en <https://studylib.es/doc/7964425/nte-inen-2794---servicio-ecuatoriano-de-normalizaci%C3%B3n>

Palomino, Lady; Martínez, Julián; García, Carlos; Gil, Jesús; Durango, D. 2010. Caracterización Físicoquímica y Actividad Antimicrobiana del Propóleo en el Municipio de La Unión (Antioquia, Colombia) (en línea). Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín Universidad Nacional de Colombia Medellín, Colombia 63(1): 5373-5383. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/1799/179914617015.pdf>

Sagdic O, Silici S, Yetim H (2007). Fate of Escherichia coli and E. coli O157:H7 in apple juice treated with propolis extract. Ann. Microbiol (en línea). 57: 345-348. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/226179949_Fate_of_Escherichia_coli_and_E_coli_O157H7_in_apple_juice_treated_with_propolis_extract

Serra, B.J., and A. Lacalle. 2012. The antimicrobial effects of propolis collected in different regions in the Basque Country (Northern Spain) (en línea). 28:1351-1358. Consultado 10 ene. 2020. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22805915>

Vargas, R; Torrescano, U; Sánchez, A. 2013. El propóleo: Conservador potencial para la industria alimentaria (en línea). Red de revistas científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal 38(10):705-711. Consultado 30 abr. 2019. Disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/339/33929482003.pdf>