

UNIVERSIDAD DE SONORA

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**

**Evaluación de la Actividad Antibacteriana de Propóleos
de Caborca y Pinocebrina sobre la viabilidad de
Staphylococcus aureus y *Vibrio cholerae* no O1**

TESIS PROFESIONAL PRÁCTICA

Que para obtener el Título de

QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

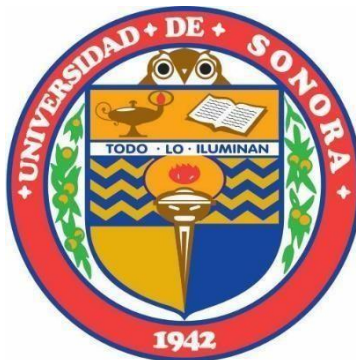
Presenta:

Naomi Mizugay Morúa

Hermosillo, Sonora

Junio 2018

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como
openAccess

APROBACIÓN

Los miembros del jurado designado para revisar la Tesis Profesional de Naomi Mizugay Morúa la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el Título de Químico Biólogo Clínico.

M.C. Moisés Navarro Navarro

(Título y nombre del Profesor)

Presidente

M.C. María Lucía Rasco Durán

(Título y nombre del Profesor)

Secretario

Dr. Eduardo Ruiz Botes

(Título y nombre del Profesor)

Vocal

M.en C Ana Colón Andrade A.

(Título y nombre del Profesor)

Suplente

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	5
LISTA DE FIGURAS	6
RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
OBJETIVOS	12
REVISIÓN DE LITERATURA	13
Propóleos	13
Origen geográfico y botánico	14
Composición química	14
Actividad Antibacteriana	18
Staphylococcus aureus	20
Generalidades	20
Infecciones nosocomiales	20
Infecciones adquiridas en la comunidad	20
Epidemiología	21
Fisiopatología	21
Tratamiento	22
Resistencia a los antibióticos	23
Vibrio cholerae no O1	24
Generalidades	24
Cólera	24
Epidemiología y Fisiopatología	25
Tratamiento	25
Resistencia a los antibióticos	26
METODOLOGÍA	27
Diseño Experimental	27
Cepas Bacterianas	27
Medios de cultivo	27
Preparación del Inóculo Bacteriano	27
Solución Concentrada del Extracto Metanólico de Propóleos de Caborca (EMPC)	27
Solución de Trabajo de EMPC	28

Solución Concentrada de Pinocebrina	28
Solución de Trabajo de Pinocebrina	28
Actividad Antibacteriana	28
Definición de Actividad Bactericida	28
Determinación de la Mínima Concentración Bactericida	29
Análisis Estadístico	29
RESULTADOS	30
Efecto de PC sobre la viabilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> 6538P	30
Efecto de Pinocebrina sobre la viabilidad de <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Efecto de PC sobre la viabilidad de <i>Vibrio cholerae</i> no O1	35
Efecto de Pinocebrina sobre la viabilidad de <i>Vibrio cholerae</i> no O1	38
DISCUSIÓN	42
CONCLUSIONES	45
RECOMENDACIONES	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Composición promedio de propóleos	9
2.	Principales compuestos detectados e identificados por HPLC-MS en propóleos sonorenses	18
3.	Actividad antibacteriana de PC frente a cultivos bacterianos de <i>Staphylococcus aureus</i> 6538P	31
4.	Expresión logarítmica del desarrollo de cultivos bacterianos con tratamiento de EMPC contra <i>Staphylococcus aureus</i> 6538P	32
5.	Actividad antibacteriana de Pinocembrina frente a cultivos bacterianos de <i>Staphylococcus aureus</i> 6538P	34
6.	Expresión logarítmica del desarrollo de cultivos bacterianos con tratamiento de Pinocembrina contra <i>Staphylococcus aureus</i> 6538P	35
7.	Actividad antibacteriana de PC frente a cultivos bacterianos de <i>Vibrio cholerae</i> no O1	37
8.	Expresión logarítmica del desarrollo de cultivos bacterianos con tratamiento de EMPC contra <i>Vibrio cholerae</i> no O1	38
9.	Actividad antibacteriana de Pinocembrina frente a cultivos bacterianos de <i>Vibrio cholerae</i> no O1	40
10.	Expresión logarítmica del desarrollo de cultivos bacterianos con tratamiento de Pinocembrina contra <i>Vibrio cholerae</i> no O1	41

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Estructura química de algunos flavonoides	15
2.	Estructura química de compuestos encontrados en propóleos de regiones de climas templados	16
3.	Estructura química de los principales compuestos aislados de los propóleos del desierto de Sonora	17
4.	Efecto de PC sobre la viabilidad de <i>S. aureus</i> 6538P tratado con diferentes concentraciones durante 24 horas de incubación	30
5.	Efecto de Pinocembrina sobre la viabilidad de <i>S. aureus</i> 6538P tratado con diferentes dosis durante 24 horas de incubación	33
6.	Efecto de PC sobre la viabilidad de <i>Vibrio cholerae</i> no O1 tratado con diferentes concentraciones durante 24 horas de incubación	36
7.	Efecto de Pinocembrina sobre la viabilidad de <i>Vibrio cholerae</i> no O1 tratado con diferentes dosis durante 24 horas de incubación	39

RESUMEN

En las tres décadas pasadas, se ha incrementado a nivel mundial la problemática de la resistencia bacteriana a los antibióticos, por lo que urgen nuevos antimicrobianos, ya sea de fuentes naturales o semi-sintéticas, para el tratamiento y prevención de diversas enfermedades infecciosas que no se han erradicado o controlado. El propóleo es una sustancia de origen natural elaborada por las abejas a partir de secreciones resinosas de diferentes vegetales. Éste ha sido ampliamente utilizado desde tiempos remotos con diversas finalidades, actualmente se investigan sus efectos biológicos. Estudios recientes informaron actividad antibacteriana de los propóleos sonorenses y sus constituyentes frente a *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*, pero aún no se conoce si dicha actividad ejerce un efecto bacteriostático o bactericida. En éste trabajo se evaluó la actividad antibacteriana causada por Propóleos de Caborca (PC) y el flavonoide Pinocembrina sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P y *Vibrio cholerae* no O1, mediante el método de extensión en agar para cuenta viable. Los recuentos se realizaron a los tiempos 0, 12 y 24 horas de incubación y se probaron diferentes concentraciones de PC y pinocembrina. Los resultados se graficaron utilizando el software Graph Pad Prism. Se consideró un efecto bactericida cuando se presentó un descenso de 3 log₁₀ o un 99.9% en la población bacteriana inicial después del tratamiento. Como control de actividad bactericida se utilizó gentamicina (12.0 µg/mL). Se obtuvo como resultado que el PC presenta un efecto bacteriostático sobre *S. aureus*, mientras que pinocembrina muestra un comportamiento bactericida dependiente de la concentración. En lo correspondiente a *V. cholerae* no O1, el PC presenta un comportamiento bacteriostático, mientras que pinocembrina presenta actividad bactericida dependiente de la concentración.

INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana a los antibióticos es un problema de salud mundial que se encuentra en constante evolución. Este fenómeno es de selección natural a través de mutaciones al azar y se transmite de bacteria a bacteria mediante genes de resistencia a través de la transferencia horizontal de material genético por intercambio de plásmidos, transposones o secuencias de inserción. Esta capacidad de las bacterias ya existía desde antes del descubrimiento y utilización de los antimicrobianos, pero con la introducción de éstos en el tratamiento de enfermedades infecciosas, dicha selección natural ha tenido un surgimiento, debido a lo que se llama “presión selectiva” por el uso indiscriminado de los antibióticos en contra de las bacterias. La resistencia a los antibióticos en una bacteria causante de enfermedades infecciosas disminuye las posibilidades de obtener la cura clínica y la erradicación bacteriológica aumentando los costos del tratamiento, la morbilidad y la mortalidad, por lo que es importante encontrar un tratamiento adecuado (Rodríguez-Noriega y col., 2014; Sussmann y col., 2001). Debido a esto, la industria farmacéutica se encuentra en la búsqueda de tratamientos alternativos provenientes de fuentes naturales (Madigan y col., 2004).

Las plantas, como una de estas fuentes, han sido bien documentadas por su uso medicinal por miles de años. El conocimiento asociado con la medicina tradicional ha promovido investigaciones más profundas de plantas medicinales como fármacos potenciales, y ha llevado al aislamiento de muchos compuestos naturales con actividad biológica. Los materiales de la medicina herbolaria consisten en jugos, gomas, aceites esenciales y muchas otras sustancias naturales que contienen componentes bioactivos, partes de plantas aéreas y subterráneas y otros materiales de las plantas en estado crudo o como preparaciones (Russo, 2018).

Por otra parte, las plantas se interrelacionan con las abejas de diversas maneras, debido a que éstas tienen un papel muy importante ecológicamente hablando, porque llevan a cabo la polinización para hacer florecer a las plantas, actividad de transformación, progreso, cambio y adaptación que han realizado por más de 100 millones de años. Esto se debe particularmente a que habitan prácticamente cualquier lugar que tenga flora y fauna y a que han desarrollado mecanismos sofisticados de comunicación y reclutamiento para la aplicación y manufacturación química de productos específicos tales como la miel, la cera, propóleos, el polen, venenos y la jalea real (Alday y col., 2016; Bankova, 2005).

Las abejas, de acuerdo con su importante papel como vectores de polen en cosechas agrícolas y el impacto de los productos de la colmena para la sociedad humana, han ganado una importante posición en diferentes civilizaciones a través de la historia y regiones geográficas.

El comportamiento de colaboración de las abejas en el interior de la colmena, es reflejado por la contribución de cada individuo en el mantenimiento de la colonia, dando como resultado una comunidad adecuada y saludable denominada inmunidad social comunitaria, la cual se caracteriza por llevar a cabo prácticas de higiene acompañadas por la eliminación de crías enfermas, para evadir la entrada de agentes patógenos y parásitos al interior de la colmena. Sin embargo, para estos organismos existe un riesgo importante que es la transmisión de enfermedades, debido a la interacción continua entre ellos. Es por eso que, con el fin de protegerse, las abejas recolectan resinas vegetales para producir una sustancia llamada propóleos, la cual tiene alta variabilidad en su apariencia física, color y consistencia, dependiendo de varios factores como el origen geográfico, tipos de fuentes vegetales, tiempo de recolección y temporada del año (Galeotti y col., 2018). Los productos de la colmena que han sido valiosos para la sociedad humana a través de los tiempos son el propóleos, la miel, la cera y la jalea real. De manera general, las abejas *Apis mellifera* (europeas del oeste) elaboran propóleos mediante la recolección de resinas que se encuentran en hojas, brotes, tricomas y otras estructuras de exudados de plantas. Una vez recogidas las mezclan con cera y secreciones glandulares salivales que dan como resultado un material complejo resinoso químicamente flexible que utilizan para sellar grietas en la colmena y evitar la entrada de intrusos. Asimismo, sirve para mantener una temperatura constante, un ambiente aséptico interno y proteger a la colmena de infecciones producidas por bacterias (Alday y col., 2016; Galeotti y col., 2018). El significado de la palabra propóleos (del Griego *pro* = en defensa o para y *polis* = ciudad) refleja la importancia que tiene dicha sustancia para estos insectos (AL-Ani y col., 2018; Bankova, 2005).

En las últimas cuatro décadas el propóleos ha atraído la atención de los investigadores, debido al amplio intervalo de valiosas actividades con potencial farmacológico, para la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades (Bankova y col., 2016).

De manera general este material está formado por resinas, cera, aceites esenciales y polen. En la Tabla 1 se muestra la composición química promedio de los propóleos.

Tabla 1. Composición química general de propóleos.

ELEMENTOS	PORCENTAJE
Resinas y bálsamos	50-55 %
Cera	30-40 %
Aceites aromáticos volátiles	5-10 %
Polen	5 %
Sustancias orgánicas y minerales	5 %

(Fuente adaptada de Burdock, 1998; Castaldo y Capasso, 2002).

La composición química del propóleo varía según su tipo y origen geográfico y su actividad biológica se debe principalmente a que en sus extractos se encuentran compuestos tales como flavonoides, ácidos fenólicos, ésteres, aldehídos y alcoholes, obtenidos de sustancias derivadas de las plantas (Farré y col., 2004, Galeotti y col., 2018).

Los flavonoides son metabolitos secundarios que confieren rasgos fenotípicos a las plantas para hacerlas mayormente atractivas para la polinización (Drago, 2007). Representan un grupo de compuestos fenólicos ampliamente distribuidos en el reino vegetal y aportan beneficios a la salud humana. Se caracterizan por tener en su estructura el núcleo formado por el 2-fenilbenzo-gamma-pirano, incluyendo dos anillos aromáticos y un anillo pirano heterocíclico (Russo, 2018).

La gran variabilidad de los flavonoides se debe a diferencias químicas en las estructuras de sus anillos, a su estado de oxidación-reducción y a las diferentes posiciones de los grupos funcionales que pueden ser sustituidos, de tal manera, que se clasifican en subclases tales como: antocianidinas, flavonoles, isoflavonoles, flavonas, isoflavonas, flavanos, isoflavanos, flavanonas, auronas, benzofuronas y cumarinas entre otras (Havsteen, 2002, Russo, 2018).

Los flavonoides reciben nombres semi-sistemáticos, sistemáticos y comunes (Cushnie y Lamb, 2005). Pinocembrina, kaempferol, quercetina, galangina, crisina, pinobanksina y acetato de pinobanksina son nombres comunes de flavonoides presentes en los propóleos de climas templados.

Por otra parte, diversos estudios han demostrado que los extractos alcohólicos de propóleos poseen un amplio intervalo de actividades antimicrobianas en contra de diversos microorganismos patógenos (Gram positivos y Gram negativos) que son causantes de infecciones en animales y humanos como *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella* spp, incluyendo virus (herpes simple HSV-1 y HSV-2 e influenza) y hongos (Boyanova y col., 2003; Castaldo y Cappasso, 2002; Saeed y col., 2017; Tolosa y Cañizares, 2002; Velazquez y col., 2007).

Al parecer la actividad antibacteriana de propóleos es dependiente del sinergismo entre algunos flavonoides, ácidos fenólicos y otros compuestos; sin embargo, hay diversos estudios en los que se demuestra que pinocembrina, galangina y acetato de pinobanksina, constituyentes de propóleos, pueden inhibir el desarrollo de diversas especies bacterianas. El mecanismo de acción antimicrobiano no se conoce hasta el momento, pero existen algunas posibles causas como: la inhibición de la enzima RNA polimerasa, la alteración del potencial de membrana, la

desorganización del citoplasma, de la membrana citoplasmática y de la pared celular bacteriana, así como también la inhibición de la síntesis de proteínas (Pepeljnjak y Kosalec, 2004).

El presente trabajo se enfoca en la evaluación de la actividad antibacteriana de Propóleos de Caborca y el flavonoide Pinocebrina en contra de *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae* no O1, con el objetivo de determinar si el efecto de dichos compuestos es de tipo bacteriostático o bactericida para obtener una sustancia de origen natural con potencial farmacológico, que sirva de diseño para la síntesis de nuevos antimicrobianos. La selección de estas bacterias se debe a que son importantes patógenos a nivel mundial, causantes de enfermedades no erradicadas y resistentes a los antibióticos de uso común.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la actividad antibacteriana generada por el Extracto Metanólico de Propóleos de Caborca (EMPC) y también la producida por el flavonoide Pinocembrina sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* 6538P y *Vibrio cholerae* no O1.

Objetivos Específicos

- Evaluar la actividad antibacteriana producida por EMPC y Pinocembrina en distintos tiempos y concentraciones contra dichas bacterias.
- Determinar, si existe algún tipo de actividad, si es de tipo bacteriostática o bactericida.

REVISIÓN DE LITERATURA

Propóleos

El propóleos ha sido extensamente utilizado en la medicina tradicional por muchos años, y hay evidencia sustancial que indica que tiene propiedades como antiséptico, antifúngico, antibacterial, antiviral, antiinflamatorio y antioxidante (Galeotti y col., 2018). Por ejemplo, los egipcios conocían sus propiedades y lo utilizaban para embalsamar cadáveres; en la Edad Media se utilizó para la desinfección oral, como antiséptico y como cicatrizante de heridas. Los incas lo utilizaron por sus propiedades antipiréticas y en Europa, entre el siglo XVII y XX se hizo muy popular debido a su actividad antibacteriana (Castaldo y Cappasso, 2002). En Mesoamérica, el cultivo de *Melipona beecheii* (abeja sin aguijón) y el consumo de miel fueron prácticas comunes en tiempos Pre-Colombinos. Después de la conquista de México en 1521, la apicultura con la abeja europea del Oeste (*Apis mellifera*), fue también desarrollada en distintas regiones. En la actualidad, México es uno de los principales criadores de abejas en el mundo; los estados de Yucatán, Campeche, Jalisco y Chiapas son los mayores proveedores (Guzmán-Gutiérrez y col., 2018).

Diversos estudios científicos han demostrado el amplio intervalo de actividades con potencial farmacológico que presenta el propóleos, destacándose como inmuno-modulador, anti-proliferativo, anestésico local, hepato-protector, radio-protector, quimio-preventivo, neuro-protector, antiviral, antiinflamatorio y antioxidante. Su actividad antimicrobiana, se conoce desde hace miles de años, y como consecuencia de eso, se ha integrado a los productos medicinales. Sin embargo, los efectos farmacológicos de propóleos, están marcados fuertemente por su composición química y dependen del lugar en dónde fue recolectado, el tipo de vegetación, temporada del año y de la especie de abeja que llevó a cabo la recolección. Por consiguiente, los propóleos son muy variables y complejos. Existen diferencias químicas en el propóleos dependiendo de las áreas de producción. Esta diversidad química se relaciona directamente a su bio-actividad y potenciales usos de este producto, por ejemplo, es posible encontrar propóleos de diferentes colores, sabores y texturas (Guzmán-Gutiérrez y col., 2018; Nina y col., 2015).

A través del desarrollo de la química farmacéutica, el propóleos dejó de utilizarse, pero recientemente, se ha observado un resurgimiento de su uso para la investigación y posibles aplicaciones en biología y medicina, debido a esto, ha aumentado su demanda por sus aportaciones en beneficio a la salud y su uso en cosméticos y productos alimenticios (Farré y col., 2004, Nina y col., 2015).

Origen Geográfico y Botánico

Las abejas eligen a las plantas para su recolección de resinas dependiendo de cada región geográfica. La recolección de resinas y exudados por parte de las abejas es difícil de observar, ya que generalmente se realiza en las partes altas de los árboles (Bankova y col., 2000). Así como la miel y el polen son referidos por su origen botánico, lo mismo sucede con los propóleos. La observación del comportamiento de las abejas, el análisis del polen, de las estructuras de plantas, flavonoides y otros compuestos presentes en los propóleos, permite relacionarlos con su origen botánico (Bankova y col., 2000; Kumazawa y col., 2003).

Se ha determinado que los propóleos que son producidos en zonas templadas, provienen principalmente de las especies de álamos (*Poppulus sp.*) y abedules. En regiones mediterráneas, las fuentes botánicas son los *Poppulus sp.* y *Cistus sp.* (Farré y col., 2004). En las regiones tropicales, como en Cuba y Venezuela, se han estudiado los propóleos que provienen de las especies de *Clusia minor* y *Clusia rosea*. En las regiones del sureste y centro de Brasil, las principales fuentes botánicas de los propóleos son las especies de los géneros *Weinmania*, *Baccharis*, *Diclenia*, *Vernonia*, *Hyptis*, *Schinus* y *Marcia* (Salatino y col., 2005).

En lo que se refiere a los propóleos procedentes de regiones semiáridas y áridas, existen pocos estudios relacionados con su origen botánico, como por ejemplo, en las regiones de Chile, provienen de las plantas de las familias *Lauraceae*, *Anacardiaceae*, *Asteraceae*, *Rhamnaceae*, *Rosaceae* y *Monimiaceae* (Valcic y col., 1998). En el desierto de Sonora, que es una zona con gran biodiversidad de plantas, solo se ha estudiado una pequeña región del mismo. Las principales fuentes de recolección de resinas son de las especies de plantas de *Ambrosia deltoidea* (huizapol, chicurrilla) y *Encelia farinosa* (incienso, hierba ceniza) (Wollenweber y Buchmann, 1997). El conocimiento de la fuente botánica en cada región geográfica es importante, si se quieren producir propóleos químicamente homogéneos (Velazquez y col., 2007).

Composición Química de Propóleos. Los componentes químicos en los propóleos dependen de la flora local cercana al sitio donde se encuentra la colmena (Bosio y col., 2003). Las abejas recolectan resinas en un perímetro de 3-4 km alrededor de la colmena (Menezes, 2005). Debido a las distintas características fitogeográficas, existe una gran diversidad en la composición química de los propóleos (Bankova, 2005).

La gran diversidad en los propóleos exige que durante su estudio se debe de tomar en cuenta la temporada del año de la recolección y su origen geográfico. Es conocido que en los propóleos Europeos predominan los flavonoides, agliconas, ácidos fenólicos y sus ésteres. En

los propóleos brasileños se encuentran principalmente, derivados prenilados del ácido-p-cumárico y acetofenonas, diterpenos y flavonoides, derivados del ácido cinámico, también, benzofuranos, sesquiterpenos, monoterpenos y flavonoides (Guzmán-Gutiérrez y col., 2018; Salatino y col., 2005). En la Figura 1 se muestra la estructura química de algunos flavonoides.

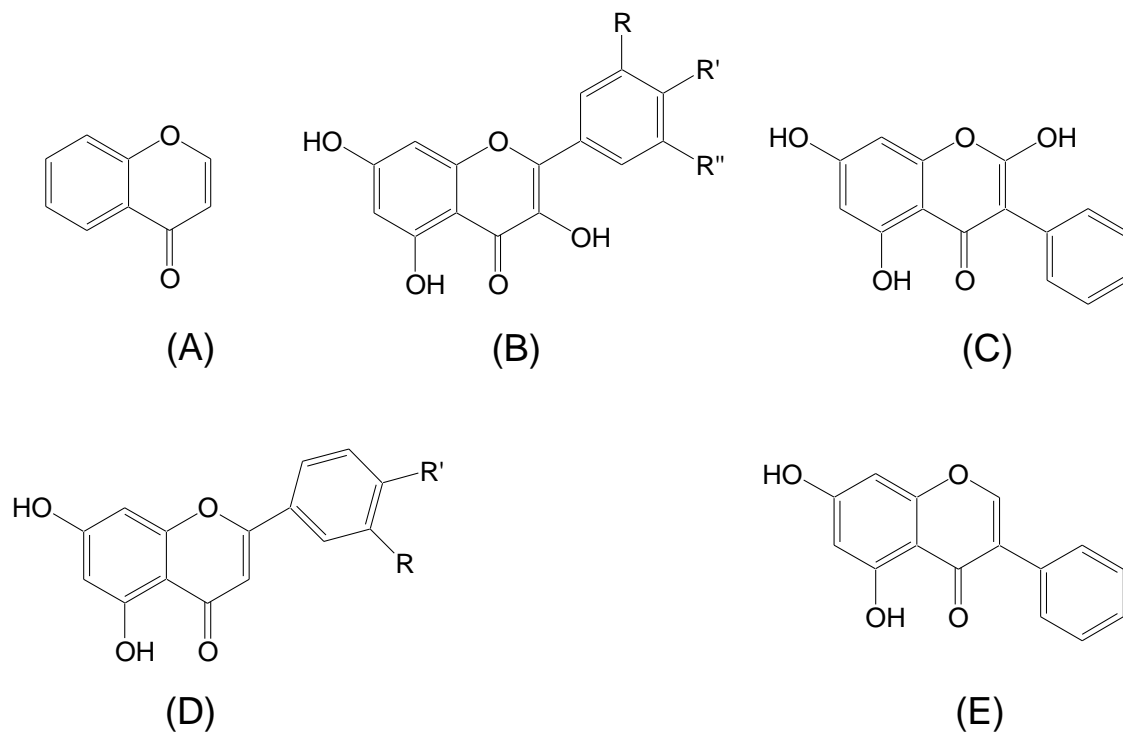


Figura 1. Estructura química de algunos flavonoides. **(A)** Benzo- γ -pirona. **(B)** Flavonoles: (ejemplos kaempferol, R-H, R'-OH, R''-OH, quercetina, R-OH, R'-OH. **(C)** Isoflavonoles. **(D)** Flavonas, ejemplos: Crisina R-H, R'-H, luteolina R-OH, R''-OH. **(E)** Isoflavonas (Navarro, 2007).

A diferencia de los propóleos cubanos, en los cuales se identificaron benzofenonas polyisopreniladas. De los propóleos chilenos se aislaron compuestos de los cuales los principales pertenecen a los fenilpropanoides, benzaldehídos, dehidrobenzofuranos y clases de benzopiranos. En los propóleos turcos se encuentran como constituyentes principales la pinocembrina, pinobanksina, 3-O-acetato de pinobanksina, crisina, galangina, ácido-p-coumárico, ácido ferúlico, benzil-coumarato y ferulato, CAPE (Éster fenílico del ácido cafeico) y cinamilcinamato (Popova y col., 2005), como se puede observar en la Figura 2.

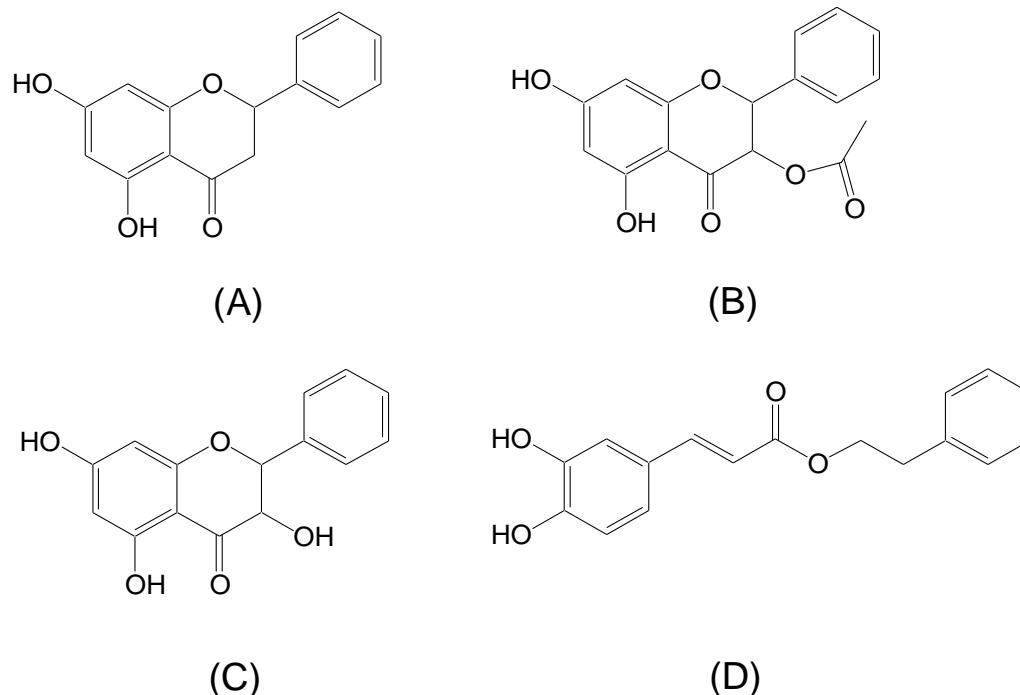


Figura 2. Estructura química de compuestos encontrados en propóleos de regiones de clima templado. (A) Pinocembrina, (B) 3-O-Acetato de Pinobanksina, (C) Pinobanksina, (D) Éster fenílico del ácido cafeico (Fuente: Navarro, 2007).

En las regiones áridas y semiáridas, como por ejemplo algunas de Egipto, los propóleos contienen ácidos fenólicos y sus ésteres, chalconas, flavonoides, ácidos alifáticos y derivados del tetrahidrofurano (Lofty, 2006).

En el caso de los propóleos mexicanos, se han aislado diferentes tipos de compuestos tales como, fenilalilflavanonas, diarilpropanos, derivados del 1,3-diarilpropenos, flavanonas, isoflavanos y pterocarpanos (Guzmán-Gutiérrez y col., 2018). México está incluido entre los cinco países del mundo con grandes riquezas en especies endémicas y ésta posición se considera relacionada con el amplio rango de diversidad topográfica y la variedad de zonas climáticas que se encuentran dentro del norte (Desiertos americanos y bosques de Mesoamérica) (Alday y col., 2016). El propóleos recolectado de diferentes regiones ecológicas de México ha sido estudiado, incluyendo muestras del Norte (Desierto de Sonora), bosques tropicales y de las regiones del Sur (Regiones semi-áridas y Sierras templadas). Uno de los tipos de propóleos mexicano que se ha investigado a mayor profundidad es el Propóleos del Desierto de Sonora. Desde hace una década, diversos estudios han reportado las actividades biológicas y sus principales constituyentes de las muestras recolectadas de regiones áridas y semi-áridas del Estado de

Sonora (Ures, Pueblo de Álamos y Caborca) (Alday y col., 2016). Hernández y col., (2007) reportaron que los principales constituyentes químicos de los propóleos de Sonora estaban conformados por ácidos fenólicos, flavonoides y sus ésteres derivados, pinocembrina, crisina y 3-O-Acetato de pinobanksina que fueron los más importantes constituyentes en éstas tres muestras en particular, la presencia de rutina, naringenina y hesperetina, fue exclusivamente encontrada en el propóleos de Pueblo de Álamos; mientras que xanthomicrol y 3-demetoxisudaquitin, fueron únicamente detectados en el propóleos de Caborca. De acuerdo con Wollenweber y Buchmann, la presencia de xanthomicrol y 3-demetoxisudaquitin es una característica de los exudados de plantas de *Ambrosia deltoidea* una planta que puede estar implicada como fuente botánica del propóleos de ésta región debido a su amplia distribución a lo largo del Desierto de Sonora. En la Figura 3, se muestran algunas estructuras químicas de compuestos aislados de propóleos sonorenses.

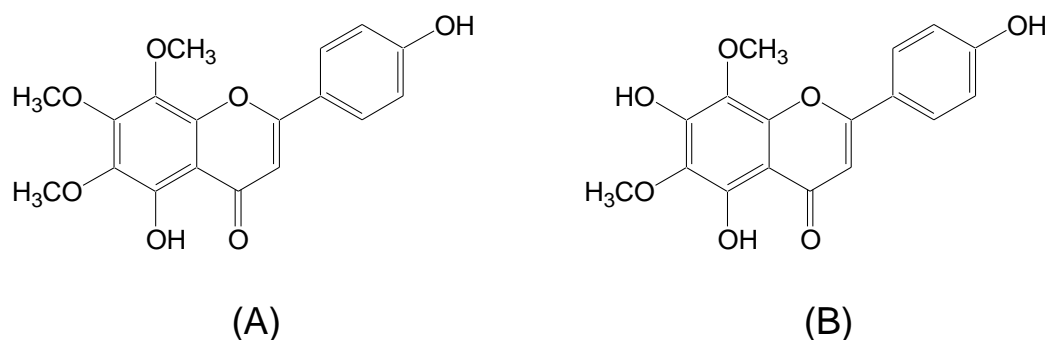


Figura 3. Estructura química de los principales compuestos aislados de los propóleos del Desierto de Sonora. **(A)** Xanthomicrol, **(B)** 3'-demetoxisudaquitín (Fuente: Navarro, 2007).

Por otro lado, la presencia del Éster Fenético del Ácido Caféico (CAPE) fue únicamente identificado en la muestra de propóleos de Ures, el cual es un compuesto químico detectado en propóleos de zonas templadas, en adición a cantidades más altas de pinocembrina, crisina y 3-O- acetato de pinobanksina encontrados en ésta muestra (Alday y col., 2016).

En la siguiente gráfica (Tabla 2), se muestran los principales compuestos detectados e identificados por HPLC-MS en propóleos de tres regiones sonorenses (Pueblo de Álamos, Ures y Caborca) (Hernández y col., 2007).

Tabla 2. Principales compuestos detectados e identificados por HPLC-MS en propóleos sonorenses.

COMPUESTO	PU	PC	PPA
Rutina	-	-	+
Pinobanksina	+	+	+
Naringenina	-	-	+
Hesperetina	-	-	+
3'-demetoxisudaquitín	-	+	-
Pinocembrina	+	+	+
3-Acetato de pinobanksina	+	+	+
Éster fenílico del ácido cafeico (CAPE)	+	-	-
Xanthomicrol	-	+	+
Crisina	+	+	+
Galangina	+	+	+
Acacetina	+	-	+

Abreviaturas: PU = Propóleos de Ures, PC = Propóleos de Caborca y PPA = Propóleos de Pueblo de Álamos. Los compuestos se detectaron mediante espectrometría de masas y por cromatografía líquida de alto rendimiento en los propóleos de estas regiones. (Fuente: Hernández y col., 2007).

Actividad Antibacteriana. La actividad antibacteriana ocurre mediante la acción de un antimicrobiano en contra de microorganismos patógenos y no patógenos. Un antimicrobiano es una sustancia que tiene la capacidad de eliminar o interrumpir el crecimiento y la proliferación de diversas especies microbianas; es decir, puede actuar como bactericida o presentar un efecto bacteriostático. Para que un agente antibacteriano sea considerado como bactericida debe matar un 99.9 % de la población en un rango de 18 a 24 horas, mientras que uno bacteriostático sólo detiene el desarrollo de la bacteria y lo mantiene en una fase estacionaria. El conocimiento de la medicina tradicional nos indica que los agentes bactericidas son, por lo tanto, preferibles y más eficaces que los bacteriostáticos (Pankey y Sabath, 2004).

Para poder llevar a cabo la medición de la actividad antibacteriana se conocen varios métodos, tales como la concentración mínima inhibitoria (CMI), la concentración mínima bactericida (CMB), la curva de muerte-tiempo (CMT) y la evaluación del suero de actividad bactericida (TSB). Cuando se quiere determinar el nivel de resistencia-susceptibilidad en cantidad de un cultivo bacteriano, la CMI es el método más adecuado. Se utiliza la curva de Muerte-tiempo para conocer la cinética de la acción antibacteriana y ayuda a determinar si la muerte de la bacteria es dependiente de la concentración y del tiempo. La evaluación del suero de actividad bactericida (TSB) es el marcador menos utilizado para evaluar la actividad antibacteriana, y

consiste en evaluar diferentes concentraciones del agente capaces de matar al 99.9 % del inóculo bacteriano después de 18 a 24 horas de incubación (Pankey y Sabath, 2004).

En el caso del propóleo, diversos estudios han documentado su función biocida, incluyendo actividad antibacteriana, antifúngica, antiviral, antitumoral, de inmunomodulación y antiinflamatoria. También ha sido utilizado como tratamiento alternativo para infecciones. Con respecto a la acción bactericida de los extractos de propóleo, se ha demostrado que es efectivo principalmente frente a levaduras y bacterias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* spp, así como también Gram-negativas como *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus* (Albino-Táutica y col., 2017; Enriquez y col., 2004; Fierro, 2000).

Velázquez y colaboradores (2007), evaluaron la actividad antibacteriana de propóleos de Pueblo de Álamos, Ures y Caborca, Sonora mediante el método de microdilución en caldo. Los propóleos de Ures y Caborca (PU y PC) presentaron actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* con CMI de 100 µg/mL y 200 µg/mL, respectivamente. Además, el propóleo de Ures logró inhibir el desarrollo de *Listeria monocytogenes* con una CMI de 400 µg/mL. A las concentraciones probadas (50-400 µg/mL), ningún extracto inhibió el desarrollo (CMI 90 %) de *E. coli* y *P. aeruginosa*.

Los constituyentes identificados que se encontraron en mayor cantidad en los propóleos fueron los flavonoides pinocembrina, 3-O-acetato de pinobanksina y crisina. Así como también CAPE, y naringenina. CAPE, pinocembrina, 3-O-acetato de pinobanksina y naringenina inhibieron el desarrollo de *Staphylococcus aureus* 6538P. De los compuestos detectados en las muestras de propóleos, el CAPE logró inhibir el desarrollo bacteriano a una menor concentración. CAPE inhibió el desarrollo de *Listeria monocytogenes* y *Enterococcus faecalis* (CMI₉₀ 0.4 mM), pero fue incapaz de inhibir el desarrollo de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Velázquez y col., 2007).

También se obtuvo que los siguientes compuestos: crisina, rutina, hesperetina, xanthomicrol, acacetina y galangina, no tuvieron actividad antibacteriana frente a *S. aureus* 6538P ni tampoco frente a *E. coli* 25922 a ninguna de las concentraciones probadas (0.1-0.8 mM). Pinocembrina, 3-O-acetato de pinobanksina y naringenina tampoco inhibieron el desarrollo de *E. coli* 25922 a ninguna de las concentraciones ensayadas (Velázquez y col., 2007).

Navarro y colaboradores (2013), evaluaron la actividad anti-*Vibrio* de los propóleos recolectados de Ures, Caborca y Pueblo de Álamos. El PU mostró la mayor actividad antibacteriana mediante la concentración mínima inhibitoria (CMI₅₀) < 50 µg/mL en contra de *Vibrio* sp. (PU>PC>PPA). El PU inhibió significativamente el crecimiento del serotipo de *Vibrio cholerae* O1 Inaba (CMI₅₀) < 50 µg/mL y el serotipo de *Vibrio cholerae* O1 Ogawa (CMI₅₀) 100

μg/mL en forma dependiente de la concentración. Los constituyentes del PU, como la galangina, el CAPE y pinocembrina exhibieron una potente actividad inhibitoria en el crecimiento de las cadenas de *Vibrio cholerae* no O1 (CMI₅₀) 0.05–0.1 mmol/L, y también en contra del serotipo O1 Ogawa.

Staphylococcus aureus

Generalidades

Staphylococcus aureus es un microorganismo de gran importancia médica. Desde hace muchos años ha sido reconocido como uno de los principales agentes patógenos para el humano (Bustos-Martínez y col., 2006). Debido a su alta incidencia, morbilidad y resistencia antimicrobiana, las infecciones que causa son una creciente preocupación para la comunidad (Bamberger y Boyd, 2005).

Se estima que aproximadamente el 15% de la población adulta porta este microorganismo de manera persistente durante su vida. Algunas poblaciones tienden a tener mayores tasas de colonización de este patógeno (arriba del 80%), tales como trabajadores de instituciones de la salud, personas que utilizan agujas regularmente (diabéticos o personas que usan drogas intravenosas), pacientes hospitalizados e individuos inmunocomprometidos (Taylor y Unakal, 2017).

Las infecciones causadas por esta bacteria, pueden ser adquiridas tanto en hospitales (infecciones nosocomiales) como en la comunidad (Taylor y Unakal, 2017) y las cepas que las causan se identifican como ‘cepas SARM adquiridas en hospitales’ (Community-Acquired MRSA, SARM-AH) y ‘cepas SARM adquiridas en la comunidad’ (Community-Acquired MRSA, SARM-AC) (Bustos-Martínez y col., 2006).

Infecciones nosocomiales. Las infecciones nosocomiales son de gran trascendencia económica y social por su importancia clínica y epidemiológica, debido a que presentan altas tasas de morbilidad y mortalidad. Se definen como aquellas infecciones que no estaban presentes ni en periodo de incubación al momento en que el paciente ingresó al hospital (Bustos-Martínez y col., 2006).

Infecciones adquiridas en la comunidad. Hasta hace pocos años las infecciones por SARM generalmente se adquirían dentro de los hospitales. Sin embargo, a finales de los años

90, emergieron cepas SARM en adultos y niños sanos en las comunidades, originando infecciones cuya prevalencia ha aumentado significativamente en los últimos años. La adquisición de estas cepas se realiza fuera de los tradicionales factores de riesgo de las cepas SARM hospitalarias, son susceptibles a pocos antibióticos y presentan la inclusión de varios factores de virulencia.

Para clasificar una cepa de *S. aureus* como SARM-AC se debe cumplir con la condición de que sea una cepa aislada en la comunidad en pacientes que no tienen los factores de riesgo de una infección SARM-AH. Estos factores son: hospitalizaciones frecuentes y recientes, vivir por largos periodos en salas de cuidados especiales, estar expuesto a medios invasivos como sondas o catéteres, haber tenido cirugías recientes o diálisis, emplear medicamentos intravenosos o una prolongada exposición a los antibióticos (Bustos-Martínez y col., 2006).

Epidemiología. Dependiendo de la cepa involucrada y del sitio de infección, esta bacteria puede causar infecciones invasivas tales como bacteremia, endocarditis infecciosa, osteomielitis, artritis séptica, infecciones de dispositivos protésicos, infecciones pulmonares (neumonía y empiema), gastroenteritis, meningitis, infecciones de piel y tejidos blandos (impétigo, foliculitis, furúnculos, carbúnculos, celulitis) y también enfermedades mediadas por toxinas (síndrome de la piel escaldada y del choque tóxico) e infecciones del tracto urinario. El tratamiento para éstas es impreciso debido a la aparición de cepas multiresistentes como *S. aureus* resistente a meticilina (SARM). Dicho microorganismo se encuentra en el medio ambiente y también en la flora normal del humano, localizado en las membranas nasales de individuos saludables. La transmisión se lleva a cabo normalmente por contacto directo (Taylor y Unakal, 2017).

Las cepas SARM portan un gen llamado *mec* en el cromosoma bacteriano, el cual es un componente de la región del casete cromosomal estafilocócico (*SCCmec*), que es el que confiere la resistencia a múltiples antibióticos dependiendo de su tipo. El gen *mec* codifica a la proteína de unión a penicilina 2a (PBP-2a), o esencialmente a la enzima que cataliza la producción de péptido-glicano en la pared celular bacteriana. La PBP-2a tiene una baja afinidad a los antibióticos beta-lactámicos (como penicilina y otros derivados) cuando se compara a otras PBP's. Por lo tanto, esta proteína continúa catalizando la síntesis de la pared bacteriana, incluso en presencia de muchos antibióticos. Como resultado, las cepas de *S. aureus* que sintetizan esta proteína son resistentes a múltiples fármacos como meticilina, nafcilina, oxacilina y cefalosporinas (Taylor y Unakal, 2017).

Fisiopatología. La fisiopatología varía dependiendo de cada infección. El mecanismo de evasión de la bacteria a la respuesta inmune del huésped incluye la producción de una cápsula

antifagocítica, el secuestro de los anticuerpos o antígenos del huésped llevado a cabo por la proteína A bacteriana, la formación de películas, supervivencia intracelular y el bloqueo de la quimiotaxis de los leucocitos. La unión de la bacteria a la matriz de proteínas extracelular y la fibronectina en la endocarditis infecciosa es mediada por las proteínas de la pared celular bacteriana y proteínas que se unen a fibrinógeno, factores de aglomeración y ácidos teicoicos. También los super-antígenos estafilocócicos (TSST-1 o la toxina del síndrome del choque tóxico-1) son importantes factores de virulencia en la endocarditis infecciosa, sepsis y el síndrome del choque tóxico. Las infecciones por neumonía están asociadas con la producción bacteriana de la Leucocidina de Panton-Valentine (PVL), Proteína A y alfa-hemolisina, y éstas normalmente ocurren después de un diagnóstico de infección por el virus de la Influenza, así como también después de un diagnóstico de Fibrosis Quística. Las infecciones en los dispositivos protésicos son mediadas frecuentemente por la habilidad de *S. aureus* para formar películas y también para comunicarse con otras células bacterianas al detectarlas por la densidad de sus aglomeraciones (Taylor y Unakal, 2017).

Tratamiento. De acuerdo con la información recabada por el Centro de Alimentación y Salud Pública en EE.UU (2011) para un tratamiento adecuado deben tomarse en cuenta varios factores, tales como la ubicación de la herida, su severidad y también la progresión de la infección, así como la salud y la edad del paciente. Algunas veces las infecciones de la piel son tratadas con técnicas que no requieren el uso de antibióticos sistémicos, tales como la incisión de la herida y el drenado del absceso; también, en algunas ocasiones se requiere de medidas adicionales como la remoción de catéteres.

Asimismo, para poder tomar una decisión sobre qué terapia antimicrobiana es la más adecuada, se debe tomar en cuenta una prueba de susceptibilidad. Los agentes activos principalmente utilizados en el tratamiento de infecciones serias causadas por SARM que presenta resistencia a múltiples fármacos incluye: linezolid, daptomicina, tigeciclina, vancomicina y guinupristina/dalfopristina. Debido a esto, puede ser difícil encontrar una elección farmacológica para SARM, porque comúnmente estas cadenas han presentado resistencia a la mayoría de los antibióticos frecuentemente utilizados.

El tratamiento para las infecciones causadas por *S. aureus* depende enormemente del tipo de infección, así como también la presencia o ausencia de cepas resistentes. En general, la penicilina sigue siendo la droga de elección para aislamientos sensibles (SASM) y se utiliza vancomicina para cepas de SARM. En algunos casos son necesarias terapias alternativas para complementar la terapia antimicrobiana. Por ejemplo, el reemplazo de fluidos es frecuentemente

requerido para la enfermedad mediada por toxinas y la eliminación de dispositivos externos para prótesis se recomienda en el caso de las infecciones causadas por catéteres o en caso de endocarditis (Taylor y Unakal, 2017).

Resistencia a los antibióticos. En la actualidad las cepas de *S. aureus* son resistentes a un amplio espectro de antibióticos. La adquisición de esta resistencia se debe principalmente al intercambio de genes de manera horizontal que son transportados por elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones (Tn) y secuencias de inserción (IS) (Bustos-Martínez y col., 2006).

La resistencia a penicilina y a un nuevo espectro más reducido de fármacos antimicrobianos resistentes a las penicilinas beta-lactamasas (metecilina, oxacilina) aparecieron poco después de que se introdujeron en la práctica clínica en los años 1940 a 1960, respectivamente. La resistencia a la penicilina fue inicialmente confinada a un pequeño número de pacientes hospitalizados, pero ésta se extendió al mismo tiempo que el uso de la penicilina, primero hacia otros hospitales y después hacia la comunidad. A finales de los 60, más del 80% de los aislamientos adquiridos de *S. aureus* hospitalario y de la comunidad fueron resistentes a penicilina. Los datos estadísticos mencionados anteriormente fueron recabados a través de la institución de Recursos para el Futuro, ubicada en Washington, D.C. y también de los Institutos Nacionales de la Salud en Bethesda, Maryland, en Estados Unidos (Klein y col., 2007).

Debido a la resistencia a la penicilina de las cepas de *S. aureus*, a finales de los años 50 se introdujeron cefalosporinas estables a penicilinasas y penicilinas semisintéticas. Entre éstas estuvo la metecilina como antibiótico de elección, medicamento introducido en Europa en 1959. Sin embargo, al año siguiente se detectó la primera cepa *S. aureus* resistente a metecilina ("methicillin resistant *Staphylococcus aureus*", MRSA o SARM). Más tarde, en 1963, se reportó el primer brote nosocomial causado por cepas SARM. Desde entonces se han notificado cepas de *S. aureus* multiresistentes en todo el mundo (Bustos-Martínez y col., 2006).

En Estados Unidos, en muchos hospitales e instalaciones de cuidado e incluso en comunidades, SARM es endémico e incluso epidémico. Recientes reportes mencionan que las infecciones asociadas a la comunidad de SARM son la causa principal de enfermedades de la piel y tejidos blandos (Klein y col., 2007).

Debido a la resistencia a la metecilina, a principios de los años 90 se introdujo la vancomicina de manera global como único antibiótico para el tratamiento de infecciones graves causadas por SARM. Sin embargo, en el año de 1997 se encontraron cepas con resistencia

intermedia a la vancomicina (VISA) y en el 2002 se detectaron las primeras cepas resistentes a este antibiótico ("vancomycin resistant *S. aureus*", VRSA) (Bustos-Martínez y col., 2006).

Vibrio cholerae

Generalidades

Vibrio cholerae es una bacteria facultativa anaeróbica, Gram-negativa, en forma de bacilo curvo que no forma esporas. Es un patógeno humano que se encuentra en aguas costeras y que causa enfermedades gastrointestinales agudas, principalmente el cólera, que es una gran amenaza para la salud en países pobres. Es uno de los patógenos más importantes por su impacto en la salud y economía a nivel mundial (Maheshwari y Kiranmayi, 2011).

Dicho microorganismo, está subdividido en dos serotipos: O1 y no O1. El serotipo O1, que es el causante del cólera pandémico, tiene dos subclases llamadas: El Clásico y El Tor. Por otra parte, en lo que respecta al serotipo no O1, se considera como no, debido a que no sintetiza la toxina colérica, sin embargo, en raras ocasiones se le ha relacionado con septicemia, infecciones de heridas, de oídos, celulitis y fascitis necrotizante. Estos padecimientos son normalmente observados en pacientes inmunocomprometidos, con diabetes mellitus, falla renal crónica y diálisis, así como en pacientes que sufrieron una esplenectomía (Maheshwari y Kiranmayi, 2011).

El antígeno de superficie principal utilizado en la caracterización de este microorganismo es el antígeno O. De acuerdo con el esquema de tipeo de Sakazaki y Shimada, existen 139 grupos diferentes del antígeno O. Los productores de toxina colérica y causantes de epidemias y pandemias son los serogrupos O1 y O139 (Maheshwari y Kiranmayi, 2011).

Los vehículos más comunes de esta infección en humanos son los mariscos y el agua no potable. Este microorganismo ha sido aislado de una amplia variedad de muestras como el agua de mar, sedimentos, plancton, peces y mariscos de ambiente costero y de estuario (Maheshwari y Kiranmayi, 2011).

Cólera

El cólera tiene dos características epidemiológicas distintivas: su tendencia a aparecer en brotes explosivos, frecuentemente empezando en varios focos distintos simultáneamente, y su tendencia a causar pandemias que progresivamente afectan muchos países en varios

continentes (Maheshwari y Kiranmayi, 2011). Se pueden presentar brotes ocasionales en cualquier parte del mundo en donde el abastecimiento de agua, la inocuidad de los alimentos o la higiene sean inadecuados. Naturalmente, se registran mayores riesgos en las comunidades y entornos sobrepoblados, en donde el saneamiento es deficiente, el agua de beber insalubre y donde aumenta la posibilidad de transmisión de persona a persona (González y col., 2011).

Por otra parte, la patogenicidad de *V. cholerae* está principalmente asociada con la secreción de varios factores de virulencia como la toxina colérica (CTX), la cual es un complejo proteico y el pili tóxico-regulador (TCP) que le sirve para adherirse al epitelio intestinal. La TC es responsable de los efectos dañinos de la infección. La estructura de esta toxina está conformada por las subunidades A y B, las cuales tienen una función específica. La subunidad B sirve para unir la holotoxina al receptor celular eucariótico, y la subunidad A posee una función enzimática que actúa intracelularmente (Maheshwari y Kiranmayi, 2011).

Epidemiología y Fisiopatología

La infección causada por *Vibrio cholerae* comienza con la ingestión de agua o alimentos contaminados directa o indirectamente con heces o vómito de una persona infectada. El período de incubación va desde unas horas a cinco días, usualmente de dos a tres días seguidos de diarrea acuosa aguda, frecuentemente asociada con vómito, calambres musculares y complicaciones relacionadas con deshidratación severa; también se pueden manifestar complicaciones cardíacas y fallas circulatorias que ocurren debido a la pérdida de iones de potasio. En casos severos, puede ocurrir la pérdida rápida de fluidos (de 500 a 1000 mL) lo cual resultaría en muerte en menos de 24 horas, si la persona no es tratada rápida y eficientemente (Maheshwari y Kiranmayi, 2011).

Tratamiento para el Cólera. Para llevar a cabo un tratamiento exitoso se requiere una hidratación rápida mediante la aplicación de sales de rehidratación oral (SRO) o líquidos que se administren vía intravenosa, dependiendo de la gravedad del caso (González y col., 2011).

A los pacientes que presentan un alto nivel de deshidratación se les aplica líquidos intravenosos, preferiblemente lactato de Ringer y en el caso de antibióticos, se utilizan agentes activos como la doxiciclina, tetraciclina, eritromicina, azitromicina, ciprofloxacino y el cotrimoxazol, que tienen la función de disminuir la duración de la diarrea y los síntomas, el volumen de líquidos de rehidratación que se requiera, así como también para acortar el período de excreción de la

bacteria. En los niños menores de 5 años la administración de suplementos de zinc tiene una eficacia demostrada para reducir el número de episodios diarreicos sucesivos (González y col., 2011).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda utilizar una única dosis de doxiciclina (300 mg vía oral), la tetraciclina de 12.5 mg/kg vía oral, cuatro veces al día durante tres días. En el caso de tratamiento pediátrico, se utiliza la eritromicina líquida de 12.5 mg/kg vía oral, cuatro veces al día durante tres días. También en personas adultas, se recomienda una dosis única de azitromicina de 1 g, y en niños una dosis única de ciprofloxacino, ambos casos eficaces para el cólera (González y col., 2011).

Resistencia a los antibióticos. En el cólera, los antibióticos son administrados para disminuir la duración de la enfermedad y la expulsión de vibriones vivos en la materia fecal (Maya y col., 2011). A pesar de los beneficios de los antibióticos para tratar el cólera, la OMS recomienda su aplicación solo en aquellos casos caracterizados por una grave deshidratación, debido a la posibilidad de surgimiento de cepas resistentes (Maya y col., 2011).

Poco después del descubrimiento y utilización de los antibióticos en la medicina, la resistencia apareció rápidamente en muchos microorganismos excepto en *Vibrio cholerae* el que permaneció sensible por muchos años. Sin embargo, en un estudio de vigilancia realizado a nivel mundial en 1976, solo el 3 % de las cepas de *Vibrio cholerae* eran resistentes a los antibióticos regularmente administrados. Por lo tanto, este escenario cambió rápidamente debido a su uso indiscriminado. Tres años después, en Bangladesh, cerca del 18% de los aislamientos eran resistentes a los antibióticos de uso común. En nuestros días, diversos estudios han demostrado un incremento en la prevalencia de resistencia en diferentes regiones geográficas (Ghosh, 2000).

En el año 2000, en Madagascar, se detectaron aislamientos de *Vibrio cholerae* resistentes a trimetoprim/sulfametoxazol, estreptomina, cloranfenicol, ampicilina, y tetraciclina.

En el año 2007, en India, los aislamientos de *Vibrio cholerae* fueron resistentes a ampicilina, amoxicilina/clavulánico, sulfametoxazol/trimetoprim, aztreonam, polimixina, metronidazol, ácido nalidíxico, neomicina, nitrofurantoina, polimixina B y espectinomicina (Maya y col., 2011). Debido a esto se buscan nuevos medicamentos antibacterianos, antiseptorios y vacunas para controlar y prevenir la enfermedad (Ghosh, 2000).

METODOLOGÍA

Diseño Experimental

Este estudio es prospectivo, observacional y descriptivo.

Cepas Bacterianas

En este estudio se utilizaron los siguientes microorganismos: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, donado por el Laboratorio de Productos Naturales del Departamento de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad de Sonora, y *Vibrio cholerae* no O1, que fue aislado y caracterizado por el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica y donado por el Laboratorio Estatal de Salud Pública de Sonora a la Universidad de Sonora.

Medios de Cultivo

Para el crecimiento y desarrollo de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, se utilizó agar y caldo Mueller Hinton (MH). Para el cultivo a *Vibrio cholerae* no O1, se utilizó agar y caldo de Soya Tripticasa (AST y CST), antes y durante la realización de los experimentos.

Preparación del Inóculo Bacteriano

Se llevó a cabo en un tubo con solución salina estéril al 0.85 %, a partir de un cultivo de 12 horas en agar MH o AST, se preparó una suspensión bacteriana hasta obtener una densidad óptica (620 nm) de 0.095 ± 0.002 , igual a la densidad óptica del estándar 0.5 de MacFarland (10^8 UFC/mL) (Velazquez y col., 2007).

Solución Concentrada del Extracto Metanólico de Propóleos de Caborca (EMPC)

Se pesaron 55.3 mg del propóleos de Caborca, y esto se llevó a un volumen final del 1 mL de dimetilsulfóxido (Merck CAS 67-68-5) (DMSO), para obtener una concentración final de 55,300 µg/mL.

Solución de Trabajo de EMPC

A partir de la solución concentrada de EMPC en dimetilsulfóxido, se realizaron diluciones en caldo MH para *S. aureus* ATCC 6538P y en caldo ST para *V. cholerae* no O1, hasta obtener soluciones de trabajo en las diferentes concentraciones de prueba que fueron: 1600, 800, 400, 200 y 0.0 µg/mL de EMPC.

Solución Concentrada de Pinocembrina

Se pesaron 31.7 mg de Pinocembrina (Peso Molecular de Pinocembrina = 256.26 g) la cual se llevó a un volumen final de 1 mL en dimetilsulfóxido (DMSO), para obtener una concentración final de 123.70 mM.

Solución de Trabajo de Pinocembrina

A partir de la solución concentrada de pinocembrina en dimetilsulfóxido, se realizaron diluciones en caldo MH para *S. aureus* ATCC 6538 P y caldo ST para *V. cholerae* no O1, para obtener soluciones de trabajo en las diferentes concentraciones de 0.8, 0.4, 0.2, 0.0 mM de pinocembrina.

Actividad Antibacteriana

Actividad bactericida

El porcentaje de disminución de la viabilidad bacteriana se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$100 - \left[\left(\frac{\text{Cuenta de bacterias viables después del tratamiento}}{\text{Cuenta inicial}} \right) \times 100 \right]$$

Se consideró actividad bactericida, cuando la concentración de propóleos o pinocembrina disminuyeron la viabilidad del inóculo inicial en un 99.9% o redujeron el inóculo inicial en 3 log₁₀ (UFC/mL) a las 24 horas de incubación. Se consideró como actividad bacteriostática una reducción menor al 99.9% o menor de 3 log₁₀ en UFC/mL en relación a la concentración del inóculo inicial (Pankuch y col., 2003).

Determinación de la Mínima Concentración Bactericida

Se determinó por el método de extensión en agar para cuenta viable (Madigan y col., 2004). A 4 mL de caldo de cultivo (MH para *S. aureus* ATCC 6538 P y ST para *V. cholerae* no O1) y a distintas concentraciones del EMPC o pinocembrina, se añadieron 160 μ L del inóculo bacteriano estandarizado. Se llevaron a cabo diluciones seriadas en solución salina estéril. De cada dilución y concentración se tomaron 50 μ L y se extendieron en una placa de agar MH o agar ST, con la ayuda de un rastrillo microbiológico estéril. Este proceso se realizó por triplicado. Las placas y los tubos de prueba se incubaron a 37° C durante 24 horas. Después de la incubación, se hizo un recuento de las colonias presentes en las placas, multiplicando las UFC por el factor de dilución correspondiente para estimar la concentración de bacterias vivas en el tubo de prueba (UFC/mL) en los tiempos de 0, 12 y 24 horas.

El procedimiento anterior, también se llevó a cabo añadiendo el antibiótico gentamicina, en una concentración de 12 μ g/mL, el cual se utilizó como un control de actividad bactericida.

Análisis Estadístico

Se realizó estadística descriptiva utilizando curvas de viabilidad celular con gráficas mediante el programa Graph Pad Prism Versión 3.02.

RESULTADOS

En este estudio en particular, se llevó a cabo la evaluación antibacteriana generada por propóleos de Caborca y el flavonoide pinocembrina sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* 6538P y *Vibrio cholerae* no O1. En las figuras 5, 6, 7 y 8 se muestran el desarrollo normal de los microorganismos en ausencia y presencia de sustancias antimicrobianas en diferentes concentraciones. Para ambas cepas, el crecimiento bacteriano se incrementó de una manera rápida en una concentración inicial de tiempo "0" de 10^6 UFC/mL a 10^{8-9} UFC/mL a las 24 horas de incubación.

Efecto de PC sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus*

En la figura 4 se observa la actividad antibacteriana de PC frente a cultivos bacterianos de *S. aureus* que fueron tratados con diferentes concentraciones, en tres tiempos, los cuales fueron a las 0, 12 y 24 horas de incubación. Se observó que PC a las 12 horas de incubación presentó efecto bacteriostático a una concentración de 1600.0 $\mu\text{g/mL}$, con una disminución de UFC de 0.28 \log_{10} y un efecto equivalente a 48.49 % de actividad bactericida (AB). Asimismo, a las 24 horas de incubación, se observó efecto bacteriostático por disminución en la viabilidad de 0.52 \log_{10} y un porcentaje de actividad bactericida de 69.89 % (Tabla 3 y 4).

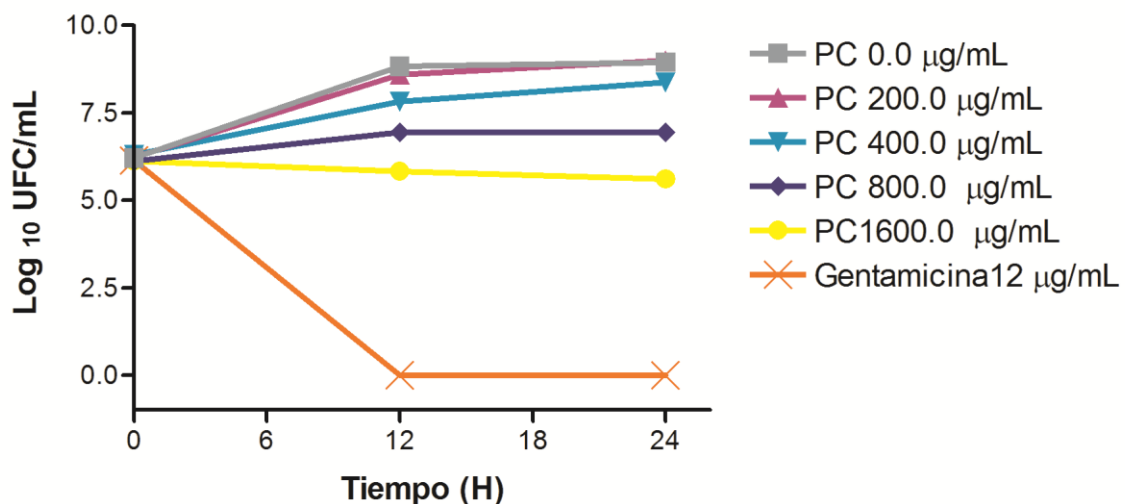


Figura 4. Efecto de Propóleos de Caborca (PC) sobre la viabilidad de *S. aureus* 6538P tratado con diferentes concentraciones durante 24 horas. El antibiótico gentamicina se utilizó como control de actividad bactericida. Los resultados son representativos de al menos tres experimentos independientes, se graficó la media de análisis triplicados.

Tabla 3. Actividad bactericida (AB) de PC frente a cultivos bacterianos de *Staphylococcus aureus* 6538P.

Tiempo (horas)	Concentración de prueba, recuento de células viables y % de AB					
	[0.0 µg/mL]	Desviación Estándar	[200.0 µg/mL]	Desviación Estándar	[400.0 µg/mL]	Desviación Estándar
0	1'601,333	252,042	1'714,666	155,194	2'117,333	220,012.12
12	688'000,000.0	128'561,269	344'800,000	101'820,037	72'933,333	18'094,566
24	937,766,666	308'464,201	957'000,000	143'669,760	280'333,333	24'006,943
% AB (12 h)	0%		0%		0%	
% AB (24 h)	0%		0%		0%	

Tiempo (horas)	Concentración de prueba, recuento de células viables y % de AB					
	[800.0 µg/mL]	Desviación Estándar	[1600.0 µg/mL]	Desviación Estándar	Gentamicina	Desviación Estándar
0	1'253,333	141,623	1'346,000.00	163,450	1'706,333	93,884
12	9'086,666	1'103,872	693,333	100,664	0	0
24	8'901,000	298,501	405,333	12,858	0	0
% AB (12 h)	0 %		48.49 %		99.9 %	
% AB (24 h)	0 %		69.89 %		99.9 %	

Staphylococcus aureus tratado con diferentes concentraciones de PC durante 24 horas. Los resultados muestran la media de UFC/mL de análisis triplicados de tres experimentos independientes.

Tabla 4. Expresión logarítmica del desarrollo de *Staphylococcus aureus* 6538P frente a diferentes concentraciones de propóleos de Caborca (PC).

Tiempo (horas)	Concentración de prueba y cuenta viable en Log ₁₀					
	[0.0 µg/mL]	200.0 µg/mL]	400.0 µg/mL]	[800.0 µg/mL]	[1600.0 µg/mL]	[Gentamicina]
0	6.20	6.23	6.32	6.09	6.12	6.23
12	8.83	8.53	7.86	6.95	5.84	0.0
24	8.97	8.98	8.44	6.94	5.60	0.0
Comportamiento (12 h)	2.63 ↑	2.3 ↑	1.54 ↑	0.86 ↑	0.28 ↓	0.0
Comportamiento (24 h)	2.77 ↑	2.75 ↑	2.12 ↑	0.85 ↑	0.52 ↓	0.0

Se muestran los logaritmos de la media de tres experimentos realizados, en donde la flecha (↑) indica un incremento en la población bacteriana, mientras que la flecha (↓) indica una disminución, basándose en la fórmula de actividad bactericida.

Efecto de Pinocembrina sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus*

Con respecto a la acción sobre *S. aureus*, en la figura 6, se muestra que pinocembrina no mostró actividad antibacteriana de ningún tipo en los tiempos de prueba ensayados a una concentración de 0.2 mM; mientras que a la concentración de 0.4 mM presentó un efecto bacteriostático por la reducción en su cuenta bacteriana en el orden de 0.61 log₁₀ equivalente a un porcentaje de actividad bactericida de 75.37 %. De igual manera, a las 12 horas de incubación y a la concentración de 0.8 mM, pinocembrina sí mostró un efecto bacteriostático en el orden de 2.42 log₁₀ equivalente a 99.61 % de actividad bactericida. En esta misma concentración, a las 24 horas de incubación, pinocembrina también mostró un efecto bactericida en el orden de 6.33 log₁₀, equivalente a un 99.9 % de actividad bactericida (Tabla 5 y 6).

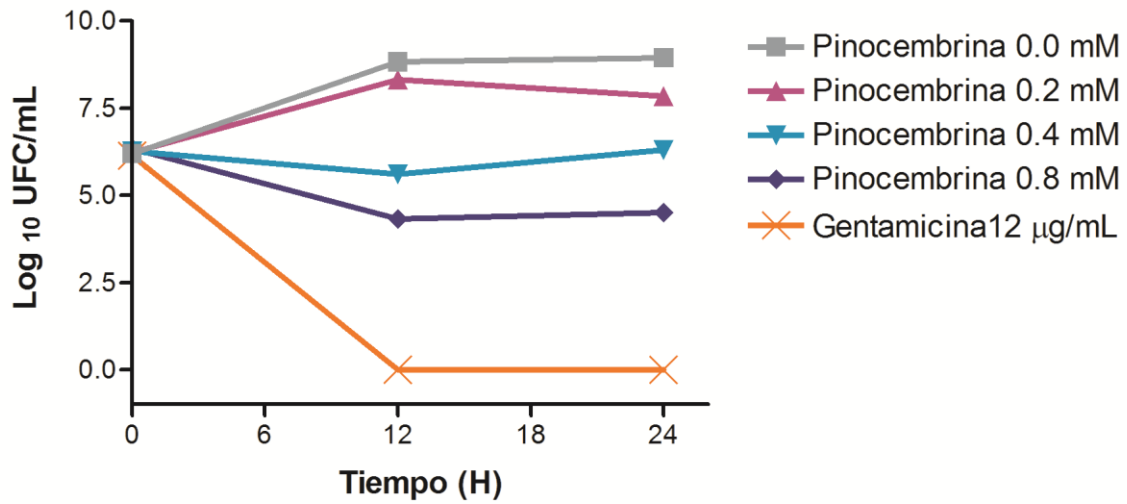


Figura 5. Efecto de pinocembrina sobre la viabilidad de *S. aureus* 6538P tratado con diferentes dosis durante 24 horas. El antibiótico gentamicina se utilizó como control de actividad bactericida. Los resultados son representativos de al menos tres experimentos independientes, se graficó la media de análisis triplicados.

Tabla 5. Actividad bactericida (AB) de pinocembrina frente al desarrollo de *Staphylococcus aureus* 6538P.

Tiempo (horas)	Concentración de prueba, recuento de células viables y % de AB					
	[0.0 mM]	Desviación Estándar	[0.2 mM]	Desviación Estándar	[0.4 mM]	Desviación Estándar
0	1'601,333	252,042	1'773,333	113,513	1'667,000	168,377
12	688'000,000	128'561,269	221'466,667	19'752,806	410,500	12,500
24	937'766,666	308'464,201	65'600,000	12'315,843	1'991,000	112,663
% AB (12 h)	0%		0%		75.37 %	
% AB (24 h)	0%		0%		0%	

Tiempo (horas)	Concentración de prueba, recuento de células viables y % de AB			
	[0.8 mM]	Desviación Estándar	[Gentamicina]	Desviación Estándar
0	2'141,333	472,090	1'706,333	93,884
12	8,233	2,040	0	0
24	0	0	0	0
% AB (12 h)	99.61 %		99.9 %	
% AB (24 h)	99.9 %		99.9 %	

Staphylococcus aureus tratado con diferentes dosis de pinocembrina durante 24 horas. Los resultados muestran la media de análisis triplicados de tres experimentos independientes.

Tabla 6. Expresión logarítmica del desarrollo de *Staphylococcus aureus* 6538P frente a diferentes concentraciones de pinocembrina.

Tiempo (horas)	Concentración de prueba y cuenta viable en Log ₁₀				
	[0.0 mM]	[0.2 mM]	[0.4 mM]	[0.8 mM]	[Gentamicina]
0	6.20	6.24	6.22	6.33	6.23
12	8.83	8.34	5.61	3.91	0.0
24	8.97	8.81	6.29	0.0	0.0
Comportamiento (12 h)	2.63 ↑	2.1 ↑	0.61 ↓	2.42 ↓	6.23 ↓
Comportamiento (24 h)	2.77 ↑	2.57 ↑	0.07 ↑	6.33 ↓	6.23 ↓

Se muestran los logaritmos de la media de tres experimentos realizados, en donde la flecha (↑) indica un incremento en la población bacteriana, mientras que la flecha (↓) indica una disminución, basándose en la fórmula de actividad bactericida.

Efecto de PC sobre la viabilidad de *Vibrio cholerae* no O1

En lo que respecta a la acción sobre *Vibrio cholerae* no O1, en la figura 6, se observó que PC no presentó actividad antibacteriana de ningún tipo a ninguna de las concentraciones y tiempos ensayados. (Tabla 7 y 8).

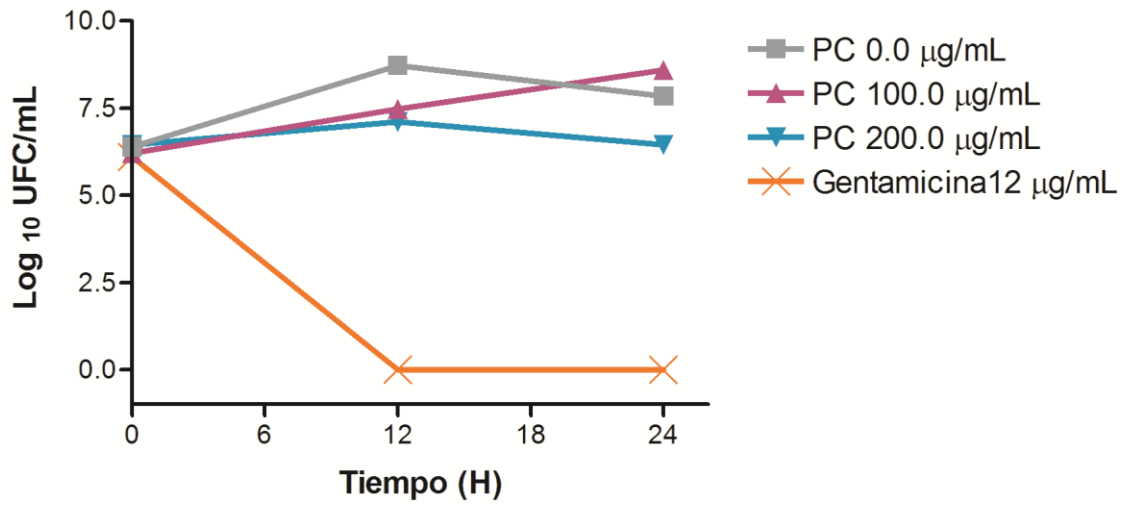


Figura 6. Efecto de Propóleos de Caborca (PC) sobre la viabilidad de *Vibrio cholerae* no O1, tratado con diferentes concentraciones durante 24 horas. El antibiótico gentamicina, se utilizó como control de actividad bactericida. Los resultados son representativos de al menos tres experimentos independientes, se graficó la media de análisis triplicado.

Tabla 7. Actividad bactericida (AB) de PC frente a cultivos bacterianos de *Vibrio cholerae* no O1.

Tiempo (horas)	Concentración de prueba, recuento de células viables y % de AB			
	[0.0 µg/mL]	Desviación Estándar	[100.0 µg/mL]	Desviación Estándar
0	2'517,333	448,095	1'846,666	384,839
12	549'333,333	101'692,346	23'395,667	5'747,872
24	74'666,667	7'023,769	384'000,000	28'618,176
% AB (12 h)	0%		0%	
% AB (24 h)	0%		0%	

Tiempo (horas)	Concentración de prueba, recuento de células viables y % de AB			
	[200.0 µg/mL]	Desviación Estándar	[Gentamicina]	Desviación Estándar
0	2'946,333	272,030	1'039,666	62,803
12	14'666,667	3'055,050	0.0	0.0
24	3'666,666	1'527,525	0.0	0.0
% AB (12 h)	0 %		99.9 %	
% AB (24 h)	0 %		99.9 %	

Vibrio cholerae no O1 tratado con diferentes concentraciones de PC durante 24 horas. Los resultados muestran la media de análisis triplicados de tres experimentos independientes.

Tabla 8. Expresión logarítmica del desarrollo de *V. cholerae* no O1 frente a diferentes concentraciones de propóleos de Caborca (PC).

Tiempo (horas)	Concentración de prueba y cuenta viable en Log ₁₀			
	[0.0 µg/mL]	[100.0 µg/mL]	[200.0 µg/mL]	[Gentamicina]
0	6.40	6.26	6.47	6.01
12	8.73	7.36	7.16	0.0
24	7.87	8.58	6.56	0.0
Comportamiento (12 h)	2.33 ↑	1.1 ↑	0.69 ↑	6.01 ↓
Comportamiento (24 h)	1.47 ↑	2.32 ↑	0.09 ↑	6.01 ↓

Se muestran los logaritmos de la media de tres experimentos realizados, en donde la flecha (↑) indica un incremento en la población bacteriana, mientras que la flecha (↓) indica una disminución, basándose en la fórmula de actividad bactericida.

Efecto de Pinocembrina sobre la viabilidad de *Vibrio cholerae* no O1

En la figura 7, se observa que pinocembrina a una concentración de 0.8 mM presentó efecto bactericida a las 12 y 24 horas de incubación, reduciendo la población de células en un nivel ≥ 3 log₁₀ y > 99.9% de actividad bactericida respecto al inóculo inicial, igual al efecto bactericida presentado por gentamicina (Tabla 9 y 10).

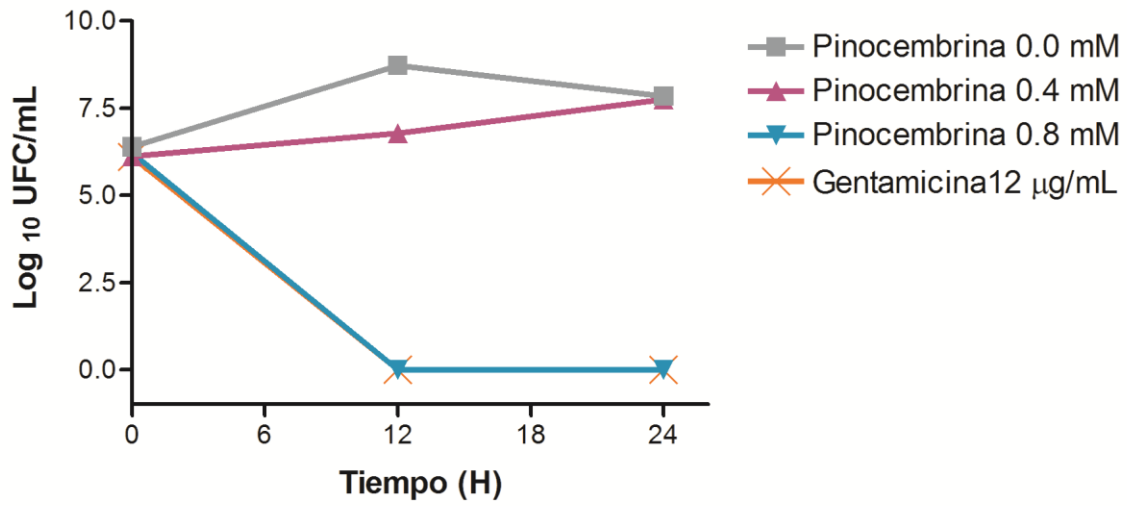


Figura 7. Efecto de pinocembrina sobre la viabilidad de *Vibrio cholerae* no O1, tratado con diferentes dosis durante 24 horas. El antibiótico gentamicina se utilizó como control de actividad bactericida. Los resultados son representativos de al menos tres experimentos independientes, se graficó la media de análisis triplicados.

Tabla 9. Actividad Bactericida (AB) de pinocembrina en diferentes concentraciones frente al desarrollo de cultivos bacterianos de *V. cholerae* no O1.

Tiempo (horas)	Concentración de prueba, recuento de células viables y % de AB			
	[0.0 mM]	Desviación Estándar	[0.4 mM]	Desviación Estándar
0	2'517,333	448,095	1'409,000	105,531
12	549'333,333	101'692,346	6'004,000	1'006,006
24	74'666,667	7'023,769.2	63'333,333	12'503,333
% AB (12 h)	0.0 %		0%	
% AB (24 h)	0.0 %		0%	

Tiempo (horas)	Concentración de prueba, recuento de células viables y % de AB			
	[0.8 mM]	Desviación Estándar	[Gentamicina]	Desviación Estándar
0	1'733,666	108,794	1'039,666	62,803
12	0.0	0.0	0.0	0.0
24	0.0	0.0	0.0	0.0
% AB (12 h)	99.9 %		99.9 %	
% AB (24 h)	99.9 %		99.9 %	

Vibrio cholerae no O1 tratado con diferentes concentraciones de pinocembrina durante 24 horas. Los resultados muestran la media de análisis triplicados de tres experimentos independientes.

Tabla 10. Expresión logarítmica de cultivos bacterianos de *Vibrio cholerae* no O1 frente a diferentes concentraciones de pinocembrina.

Tiempo (horas)	Concentración de prueba y cuenta viable en Log ₁₀			
	[0.0 mM]	[0.4 mM]	[0.8 mM]	[Gentamicina]
0	6.40	6.14	6.23	6.01
12	8.73	6.77	0.0	0.0
24	7.87	7.80	0.0	0.0
Comportamiento (12 h)	2.33 ↑	0.63 ↑	6.23 ↓	6.01 ↓
Comportamiento (24 h)	1.47 ↑	1.66 ↑	6.23 ↓	6.01 ↓

Se muestran los logaritmos de la media de tres experimentos realizados, en donde la flecha (↑) indica un incremento en la población bacteriana, mientras que la flecha (↓) indica una disminución, basándose en la fórmula de actividad bactericida.

DISCUSIÓN

Se conoce que los efectos farmacológicos de propóleos se determinan por su composición química y dependen del lugar de recolección, el tipo de vegetación, temporada del año y de la especie de abeja colectora. Por lo tanto, la variedad y complejidad de los propóleos es muy amplia. Esta diversidad química se relaciona directamente con su bioactividad y usos potenciales (Guzmán-Gutiérrez y col., 2018; Nina y col., 2015).

Diferentes estudios han reportado las importantes propiedades que posee el propóleos en beneficio a la salud incluyendo actividad antibacteriana, antiviral, antifúngica, de inmunomodulación, antitumoral y antiinflamatoria. Asimismo, que se utiliza para el tratamiento de diversas infecciones. En lo referente a la acción bactericida de sus extractos, se ha demostrado que es efectivo principalmente frente a bacterias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus spp*, así como también en bacterias Gram-negativas como *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus* (Albino-Táutica y col., 2017; Enriquez y col., 2004; Fierro, 2000).

Velazquez y colaboradores (2007) evaluaron la actividad antibacteriana de los principales componentes químicos del propóleos de Sonora: rutina, pinobanksina, naringenina, hesperetina, pinocembrina, 3-O acetato de pinobanksina, CAPE, xanthomicrol, crisina, galangina, acacetina y 3-O demetoxisudaquitín, los cuales fueron identificados mediante espectrometría de masas y HPLC contra *Escherichia coli* (ATCC 25922), y *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P). Y se obtuvo que los constituyentes del propóleos CAPE, pinocembrina, 3-O acetato de pinobanksina y naringenina mostraron una importante actividad inhibitoria en el crecimiento de *S. aureus*. El CAPE exhibió el más alto efecto inhibitorio en el crecimiento bacteriano en una concentración de 0.1 mmol/L, la pinocembrina en una concentración de 0.4 mmol/L, el 3-O acetato de pinobanksina en una concentración de 0.8 mmol/L y naringenina en una concentración de 0.8 mmol/L.

Iñigo y Soto (2009) evaluaron la actividad bactericida del propóleos de Ures y el éster fenílico del ácido cafeico (CAPE) frente a *S. aureus* 6538P y *Vibrio cholerae* no O1. Ellos encontraron actividad bactericida del propóleos frente a ambos microorganismos a concentraciones que fluctuaron entre 100 y 200 µg/mL, siendo más sensible *S. aureus*. También el CAPE presentó actividad bactericida frente a *S. aureus* y *V. cholerae* a una concentración de 0.4 mM.

Navarro y colaboradores (2013) llevaron a cabo un estudio en el cual se evaluó la actividad antibacteriana de los principales componentes químicos de los propóleos de Sonora: rutina, pinobanksina, naringenina, hesperetina, pinocembrina, 3-O acetato de pinobanksina, CAPE, xanthomicrol, crisina, galangina, acacetina y 3-O demetoxisudaquitín, los cuales fueron

identificados mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y espectrometría de masas contra *Vibrio cholerae* serotipo Inaba y *Vibrio cholerae* no O1. Los constituyentes del propóleos galangina, CAPE, pinocembrina, hesperetina y naringenina mostraron una actividad inhibitoria importante en el crecimiento de ambas cadenas de *V. cholerae* probadas. Galangina y CAPE en una CMI₉₀ 0.05-0.1 mmol/L y 0.2 mmol/L respectivamente mostraron el más alto efecto inhibitorio en el crecimiento bacteriano. La pinocembrina en una CMI₉₀ a 0.4 mmol/L, hesperetina en una CMI₉₀ de 0.4 a 0.8 mmol/L, y naringenina en una CMI₉₀ de 0.8 mmol/L mostraron una actividad anti-*Vibrio* moderada. Crisina en una CMI₉₀ >0.8 mmol/L y acacetina en una CMI₉₀ > 0.08 mmol/L mostraron muy baja actividad inhibitoria contra las cadenas probadas de *V. cholerae*. Rutina no presentó ningún efecto importante en el crecimiento de *V. cholerae* serotipo O1.

En el presente trabajo se determinó la actividad que ejerce el PC y la pinocembrina frente a *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae* no O1. En lo que respecta a PC frente a *S. aureus* los resultados mostraron efectos bacteriostáticos dependientes de la concentración. Por otra parte pinocembrina a la más alta concentración ensayada (0.8 mM), mostró un efecto bactericida también dependiente de la concentración frente a dicha bacteria. Y en el caso de PC frente a *Vibrio cholerae* no O1, los resultados indicaron que no hubo actividad antibacteriana de ningún tipo en las concentraciones y tiempos ensayados. Por el contrario, pinocembrina, demostró tener un efecto bactericida a la concentración más alta ensayada (0.8 mM), actuando de igual forma que gentamicina que fue utilizada como control bactericida.

La pinocembrina es un producto natural con peso molecular pequeño y es un constituyente activo biológicamente de la miel, un nutriente comestible, el cual garantiza seguridad en la administración a largo plazo como medicamento, combinado con su costo y un futuro potencial terapéutico, haciéndola un agente ideal junto con sus derivados con mejoras farmacocinéticas y farmacodinámicas que pueden fomentar futuros avances. Muchos estudios han mostrado que la pinocembrina induce apoptosis de varios tipos de células cancerígenas, pero los mecanismos de acción no se han dilucidado (Rasul y col., 2013).

Rasúl y colaboradores (2013) sugieren que la pinocembrina es un buen medicamento farmacológico con potencial antioxidante, antiinflamatorio, antitumoral y propiedades antimicrobianas. También sugieren que este compuesto puede establecerse como una aplicación directamente medicinal, como agente farmacéutico o puede servir como plantilla química para el diseño, síntesis y semi-síntesis de nuevas sustancias para el tratamiento de enfermedades en humanos. Otros estudios y juicios clínicos son necesarios para determinar sus sitios intracelulares específicos de acción y blancos derivativos para poder entender completamente los mecanismos antiinflamatorio, anticancerígeno y sus efectos apoptóticos para de esta manera poder dilucidar

su aplicación en futuros compuestos medicinales para esclarecer el rol potencial de la pinocembrina como un agente medicinal en la prevención y tratamiento de varias enfermedades.

CONCLUSIONES

El propóleos de Caborca presenta efectos bacteriostáticos dependientes de la concentración frente a *Staphylococcus aureus* 6538P y *Vibrio cholerae* no O1.

El flavonoide pinocembrina presenta efectos bactericidas dependientes de la concentración frente a ambas especies bacterianas ensayadas.

RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar:

- La actividad bactericida de propóleos de otras regiones de Sonora y de otros flavonoides.
- La actividad in vivo de propóleos de Sonora y sus constituyentes.
- La actividad bactericida de propóleos de Sonora y sus constituyentes frente a otras especies microbianas.
- El efecto sinérgico de combinaciones de constituyentes de propóleos frente a diversas especies bacterianas.
- El efecto sinérgico de combinaciones de pinocembrina y antibióticos frente a diversas especies bacterianas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-ani I, Zimmermann S, Reichling J y Wink M. 2018. Antimicrobial Activities of European Propolis Collected from Various Geographic Origins Alone and in Combination with Antibiotics. Medicines. Heidelberg, Germany. (5): 2 DOI: 10.3390/medicines5010002.

Albino-Táutiva W, Bernal-Rosas Y, Pardo-Mora D, Cruz-Uribe F, Torres-García O. 2017. Antimicrobial Effect of Different Ethanolic Extracts of Propolis Against Methicilin-Resistant *Staphylococcus* spp Isolates. The Journal of Animal and Plant Sciences. Bogotá, D.C., Colombia. 27(6): 1873-1878. ISSN: 10187081.

Alday E, Navarro-Navarro M, Garibay-Escobar A, Robles-Zepeda R, Hernandez J, Velazquez C. 2016. Advances In Pharmacological Activities and Chemical Composition of Propolis Produced In Americas. Intech Open. Chapter 5 Pages: 99-151 Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5772/63145>

Bamberger DM, Boyd SE. 2005. Management of *Staphylococcus aureus* Infections. Am Fam Physician; 15; 72(12): 2474-2481.

Bankova VS, De Castro SL, Marcucci MC. 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. Apidologie; 31:3-15.

Bankova V. 2005. Recent trends and important developments in propolis research. Evidence Based in Complementary and Alternative Medicine; 2: 29-32.

Bankova V, Bertelli D, Borba R, Conti BJ, Barbosa da Silva CI, Danert C, Nogueira-Eberlin M, Falcão SI, Isla MI, Nieva-Moreno MI, Papotti G, Popova M, Basso-Santiago K, Salas A, Frankland-Sawaya ACH, Vilczaki-Schwab N, Sforcin JM, Simone-Finstrom M, Spivak M, Trusheva B, Vilas-Boas M, Wilson M y Zampini C. 2016. Standard Methods for *Apis mellifera* propolis research. Journal of Apicultural Research. DOI: 10.1080/00218839.2016.1222661.

Bosio K, Avanzini C, D'Avolio A, Ozino O, Savoia D. 2003. *In Vitro* activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. Letters in Applied Microbiology ; 31: 174-177.

Boyanova L, Derejian S, Loumanova R, Katsarov N, Gergova G, Mitov I, Nikolov R, Krastev Z. 2003. Inhibition of *Helicobacter pylori* growth in vitro by Bulgarian propolis: preliminary report. J Med Microbiol; 52: 417-419.

Burdock GA. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). Food and Chemistry Toxicology; 36: 347-363.

Bustos-Martínez JA, Hamdan-Partida A, Gutiérrez-Cárdenas M. 2006. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Revista Biomed; 17: 287-305.

Castaldo S, Cappasso F. 2002. Propolis, an old remedy used in modern medicine. Fitoterapia; 73(Suppl. 1): S1-S6.

Cushnie TPT, Lamb AJ. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents; 26: 343-356.

Drago SME. 2007. Flavonoides Recombinantes de Relevancia Farmacéutica. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas; 38: 004; 42-47.

Enriquez E, Yurrita CL, Aldana CH, Ocheíta J, Jáuregui R, Chau P. 2004. Desarrollo de la Crianza de Abejas sin aguijón–Meliponicultura- para el aprovechamiento y comercialización de sus productos, como una alternativa económica sustentable en el Áres de El Trifinio, Chiquimula. Guatemala Proyecto No. 037-2002.

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

Fierro MW. 2000. Evidencia Científica del Propóleos desde el punto de vista médico. Disponible en <http://www.apinetla.com.ar/congreso/c03.pdf>

Galeotti F, Maccari F, Fachini A y Volpi N. 2018. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Propolis Prepared in Different Forms and In Different Solvents Useful for Finished Products. MDPI.foods 7,41 DOI: 10.3390/foods7030041 Disponible en: www.mdpi.com/journal/foods

González LM, Casanova MC, Pérez J. 2011. Cholera: History and present. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*; Vol: 15, No. 4 ISSN 1561-3194.

Ghosh B. 2000. Polyamines and plant alkaloids. *Indian Journal Experimental Biology*; 38:1086-1091.

Guzmán-Gutiérrez SL, Nieto-Camacho A, Castillo-Arellano JI, Huerta-Salazar E, Hernández-Pasteur G, Silva-Miranda M, Argüello-Nájera O, Sepúlveda-Robles O, Espitia CI y Reyes-Chilpa R. 2018. Mexican Propolis: A Source of Antioxidants and AntiInflammatory Compounds, and Isolation of a Novel Chalcone and ϵ -Caprolactone Derivative. *Molecules* 23,334; DOI: 10.3390/molecules23020334 Disponible en: www.mdpi.com/journal/molecules

Havsteen BH. 2002. The Biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*; 96: 67-202.

Hernandez J, Goycoolea FM, Quintero J, Acosta A, Castañeda M, Dominguez Z, Robles R, Vázquez-Moreno L, Velazquez EF, Astiazaran H, Lugo E, and Velazquez C. 2007. Sonoran Propolis: chemical composition and antiproliferative activity on cáncer cell lines. *Planta Med*; 73(14): 1469-1474.

Iñigo FG, Soto RJG. 2009. Efectos de Propóleos de Ures y Éster Fenílico de Ácido Cafeico sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P) y *Vibrio cholerae* no O1. Universidad de Sonora. Tesis Profesional.

Klein E, Smith DL, Laxminarayan R. 2007. Hospitalizations and Deaths caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases*; Vol. 13, No. 12.

Kumazawa S, Yoneda M, Shibata I, Kanaeda J, Hamasaka T, Nakayama T. 2003. Direct evidence for the plant origin of Brazilian propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. *Chem Pharm Bull*; 51: 740-742.

Lofty M. 2006. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*; 7: 22-31.

Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 2004. Biología de los microorganismos. Brock Décima Edición.; P.137-166. Madrid, España. Pearson Prentice Hall.

Maheshwari M, Nelapati K and Kiranmayi B. 2011. *Vibrio cholerae*: A Review. Veterinary World. Vol. 4 (9): 423-428 DOI: 10.5455/vetworld.2011.423-428

Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/280287769>

Maya K, Miyata ST, Unterweger D, Pukatzki S. 2011. Antibiotic resistance mechanisms of *Vibrio cholerae*. J Med Microbiol; 60:397-407.

Menezes H. 2005. Própolis: uma revisao dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. Arq Inst Biol; 72: 405-411.

Navarro NM. 2007. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C.; páginas 1-59.

Navarro-Navarro M, Ruiz-Bustos P, Valencia D, Robles-Zepeda RE, Ruiz-Bustos E, Virués C, Hernandez J, Dominguez Z, Velazquez C.2013. Antibacterial Activity of Sonoran Propolis and some of its constituents against clinically significant *Vibrio* species. Foodborne Pathogens and Disease Volume 10, Number 2. DOI: 10.1089/fpd.2012.1318

Nina N, Quispe C, Jiménez-Aspee F, Theoduloz C, Egly-Feresín G, Lima B, Leiva E y Schmeda-Hirschmann G. 2015. Antibacterial Activity, Antioxidant Effect and Chemical Composition of Propolis from the Region of Maule, Central Chile. Molecules 20, 18144-18167; DOI: 10.3390/molecules201018144 ISSN 1420-3049 Disponible en: www.mdpi.com/journal/molecules

Pankey A, Sabath LD. 2004. Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram-Positive Bacterial Infections. Clinical Infectious Diseases. 38(6); 864-870 Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article/38/6/864/320723/Clinical-Relevance-of-Bacteriostatic-versus>). Daily Med Fact 2017 Infectious Diseases, Internal Medicine

Pankuch GA, Jacobs MR, Appelbaum PC. 2003. Bactericidal activity of daptomycin against *Streptococcus pneumoniae* compared with eight other antimicrobials. Journal of Antimicrobial Chemotherapy; (51): 443-446.

Pepeljnjak S, Kosalec I. 2004. Galangin expresses bactericidal activity against multiple-resistant bacteria: MRSA, *Enterococcus* spp. And *Pseudomonas aeruginosa*. FEMS Microbiology Letters; 240: 111-116.

Popova M, Silici S, Kaftanoglu O, Bankova V. 2005. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. Phytomedicine; 12: 221-228.

Rasul A, Milimouno FM, Eltayb WA, Ali M, Li J, Li X. 2013. Pinocembrin: A Novel Natural Compound with Versatile Pharmacological and Biological Activities. Hindawi Publishing Corporation. Bio Med Research International; Volume 2013, Article ID 379850 Fecha de último acceso: 11 de Febrero de 2014. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/379850>

Rodríguez-Noriega E, León-Garnica G, Petersen-Morfín S, Pérez-Gómez HR, González-Díaz E, y Morfín-Otero R. 2014. La evolución de la resistencia bacteriana en México 1973-2013. Biomédica 2014; 34 (Suplemento 1):18190 DOI: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.2142>

Russo D. 2018. Flavonoids and the Structure-Antioxidant Activity Relationship. Journal of Pharmacognosy & Natural Products. 4:1 DOI: 10.4172/2472-0992.1000e109

Saeed M, Arain MA, Kamboh AA, Memon SA, Umar M, Rashid M, Babazadeh D, Abd El-Hack ME, Alagawahy M. 2017. Raw Propolis as a Promising Feed Additive in Poultry Nutrition: Trends and Advances. J. Animal Health. Prod. 5 (4): 132-142. DOI: <http://dx.doi.org/10.17582/journal.jahp/2017/5.4.132.142> ISSN (Online) 2308-2801

Salatino A, Weinstein-Teixeira E, Negri G, Message D. 2005. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. Evidence Based in Complementary and Alternative Medicine; 2: 33-38.

Sussmann P, Mattos L, Restrepo A. 2001. Resistencia bacteriana. Disponible en: <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v43n1/0026%20Resistencia.PDF>

The Center for Food and Public Health. 2011. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Iowa State University. College of Veterinary Medicine.

Disponibile en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/mrsa.pdf>

Taylor TA, Unakal C. 2017. Staphylococcus aureus. Stat Pearls Publishing. NCBI Book shelf ID: NBK441868 PMID: 28722898 (National Center for Biotechnology Information) Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/#article-29453.s11>

Valcic S, Montenegro G, Timmermann B. 1998. Lignans from Chilean propolis. Journal Natural Products; 61: 771-775.

Velazquez C, Navarro M, Acosta A, Angulo A, Dominguez Z, Robles R, Robles ZR, Lugo E, Goycoolea FM, Velazquez EF, Astiazaran H, Hernandez J. 2007. Antibacterial and free-radical scavenging activities of Sonoran propolis. Journal of Applied Microbiology; 103: 1747-1756.

Wollenweber E, Buchmann SL. 1997. Feral honey bees in the Sonoran desert: propolis sources other than poplars (*Poppulus* spp.) Zeitschrift für Naturforschung; 52c: 530-535.

WHO (World Health Organization). Disponible en: http://www.who.int/csr/don/2013_11_13/en/index.html.