



Calidad microbiológica y actividad antibacteriana de miel producida por *Melipona beecheii* en Yucatán, México

Ina Ramírez-Miranda¹ ; Yolanda Moguel-Ordóñez² 
Juan J. Acevedo-Fernández³ ; David Betancur-Ancona^{4*} .

¹Universidad Autónoma de Yucatán. Posgrado Institucional de Ciencias Agropecuarias y Manejo de Recursos Naturales y Tropicales. Mérida, Yucatán, México.

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Sureste. Campo Experimental Mocochoá. Mocochoá, Yucatán, México.

³Universidad Autónoma de Morelos. Facultad de Medicina. Leñeros S/N, Cuernavaca, Morelos, México.

⁴Universidad Autónoma de Yucatán. Facultad de Ingeniería Química. Mérida, Yucatán, México.

*Correspondencia: bancona@correo.uady.mx

Recibido: Enero 2023; Aceptado: Mayo 2023; Publicado: Junio 2023.

RESUMEN

Objetivo. Analizar la calidad microbiológica y actividad antibacteriana en 43 muestras de miel producida por *Melipona beecheii*, extraída durante las épocas de cosecha (enero a mayo del 2020 y 2021) y poscosecha (junio a octubre 2020) de meliponarios ubicados en selva baja caducifolia del Sureste de México. **Materiales y métodos.** La calidad microbiológica se determinó evaluando el contenido de mesófilos aerobios totales, coliformes, hongos, levaduras y anaerobios formadores de esporas. Para la actividad antibacteriana, se utilizó el ensayo de difusión en agar con pocillos utilizando concentraciones de miel al 5, 10, 20, 40 y 80%. **Resultados.** Se observó la presencia de mesófilos aerobios (83.7% de las muestras), coliformes (4.6%), mohos (20.9%) y levaduras (39.5%), con un máximo de 4.5×10^2 , 2.5×10^1 , 9.5×10^1 y 3.2×10^3 UFC/g, respectivamente. En ninguna muestra se observó la presencia de formas esporuladas de clostridios sulfito reductores. Con respecto a la actividad antibacteriana las mayores zonas de inhibición se registraron contra *Staphylococcus aureus* a una concentración de la miel al 80 y 40%, contrario a lo observado con *Salmonella* var. *Typhimurium*, *Pseudomonas aureginosa* y *Escherichia coli*, en donde la interferencia en el crecimiento bacteriano no fue tan evidente. **Conclusiones.** No obstante, el crecimiento de mesófilos y levaduras en la mayoría de las muestras, éstas presentaron actividad antibacteriana contra los patógenos referidos, lo cual puede ser atribuido a las interacciones entre microbioma, plantas, abejas y características fisicoquímicas de la miel.

Palabras clave: Melipona; mesófilos; coliformes; levaduras; *S. aureus* (Fuente: USDA).

ABSTRACT

Objective. To analyze the microbiological quality and antibacterial activity in 43 samples of honey produced by *Melipona beecheii*, extracted during the years 2020 and 2021 in the harvest (January to May) and post-harvest (June to October) seasons from meliponaries located in the low deciduous

Como citar (Vancouver).

Ramírez-Miranda I, Moguel-Ordóñez Y, Acevedo-Fernández JJ, Betancur-Ancona D. Calidad microbiológica y actividad antibacteriana de miel producida por *Melipona beecheii* en Yucatán, México. Rev MVZ Córdoba. 2023; 28(2):e3175. <https://doi.org/10.21897/rmvz.3175>



©El (los) autor (es) 2023. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

forest of southeast of Mexico. **Materials and methods.** Microbiological quality was determined by evaluating the content of total aerobic mesophiles, coliforms, molds, yeasts, and spore-forming anaerobes. For antibacterial activity, the agar well diffusion assay was used using 5, 10, 20, 40 and 80% honey concentrations. **Results.** The presence of aerobic mesophiles (83.7% of the samples), coliforms (4.6%), molds (20.9%) and yeasts (39.5%) was observed, with a maximum of 4.5×10^2 , 2.5×10^1 , 9.5×10^1 and 3.2×10^3 CFU/g, respectively. The presence of sporulated forms of sulfite-reducing clostridia was not observed in any sample. With respect to the antibacterial activity, the highest zones of inhibition were recorded against *Staphylococcus aureus* at a honey concentration of 80 and 40%, contrary to what was observed with *Salmonella* var. *Typhimurium*, *Pseudomonas aureginosa* and *Escherichia coli*, where the interference in bacterial growth was not so evident. **Conclusions.** However, the growth of mesophiles and yeasts in most of the samples showed antibacterial activity against the pathogens mentioned above, which can be attributed to the interactions between microbiome, plants, bees and physicochemical characteristics of honey.

Keywords: Melipona; mesophiles; coliforms; yeasts; *S. aureus* (Source: USDA).

INTRODUCCIÓN

La meliponicultura en México ha tenido un resurgimiento en los últimos 15 años debido a la demanda creciente de productos orgánicos y con propiedades funcionales (1). Sin embargo, la introducción en el mercado de miel producida por abejas sin aguijón está limitada por el poco conocimiento de las características que definen su calidad, así como la ausencia de reglamentos y procedimientos técnicos que definan sus estándares de calidad (2).

Los microorganismos pueden influir en la calidad o inocuidad de la miel. En México, la calidad sanitaria está especificada en la NMX-F-036-NORMEX-2006, sin embargo, esta refiere a *Apis mellifera*. Aun cuando se sabe que es un alimento microbiológicamente seguro, se conoce poco de los microorganismos patógenos en mieles de abejas sin aguijón. Algunos estudios han demostrado la presencia no sólo de indicadores sanitarios sino también de algunos microorganismos patógenos en este tipo de mieles (3,4).

En la península de Yucatán, la producción de miel de *Melipona beecheii* data de la época prehispánica siendo utilizaba en ceremonias religiosas y como alimento. En la medicina tradicional maya (5) era ampliamente aprovechada para el tratamiento de trastornos digestivos, enfermedades oculares, infecciones respiratorias, cicatrización de heridas, úlceras en la piel, así como en la recuperación postparto (6). Actualmente, la medicina moderna ha considerado el uso terapéutico de la miel de

abejas sin aguijón, después de que diferentes estudios han informado sobre su actividad antimicrobiana (7), tanto contra bacterias Gram positivas como Gram negativas (8), incluyendo cepas resistentes a los antibióticos (9).

Los principales factores que contribuyen a la actividad antibacteriana de la miel están relacionados con la actividad baja de agua, la acidez elevada, las enzimas, el peróxido de hidrógeno, los compuestos no peroxídicos como el metilglioxal (MGO $C_{15}H_{12}O_7$), los péptidos antimicrobianos (defensina-1) y los compuestos fenólicos (10); así como el microbioma de la miel (11). El potencial antimicrobiano de la miel depende, además de la salud de la colmena y condiciones durante la cosecha y almacenamiento, de su origen botánico (12).

En el estado de Yucatán, la selva baja caducifolia se caracteriza por una diversidad de especies de plantas nativas, aproximadamente 2400 registradas a la fecha; 600 de ellas son melíferas y 30 se consideran de gran importancia apícola (13). En esta ecorregión es donde el ciclo apibotánico, que comprende las temporadas de precosecha de octubre a diciembre, cosecha de enero a mayo y poscosecha de junio a septiembre, tiene una estrecha relación con las condiciones ambientales que afectan la floración y la producción de miel (14). El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad microbiológica y la actividad antibacteriana *in vitro* de miel producida por *M. beecheii* extraída durante las épocas de cosecha y poscosecha de meliponarios ubicados en selva baja caducifolia del estado de Yucatán, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras. De febrero de 2020 a mayo de 2021 se recolectaron 43 muestras de miel de *M. beecheii* provenientes de meliponarios localizados en 18 municipios ubicados en selva baja caducifolia como se muestra en la figura 1.

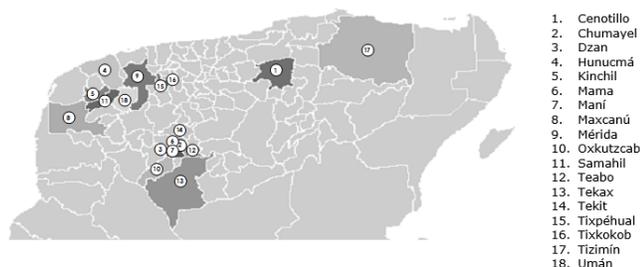


Figura 1. Municipios del estado de Yucatán donde se recolectó miel de *M. beecheii*.

Diecinueve muestras fueron obtenidas en la época de poscosecha (junio a octubre de 2020) y veinticuatro en la época de cosecha (febrero a mayo de 2020 y enero a mayo de 2021) de acuerdo con el calendario apibotánico de la península de Yucatán. La extracción fue realizada por cada meliponicultor. Las muestras fueron recolectadas, transportadas en envases de polietileno de 500 mL, aislados de la luz en un contenedor isotérmico y mantenidas en refrigeración a 4°C hasta su análisis en los laboratorios de la Facultad de Medicina, UAEM.

Análisis microbiológicos. El recuento de mesófilos aerobios totales, coliformes, mohos y levaduras se realizó a través de la técnica descrita por Tanuğur-Samanci & Meral Kekeçoğlu (15), para lo cual 10 g de muestra se diluyeron en 90 mL de agua peptonada amortiguada (MCD Lab). Para un crecimiento y una recuperación óptima de los microorganismos, se utilizó NaOH 1 N para ajustar el pH de la solución a 7.0 ± 0.2 . Se colocó 1 mL de la solución de la muestra en almohadillas de recuento aeróbico (MC-Media Pad Recuento rápido de aerobios™, MC-Media Pad Coliformes™ y MC-Media Pad Levaduras y hongos™, Merck Millipore), para posteriormente ser incubadas a: $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 48 horas para el recuento de mesófilos, $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 horas para coliformes y $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 72 horas para mohos y levaduras. Finalmente, todas las colonias fueron contadas, independientemente del tamaño y la intensidad del color designado para cada prueba.

Para el recuento de anaerobios sulfito reductores formadores de esporas, se diluyeron 10 g en 90 mL de agua peptonada amortiguada (MCD Lab). En la inactivación de células vegetativas se aplicó un tratamiento térmico de 80°C durante 5 minutos en baño de agua, seguido de un enfriamiento rápido. Un mililitro de la solución se transfirió a una caja de Petri en el que se vertieron 15 mL de agar sulfito-hierro (Condalab). El inóculo se homogenizó con el medio por movimientos circulares (derecha e izquierda), horizontales y verticales. Después que el medio solidificó, aproximadamente 10 mL de este fueron vertidos en la placa a fin de asegurar la anaerobiosis. Las cajas se sellaron con papel Parafilm e incubaron en una jarra de anaerobiosis a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 h, para después proceder al recuento de colonias negras, rodeadas por un halo negro, las cuales se identificaron como bacterias sulfito-reductoras (16).

Actividad antibacteriana. Para evaluar la actividad antibacteriana se utilizó una modificación al ensayo de difusión en agar con pozos propuesto por Ng et al (9). Las cepas utilizadas en este estudio fueron: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* var. *Typhimurium* (ATCC 14028), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 14028) y *Escherichia coli* (ATCC 8739), las cuales se inocularon en cajas con agar Müller-Hinton (MH) (BD Bioxon) e incubaron a 37°C , durante 24 h. Las cepas se suspendieron en 5 mL de solución caldo Müller-Hinton (Difco) ajustada a 0.5 en la escala de McFarland, que corresponde a una absorbancia entre 0.08 y 0.13 a una longitud de 625 nm. Esta suspensión se extendió por estriado masivo sobre placas de agar MH (grosor 4 mm) utilizando un hispo estéril. Después de secado el inóculo se procedió a cortar 5 pozos de aproximadamente 5 mm de diámetro, los cuales se llenaron con 100 mL de cada dilución en agua destilada estéril de las muestras a probar (80, 40, 20, 10 y 5 %) (v/v). Las cajas se incubaron a 37°C durante 18 horas y posteriormente los halos de inhibición se midieron con ayuda de un vernier. Dicloxicilina (1 mg/100 mL) fue utilizada como control positivo en el caso de *S. aureus* y gentamicina (10 mg/100 mL) para los Gram negativos.

Análisis estadístico. Las muestras fueron tomadas completamente azar y todas las determinaciones en este estudio se realizaron por duplicado. Los grupos cosecha y poscosecha fueron comparados utilizando la prueba de estadística no paramétrica U de Mann-Whitney. Se utilizó el paquete estadístico R (v. 4.0.2).

RESULTADOS

Análisis microbiológicos. En la figura 2 se presentan algunas imágenes ilustrativas de los resultados observados para el crecimiento de mesófilos y levaduras.

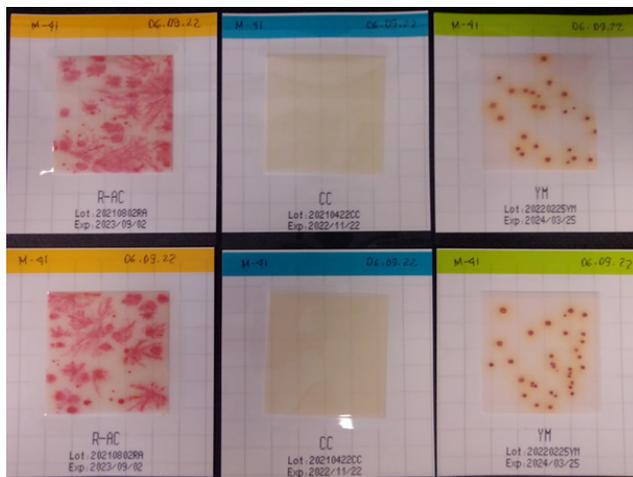


Figura 2. Representación del crecimiento de mesófilos aerobios (R-AC) y de levaduras (YM), ausencia de coliformes (CC) y mohos (YM) en una de las muestras de miel de *M. beecheii* analizadas.

A partir de la evaluación microbiológica, en 4 muestras (9.30%) provenientes de los municipios de Mama, Mérida, Oxtutzcab y Tekit no se observó crecimiento de ninguno de los indicadores sanitarios evaluados. En 36 de las 43 muestras (83.7%) hubo crecimiento de mesófilos aerobios, observándose un máximo de 4.5×10^2 UFC/g.

Con lo que respecta a coliformes, sólo en dos muestras (4.6%) se presentaron conteos de 5 y 25 UFC/g, respectivamente. En 9 muestras (20.9%) se observó el crecimiento de mohos con un máximo de 9.5×10 UFC/g. En 17 muestras (39.5%) se observó crecimiento de levaduras, con un máximo de 3.2×10^3 UFC/g. En ninguna muestra se observó la presencia de formas esporuladas de clostridios sulfito reductores. Sólo en el caso de las levaduras, 10 muestras fueron las que presentaron un recuento mayor a la especificación señalada para la miel de *A. mellifera* en la NMX-F-036-1997-NORMEX, "Alimentos-Miel-Especificaciones y métodos de prueba" (Tabla 1).

Tabla 1. Número de muestras de miel analizadas con recuento de indicadores sanitarios por encima de 10^2 y 10^3 UFC/g, de acuerdo con las especificaciones sanitarias normativas para miel de *A. mellifera*.

Época	Mesófilos > 10^3 UFC/g	Coliformes > 10^3 UFC/g	Mohos > 10^2 UFC/g	Levaduras > 10^2 UFC/g	Clostridios > 10^2 UFC/g
Cosecha	0/24 ^a	0/24 ^a	0/2 ^a	10/24 ^a	0/24 ^a
Poscosecha	0/19 ^a	0/19 ^a	0/19 ^a	7/19 ^a	0/19 ^a

^a Letras iguales en la misma columna indica que no existe diferencia significativa ($p > 0.05$)

Cabe mencionar que no hubo diferencia significativa estadísticamente ($p > 0.05$) entre las mieles extraídas entre las épocas de cosecha y poscosecha.

Actividad antimicrobiana. Con relación a la actividad antimicrobiana, debido a insuficiencia en el volumen requerido para la prueba en una de las muestras, sólo 42 de las 43 muestras fueron analizadas. El 78.6% de las muestras presentó actividad contra *S. aureus* a una concentración de 80%, el 59.5% a una concentración de 40% y el 21.4% a una concentración del 20%. Sin embargo, sólo en el 30.9 y 2.4% se observaron halos ≥ 18 mm a las concentraciones de 80 y 40%, respectivamente (Figura 3).

En lo que se refiere a las bacterias Gram negativas, la reducción en el crecimiento bacteriano se

presentó en el 57.1, 38.0 y 28.6% de las muestras a una concentración del 80% para *Salmonella enterica* var. *Typhimurium*, *P. aeruginosa* y *E. coli*, respectivamente. Mientras que a una concentración del 40% la actividad se observó sólo en el 28.6, 9.5 y 2.4% de las muestras para las mismas cepas. Sin embargo, sólo en una de las muestras se observó un halo de inhibición > 15 mm.

En este estudio, los mayores halos de inhibición se registraron contra *S. aureus*. Las medias de las zonas de inhibición para mieles recolectadas en las épocas de cosecha y poscosecha fueron de 12.34 ± 1.40 mm y 13.37 ± 2.07 mm a una concentración del 80%, 6.73 ± 1.28 y 8.48 ± 1.69 mm a una concentración del 40% y 0.92 ± 0.65 y 3.38 ± 1.11 mm a una concentración del 20% (Tabla 2). A una concentración del 20% se observó diferencia significativa ($p < 0.05$) entre épocas.

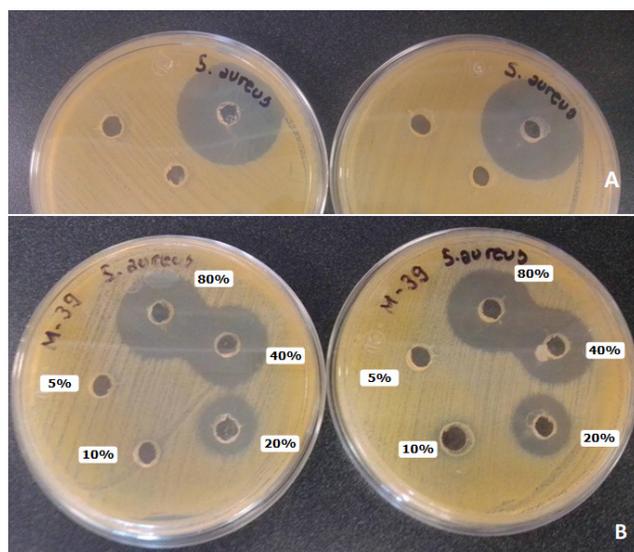


Figura 3. Ensayo de difusión en agar con pozos para la determinación de efecto antibacteriano contra *S. aureus*: A) control positivo dicloxacilina 1 mg/100 mL; B) miel de *M. beecheii* al 80, 40, 20, 10 y 5 % (v/v).

Sin embargo, en las Gram negativas se observó resistencia contra todas las muestras de miel probadas, con halos de inhibición de 6.81 ± 1.13 mm y 6.06 ± 1.28 mm para *S. enterica* var. *Typhimurium*, 2.76 ± 0.83 mm y 3.10 ± 0.88 mm para *P. aeruginosa* y 2.11 ± 0.70 mm y 2.76 ± 0.89 mm para *E. coli*, todas en concentraciones del 80% para las mieles de cosecha y poscosecha, respectivamente (Tabla 2). Ninguna diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) fue observada entre épocas.

No obstante que se observó una reducida actividad inhibitoria contra estas cepas, en todos los casos se presentaron zonas más claras alrededor de los pozos, lo que indica actividad bacteriostática (Figura 4).

Tabla 2. Diámetro medio (mm) de halos de inhibición de miel de *M. beecheii* al 20%, 40 y 80% (v/v) contra *S. aureus*, *Salmonella*, *P. aeruginosa* y *E. coli*.

	Cosecha			Poscosecha		
	20%	40%	80%	20%	40%	80%
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	0.92 ± 0.65^b	6.73 ± 1.28^c	12.34 ± 1.40^a	3.48 ± 1.1^b	8.48 ± 1.69^d	13.37 ± 2.07^c
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	Sin inhibición ^a	1.81 ± 0.8^b	6.81 ± 1.13^c	Sin inhibición ^a	3.44 ± 1.04^c	6.06 ± 1.28^b
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 14028	Sin inhibición ^a	0.34 ± 0.34^a	2.76 ± 0.83^b	Sin inhibición ^a	1.08 ± 0.61^b	3.10 ± 0.88^a
<i>E. coli</i> ATCC 8739	Sin inhibición ^a	0.25 ± 0.25^a	2.11 ± 0.7^b	Sin inhibición ^a	Sin inhibición ^a	2.76 ± 0.89^a

^{a-d} Letras diferentes en la misma columna indica que existe diferencia significativa ($p < 0.05$). En la tabla se presenta media \pm error estándar.

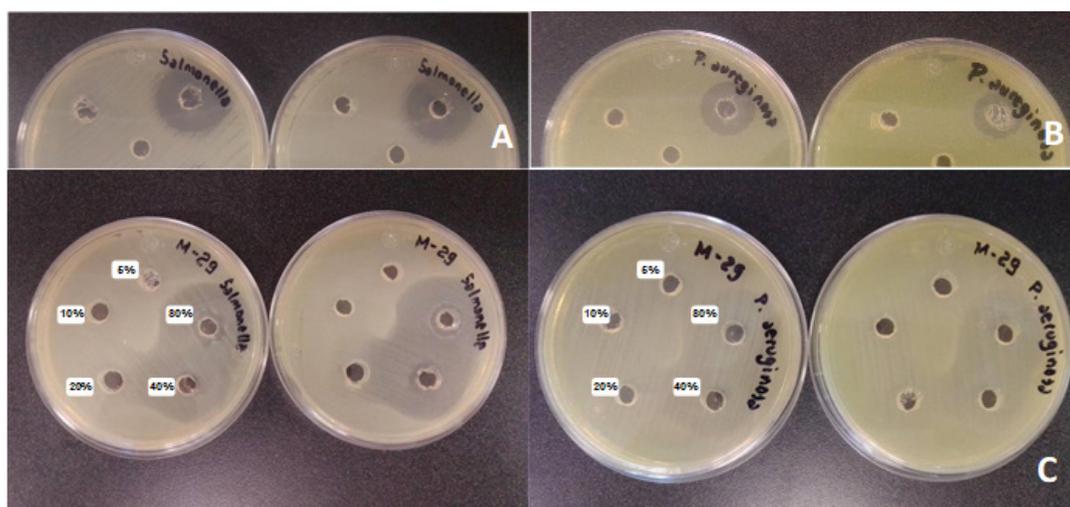


Figura 4. Ensayo de difusión en agar con pozos para la determinación de efecto antibacteriano contra *Salmonella* y *P. aeruginosa*: A) control positivo gentamicina 10 mg/100 mL; B) miel de *M. beecheii* al 80, 40, 20, 10 y 5 % (v/v).

DISCUSIÓN

Aunque en el 83.7% de las muestras se observó la presencia de mesófilos aerobios, en ninguna se presentaron valores superiores con lo establecido en el apéndice B de la NMX-F-036-2006 (17), es decir, los conteos fueron de $<10^3$ UFC/g, observándose un máximo de 4.5×10^2 UFC/g (Tabla 1).

La presencia de mohos se observó cerca del límite máximo y de levaduras excedida de acuerdo con la NMX-F-036-2006, en la que se establece un valor $<10^2$ UFC/g para cada especificación. Sin embargo, al comparar con lo establecido en el reglamento ADAB N° 207 para miel del género *Melipona*, en el que se especifica entre 10^3 y 10^4 UFC/g, las muestras cumplen con lo establecido (18).

Los resultados de esta investigación concuerdan con Fernández et al (19) para mieles de *Melipona fasciculata* en Brasil con respecto a la ausencia de contaminación por coliformes totales y clostridios sulfito reductores, no siendo así para mohos y levaduras en donde reportan que sólo una de las 40 muestras presentó un recuento total de mohos y levaduras por encima del 100 UFC/g. Otros autores como Nadja et al (20) señalaron haber encontrado de 1 a 9.7×10^2 UFC/g para mesófilos aerobios y la presencia de valores superiores a 100 UFC/g de mohos y levaduras, en el 50% en sus muestras de mieles de abejas sin aguijón recolectadas en diferentes zonas de Malasia. Un caso contrario fue reportado por Marconi et al (2) en miel de *Melipona iotta* de Perú, las cuales se presentaron libres de contaminación tanto bacteriana como de mohos y levaduras.

Al existir varias fuentes de contaminación en la miel que son difíciles de controlar como el aire, agua, néctar y polen, puede presentarse el crecimiento de microorganismos; sin embargo, durante la maduración se presentan cambios en las condiciones fisicoquímicas de la miel, evaporación gradual del agua, acidificación y aumento en la concentración de azúcares, factores que promueven la selección de microorganismos osmotolerantes, xerotolerantes y acidotolerantes (11), cuya presencia es aceptable hasta en un recuento de 10 000 UFC/g de bacterias aerobias mesófilas si se cumplen con los criterios para levaduras y se encuentran libres de contaminación fecal (21). Considerando lo anterior, la baja presencia de coliformes totales en las muestras analizadas, podrían

indicar la implementación de buenas prácticas de higiene durante la cosecha y almacenamiento o que la actividad antibacteriana no permitió la supervivencia y proliferación de estos microorganismos.

La ausencia de formas esporuladas de clostridios reductores de sulfitos permite interpretar que la contaminación de las mieles analizadas fue baja; no obstante, debido a que no se puede garantizar que toda la miel esté libre de esporas, sería recomendable aplicar algún método, como la radiación gamma, que garantice que la miel que se va a utilizar para el tratamiento de heridas y úlceras esté libre de esporas (22) y continuar con la recomendación de no promover su consumo en niños menores de un año (23).

Con respecto al recuento de mohos y levaduras, es de considerar el límite establecido en el reglamento ADAB N° 207 de hasta 10^4 UFC/100 g para miel del género *Melipona*, ya que la humedad de hasta 30% y una acidez de hasta 70 meq/100 g reportadas en este tipo de miel, son factores que favorecen el crecimiento de estos microorganismos. Los géneros de levaduras como *Starmarella*, *Candida* y *Zygosaccharomyces* han sido reportados en mieles de abejas sin aguijón (24,25) que junto con otros géneros, favorecen el proceso de fermentación de la miel cuando ésta presenta un alto grado de humedad ($>21\%$) (20). Este proceso fermentativo natural podría estar relacionado con su potencial biológico (26), como la actividad antibacteriana observada en esta investigación.

La diferencia estadística ($p < 0.05$) entre las mieles extraídas entre las épocas de cosecha y poscosecha en el recuento de mesófilos aerobios puede ser explicada por las deficiencias de buenas prácticas durante la extracción, especialmente cuando el sellado de jobones con lodo, ocasiona que durante la extracción de la miel se obtenga un producto con partículas de tierra. Así mismo puede estar vinculado a la época de extracción, alta precipitación pluvial durante la época poscosecha, adicionado a malas condiciones de almacenamiento.

En este estudio, las mayores zonas de inhibición se registraron contra *S. aureus*, y, no obstante, la mínima actividad bactericida observada contra estas cepas, en todos los casos se presentaron halos con actividad bacteriostáticas, es decir, se observaron zonas más claras, que indican de inhibición del crecimiento bacteriano (Figura

4). Esto podría deberse a las diferencias en las paredes celulares de las bacterias, ya que en los organismos gramnegativos la compleja pared celular con una membrana externa adicional protege a las bacterias del entorno excluyendo las moléculas tóxicas y proporciona una capa estabilizadora adicional alrededor de la célula tal como ha sido indicado por Silhavy et al (27).

La media de la zona de inhibición de las muestras de miel analizadas fue similar a lo reportado por Chan-Rodríguez et al (28) para *M. beecheii* en México con halos de inhibición de 10.5 mm para *S. aureus* y 4.0 mm para *E. coli* en concentraciones de miel al 80%. Caso contrario con lo descrito por Dória et al (29) y Domingos et al (7) con respecto a la inhibición de *S. aureus*, quienes reportan halos de hasta 32.7 ± 1.5 mm y 20.6 ± 0.6 mm para mieles al 50% de *M. quadrifasciata anthidioides* y *M. seminigra*, respectivamente. Sin embargo, se confirma la nula o baja sensibilidad frente a *E. coli* y *P. aeruginosa*.

Como se mencionó anteriormente, las mieles pueden constituir un reservorio para los microorganismos provenientes del ambiente. Las bacterias de los géneros *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptomyces* spp., así como bacterias ácido lácticas han sido asociadas a mieles de abejas sin agujón (4), por lo que la actividad antibacteriana de las muestras analizadas puede deberse a otros factores distintos como el perfil y concentración de los compuestos fenólicos, componentes ineludibles en la vegetación presente en la selva baja caducifolia, en las que la época del año tiene un efecto notable, pues se ha visto que aumentan su concentración durante el verano (30), y en que la actividad antibacteriana se ha asociado a una modificación en la permeabilidad de las membranas celulares y unión a enzimas, lo que ocasiona pérdidas de integridad, induciendo la consiguiente salida de compuestos intracelulares (31).

En el caso de las bacterias Gram positivas, se ha reportado que los flavonoides, 3.61 CE mg/100 g reportado por Ruiz-Ruiz et al (32) para mieles de *M. beecheii* en México y 4.19 CE mg/100 g por Alvarez et al (33) en Cuba, modifican el pH intracelular e interfieren con el sistema generador de energía (ATP). Así mismo pueden actuar inhibiendo tanto el metabolismo energético como la síntesis de ADN, afectando

así la síntesis de proteínas y ARN (31), lo que explicaría el efecto bacteriostático contra las bacterias Gram negativas obtenido en esta investigación.

Lee et al (34), reportaron que el 92.5% del total de las bacterias aisladas de diversas mieles florales analizadas en su investigación manifestaron una actividad antimicrobiana contra al menos uno de microorganismos probados, por lo que un aspecto de interés en este estudio fue la actividad antimicrobiana observada de la miel analizada, no obstante los recuentos de mesófilos, mohos y levaduras, lo cual podría explicarse a la producción de metabolitos secundarios con interacciones antagónicas interespecies como: antibióticos, bacteriocinas, biosurfactantes, sideróforos, antibióticos, toxinas, inhibidores de la percepción del cuórum o autoinducción (quorum sensing), producidos principalmente por bacilos, lactobacilos, mohos y levaduras (11). Por lo que la identificación de la microbiota de la miel de abejas sin agujón y sus beneficios antibacterianos podría conducir a su uso directo en la producción de probióticos de la industria de la tecnología alimentaria (35).

En conclusión, aunque se sabe que la miel posee propiedades antibacterianas, en este estudio se observó crecimiento de bacterias en la mayoría de las mieles analizadas, sin embargo, solamente el recuento de levaduras sobrepasó lo establecido por la normativa mexicana que aplica para miel de *A. mellifera*. Debido a su alto contenido de humedad, la miel de abejas sin agujón fue más susceptible a una contaminación microbiana, lo que hace que fermente fácilmente y por lo tanto su vida útil sea corta. Es por ello necesario evitar la contaminación y seguir buenas prácticas higiénicas para mantener la calidad de estas mieles, sobre todo si va a ser utilizada como agente terapéutico. Por lo anterior, es importante establecer en la normativa actual mexicana, especificaciones microbiológicas para la miel de abejas sin agujón recién cosechada, como la de *M. beecheii* con el objetivo de asegurar su calidad sanitaria. En lo que refiere a la actividad antibacteriana, los resultados mostraron la susceptibilidad de *S. aureus* en el 78.6% de las muestras, no siendo así en el caso de *S. typhimurium*, *P. aeruginosa* y *E. coli*. Dicha actividad antibacteriana puede estar asociada no sólo a las características fisicoquímicas de la miel, sino también a las interacciones entre microbioma, plantas y abejas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Agradecimientos

Al apoyo otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), a la Dra. Ivette Barrera Molina de la Facultad de Nutrición, UAEM y a la Dra. Gabriela Castañeda Corral de la Facultad de Medicina, UAEM.

REFERENCIAS

1. Bratman EZ. Saving the Other Bees: The Resurgence of Stingless Beekeeping in the Zona Maya. *Conserv Soc.* 2020; 18(4):387-398. <https://doi.org/10.4103/cs.cs.20.66>
2. Marconi M, Ormeño-Luna J, Vecco-Giove CD. Physicochemical and microbiological quality of honeys produced by stingless bees *Scaptotrigona polysticta*, *Melipona illota* and *Tetragonisca angustula* (Apidae: Meliponini) in San Martín, Peru. *Peruv J Agron.* 2020; 4(2): 55-60. <https://doi.org/10.21704/pja.v4i2.1541>
3. Pinheiro CG, Abrantes MR, Silva RO, Junior CA, Lobato FC, Silva JB. Microbiological quality of honey from stingless bee, jandaíra (*Melipona subnitida*), from the semiarid region of Brazil. *Ciênc Rural.* 2018; 48(9):e20180151. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180151>
4. Ngalamat MS, Raja Abd Rahman RNZ, Yusof MT, Syahir A, Sabri S. Characterisation of bacteria isolated from the stingless bee, *Heterotrigona itama*, honey, bee bread and propolis. *Peer J.* 2019; 7:e7478. <https://doi.org/10.7717/peerj.7478>
5. Vit P, Medina M, Enríquez ME. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. *Bee World.* 2004; 85(1):2-5. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2004.11099603>
6. Rao PV, Krishnan KT, Salleh N, Gan SH. Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Rev Bras Farmacogn.* 2016; 26(5):657-664. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.01.012>
7. Domingos SCB, Clebis VH, Nakazato G, de Oliveira AG Jr, Takayama Kobayashi RK, Peruquetti RC, et al. Antibacterial activity of honeys from Amazonian stingless bees of *Melipona* spp. and its effects on bacterial cell morphology. *J Sci Food Agric.* 2021; 101(5):2072-2077. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10828>
8. Brown E, O'Brien M, Georges K, Suepaul S. Physical characteristics and antimicrobial properties of *Apis mellifera*, *Frieseomelitta nigra* and *Melipona favosa* bee honeys from apiaries in Trinidad and Tobago. *BMC Complement Altern Med.* 2020; 20(1):85. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-2829-5>
9. Ng WJ, Sit NW, Ooi PA, Ee KY, Lim TM. The antibacterial potential of honeydew honey produced by stingless bee (*Heterotrigona itama*) against antibiotic resistant bacteria. *Antibiotics (Basel).* 2020; 9(12):871. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9120871>
10. Albaridi NA. Antibacterial potency of honey. *Int J Microbiol Res.* 2019; 2: 2464507. <https://doi.org/10.1155/2019/2464507>
11. Brudzynski K. Honey as an ecological reservoir of antibacterial compounds produced by antagonistic microbial interactions in plant nectars, honey and honey bee. *Antibiotics.* 2021; 10(5):551. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050551>
12. Almasaudi S. The antibacterial activities of honey. *Saudi J Biol Sci.* 2021; 28(4):2188-2196. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017>

13. Castillo CAV, Moguel OYB, Cortés CMA, Espinosa HA, Arechavaleta VME, Mora AMA. Composición botánica de mieles de la península de Yucatán, mediante qPCR y análisis de curvas de disociación. *Rev Mex Cienc Pecu.* 2016; 7(4):489–505. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v7i4.4278>
14. Zamudio AC. Producción de miel convencional y orgánica en la península de Yucatán. (Tesis de maestría). México: El Colegio de la Frontera Sur; 2017. <https://ecosur.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1017/1932>
15. Tanuğur-Samanc AE, Kekeçoğlu M. An evaluation of the chemical content and microbiological contamination of Anatolian bee venom. *PLoS One.* 2021; 16(7):e0255161. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255161>
16. Trinks F. Análisis microbiológico de los alimentos. Metodología analítica oficial. Microorganismos indicadores. Volumen 3. ReNaLOA-ANMAT: Argentina; 2014. http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf
17. Ramírez-Miranda I, Betancur-Ancona D, Moguel-Ordóñez Y. Physicochemical and microbiological standards of honey produced by genus *Melipona*. *J Apic Sci.* 2021; 65(2):197-216. <https://doi.org/10.2478/jas-2021-0016>
18. Caldas MJM, Silva IP, Machado CS, Carvalho CAL, Sodré G da S. Qualidade e perfil antimicrobiano do mel de *Melipona* asilvai. *Braz J Dev.* 2020; 6(5):32760–32768. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv6n5-646>
19. Fernandes RT, Rosa IG, Conti-Silva AC. Microbiological and physical-chemical characteristics of honeys from the bee *Melipona fasciculata* produced in two regions of Brazil. *Ciência Rural.* 2018; 48(5):e20180025. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180025>
20. Nadja JW, Ajit A, Naila A, Sulaiman AZ, Naila A. Physicochemical and microbiological analysis of stingless bees honey collected from local market in Malaysia. *Indones J Chem.* 2019; 19(2):522-530. <https://doi.org/10.22146/ijc.40869>
21. Vázquez-Quiñones CR, Moreno-Terrazas R, Natividad-Bonifacio I, Quiñones-Ramírez EI, Vázquez-Salinas C. Microbiological assessment of honey in México. *Rev Argent Microbiol.* 2018; 50(1):75-80. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.04.005>.
22. Schencke C, Vázquez B, Sandoval C, del Sol M. El rol de la miel en los procesos morfofisiológicos de reparación de heridas. *Int. J. Morphol* 2016; 34(1):385-395. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022016000100056>
23. Abdulla CO, Ayubi A, Zulfiquer F, Santhanam G, Ahmed MA, Deeb J. Infant botulism following honey ingestion. *BMJ Case Rep.* 2012: bcr1120115153. <https://doi.org/10.1136/bcr.11.2011.5153>
24. Silva MS, Rabadzhiev Y, Eller MR, Ilia Iliev I, Ivanova I, Santana WC. Microorganisms in Honey. In (Ed.), *Honey Analysis*. IntechOpen. 2017. <http://dx.doi.org/10.5772/67262>
25. Beux MR, Ávila S, Surek M, Bordin K, Leobet J, Barbieri F et al. Microbial biodiversity in honey and pollen pots produced by *Tetragonisca angustula* (Jataí). *Biol Appl Sci.* 2022; 65:e22210440. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2022210440>
26. Santos AC, Biluca FC, Braghini F, Gonzaga LV, Oliveira Costa AC, Fett R. Phenolic composition and biological activities of stingless bee honey: An overview based on its aglycone and glycoside compounds. *Food Res Int.* 2021; 147(2021):110553. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110553>.
27. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010; 2(5):a000414. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000414>.
28. Chan-Rodríguez D, Ramón-Sierra J, Lope-Ayora J, Sauri-Duch E, Cuevas-Glory L, Ortiz-Vázquez E. Antibacterial properties of honey produced by *Melipona beecheii* and *Apis mellifera* against foodborn microorganisms. *Food Sci Biotechnol.* 2012; 21(3):905-909. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0118-x>

29. Dória MM, Dória PE, Trovatti UAP, Lucchese AM. Antimicrobial activity of honey from five species of Brazilian stingless bees. *Ciênc Rural*. 2013; 43(4):672-675. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782013005000016>
30. Salminen JP, Roslin T, Karonen M, Sinkkonen J, Pihlaja K, Pulkkinen P. Seasonal variation in the content of hydrolyzable tannins, flavonoid glycosides, and proanthocyanidins in oak leaves. *J Chem Ecol*. 2004; 30(9):1693-1711. <https://doi.org/10.1023/b:joec.0000042396.40756.b7>
31. Bouarab-Chibane L, Forquet V, Lantéri P, Climent Y, Léonard-Akkari L, Oulahal N et al. Antibacterial Properties of Polyphenols: Characterization and QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) Models. *Front Microbiol*. 2019; 10:829. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00829>
32. Ruiz-Ruiz JC, J. Matus-Basto AJ, Acereto-Escoffé P, Segura-Campos MR. Antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic compounds isolated from *Melipona beecheii* honey. *Food Agric Immuno*. 2017; 28:1424-1437. <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1347148>
33. Alvarez SM, Giampieri F, Brenciani A, Mazzoni L, Gasparrini M, González AM, et al. *Apis mellifera* vs *Melipona beecheii* Cuban polyfloral honeys: A comparison based on their physicochemical parameters, chemical composition and biological properties. *LWT - Food Sci. Technol*. 2018; 87:272-279. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.079>
34. Lee H, Churey JJ, Worobo RW. Antimicrobial activity of bacterial isolates from different floral sources of honey. *Int J Food Microbiol*. 2008; 126(1-2):240-244. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.030>
35. Rosli FN, Hazemi MHF, Akbar MA, Basir S, Kassim H, Bunawan H. Stingless bee honey: Evaluating its antibacterial activity and bacterial diversity. *Insects*. 2020; 11(8):500. <https://doi.org/10.3390/insects11080500>