
**EFFECTO DE EXTRACTOS ETANOLICOS DE PROPOLEO VENEZOLANO DE
Apis mellifera SOBRE EL CRECIMIENTO IN VITRO DE *Staphylococcus Sp***

Recibido: 11/08/32025

Aceptado: 30/09/2025

César Paredes*

José Rosario**

* Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora.
UNELLEZ. Vicerrectorado de Planificación y Desarrollo Social VPDS- Barinas Venezuela

**Universidad de los Andes; NURR Trujillo-Venezuela

RESUMEN

El presente artículo se fundamenta en una investigación en proceso cuyo objetivo es evaluar el efecto de una muestra de propóleo de *Apis mellifera*, sobre el crecimiento de bacterias del género *Staphylococcus sp*, provenientes de cuatro muestras de leche de vacas positivas a mastitis subclínica grado II y III, recolectadas en la parroquia La Luz del estado Barinas. La metodología usada en esta investigación fue exploratoria en la cual, se realizó un experimento completamente aleatorizado con tres diluciones de propóleo en extracto etanoico (EEP) al 15, 25 y 50%; adicionalmente, se utilizó un antibiótico a base de Cefalexina+Kanamicina como referente y una muestra en blanco a base de etanol. El cultivo bacteriano se sembró en un agar Müller-Hinton para realizar la prueba de Kirby-Bauer (Antibiograma) y se colocaron discos impregnados con 15 µL de las tres diluciones del EEP. Entre los hallazgos se obtuvo que: a) los EEP al 25 y 50%, así como el antibiótico comercial, resultaron ser sumamente sensibles sobre el crecimiento bacteriano según la escala de Duraffourd y b) la dilución del EEP al 15% obtuvo una sensibilidad media y la muestra en blanco a base de etanol resultó con un efecto nulo, sobre la inhibición del crecimiento bacteriano. De manera general, se concluye que los tratamientos con propóleos tienen efecto antimicrobiano para esta cepa de *Staphylococcus sp*, por lo que pueden ser recomendados para su uso a nivel de campo. La presente investigación se basa en las líneas de investigación del Doctorado en Producción Animal, específicamente en la Línea 6 Salud Animal, de la Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora”.

Palabras clave: Propóleo, antibiograma, mastitis, *Staphylococcus*.

**EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACTS OF VENEZUELAN PROPOLIS FROM
APIS MELLIFERA ON THE IN VITRO GROWTH OF *STAPHYLOCOCCUS Sp***

ABSTRAC

This article is based on ongoing research aimed at evaluating the effect of a sample of *Apis mellifera* propolis on the growth of bacteria of the genus *Staphylococcus sp*, from four samples of milk from cows positive for subclinical mastitis grades II and III, collected in the La Luz parish of Barinas state Barinas. The methodology used in this research was exploratory, a completely randomized experiment was conducted with three dilutions of

propolis in ethanoic extract (EEP) at 15%, 25%, and 50%; an antibiotic based on cephalixin and kanamycin was also used as a reference, and an ethanol-based blank sample was used. The bacterial culture was seeded in Müller-Hinton agar to perform the Kirby-Bauer test (Antibiogram) and disks impregnated with 15 µL of the three dilutions of EEP were placed. Among the findings, it was obtained that: a) 25 and 50% EEP, as well as the commercial antibiotic propolis extract proved to be highly sensitive to bacterial growth according to the Duraffourd scale, and b) the 15% propolis extract dilution obtained medium sensitivity, and the ethanol-based blank sample had no effect on the inhibition of bacterial growth. In general, it is concluded that propolis treatments have an antimicrobial effect on this strain of *Staphylococcus sp.*, and can therefore be recommended for use in the field. This research is based on the lines of research of the Doctorate in Animal Production, specifically Line 6 Animal Health, at the Universidad Nacional Experimental de Los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora.”

Keywords: Propolis, antibiogram, mastitis, *Staphylococcus*.

INTRODUCCION

El conocimiento y conservación de la biodiversidad, sigue siendo una de las prioridades más importantes, desde el punto de vista ecológico, a nivel mundial. Debido al creciente deterioro de los ecosistemas a causa de la contaminación ambiental, esta ha contribuido a la extinción de especies, que en la actualidad generan una enorme preocupación en el entorno productivo. La biodiversidad es el resultado de millones de años de evolución y es fundamental para el funcionamiento de los ecosistemas que sustentan la vida humana y animal. Dentro de esta sustentabilidad, las abejas tienen una gran importancia, ya que desempeñan un papel crucial en la biodiversidad, la producción de alimentos y el equilibrio ecológico, polinizando aproximadamente el 75% de los cultivos que alimentan a la humanidad. Además, son insectos sociales, capaces de producir alimentos y productos como ceras, miel, polen y propóleo, con capacidad para curar dolencias, enfermedades y afecciones en los humanos y animales.

Igualmente, al propóleo se le han atribuido diversas actividades medicinales como antibacteriales, inmunomoduladores, antifúngicos y antioxidantes. Entre estas cualidades se destaca la actividad antibacteriana sobre distintos géneros como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomona aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Elizabethkingia meningoséptica* entre otras. Su mayor eficacia se ha reportado sobre bacterias gram positivas y en menor grado sobre bacterias gram negativas, ya que esta actividad varía en efectividad de acuerdo con las

características del ambiente donde se desarrollan las abejas, lo cual influye en la composición del propóleo. (Gil, *et al.* 2012)

Tradicionalmente, para el control de bacterias como el *Staphylococcus*, se han empleado fármacos sintéticos, principalmente los antibióticos; sin embargo, el uso indiscriminado ha generado reducción del resultado en la antibioterapia, afectando el bienestar animal y graves problemas en salud pública. Organismos como la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1999), se han pronunciado en torno a la grave situación del uso y baja efectividad de los antibióticos a nivel mundial. Advierten sobre la «pandemia silenciosa» causada por bacterias resistentes a los medicamentos, debido a la falta de nuevos antibióticos en el mercado, lo que está afectando a miles de personas en todo el mundo (Paredes y Pérez, 2022).

En este sentido, existen reportes (Gigante 2023 en OMS) donde señala que solo 27 medicamentos se están probando actualmente contra gérmenes considerados graves por la organización, de los cuales seis se consideran lo suficientemente «innovadores» como para ser capaces de superar la resistencia de los antibióticos.

En Venezuela, son escasos los estudios sobre la acción bacteriostática y bactericida de propóleos autóctonos de diversas regiones del país; no obstante, hay reportes de su eficacia sobre cepas de: *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Elizabethkingia meningoséptica*, con propóleos oriundos del estado Cojedes y sobre *Micrococcus luteus* y *Staphylococcus aureus* con propóleos del estado Miranda (Manrique, 2006; Gil, *et al.* 2008).

Sobre la base de lo expuesto, se plantea el presente trabajo cuyo objetivo fue evaluar la eficiencia del extracto etanólico de propóleo, sobre el crecimiento de una cepa de *Staphylococcus sp* proveniente de una muestra de leche de vaca positiva a mastitis subclínica grado II y III. El estudio ha sido realizado en el marco del programa del Doctorado en Producción Animal de la UNELLEZ y se fundamentó en la línea de Creación Intelectual N° 6 “Salud Animal”, aprobada por el Consejo Directivo de la UNELLEZ de fecha 19/02/2020, resolución CD/2020/054, acta 1263, punto N° 12.

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Numerosos estudios realizados en diferentes latitudes, han demostrado la efectividad del propóleo como agente antibacteriano. Esta actividad se debe, entre otros, a su alto contenido de compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales han confirmado eficientemente su control, tanto bacteriostático como bactericida, sobre el crecimiento y multiplicación de bacterias, tanto gramnegativas como grampositivas, siendo estas últimas las de mayor prevalencia en enfermedades infecciosas como la mastitis subclínica bovina.

El Propóleo

En su estado natural, el propóleo se presenta como una sustancia resinosa de color amarillo verdoso o pardo rojizo, compuesto por ciertas resinas naturales que tienden a oscurecerse. El mismo es recogido por las abejas de las yemas de los árboles, para luego ser trasladado a la colmena y regurgitado, probablemente con el agregado de otros elementos elaborados por las mismas abejas. El resultado de este proceso es un polímero balsámico resinoso, que contiene principalmente cera y aceites esenciales, y constituye una sustancia muy compleja, soluble en alcohol, éter, acetona, benceno y otros solventes (Crea, 1993).

Staphylococcus sp

Los Staphylococcus son células esféricas grampositivas por lo general dispuestas en racimos irregulares parecidos a las uvas. Se desarrollan con rapidez en muchos tipos de medios de cultivo, tienen actividad metabólica, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que van desde un color blanco hasta un amarillo intenso. Algunos son miembros del microbiota normal de la piel y mucosas del ser humano; otros causan supuración, formación de abscesos, diversas infecciones piógenas e, incluso, septicemia letal. Los Staphylococcus patógenos suelen causar hemólisis, coagular el plasma y producir diversas enzimas y toxinas extracelulares. (Carroll, *et al.* 2016).

La prevalencia mundial de *Staphylococcus aureus* (S. aureus) en la mastitis bovina es variable, pero se han reportado cifras que van desde un rango bajo del 1-10% hasta un rango alto de 50-75% a nivel de vaca, dependiendo de las buenas o malas prácticas de manejo de la leche en las granjas. Algunas revisiones sistemáticas y estudios locales indican prevalencias agrupadas significativas, como el 42% de mastitis subclínica (SCM) y el 15% de mastitis clínica (CM) a nivel mundial, con variaciones continentales y por especie (búfalos vs. ganado vacuno) (Ijaz, *et al.* 2023)

Resistencia a los antibióticos

El *Staphylococcus aureus* es un problema significativo en la medicina moderna, dada la aparición de cepas resistentes a la meticilina (MRSA) e incluso, a otros tipos de antibióticos como los glucopéptidos, como a la vancomicina.

MATERIALES Y METODOS

Tipo, nivel y diseño de la investigación

El presente estudio se basa en una investigación de nivel exploratorio, el cual Arias (2012, p. 23) define como: “Este tipo se utiliza cuando se desea familiarizarse con un tema poco estudiado o novedoso. Es especialmente útil para identificar variables y establecer prioridades para investigaciones futuras”. En cuanto al diseño se considera experimental pues, según el mismo autor, se trata de la técnica que implica la manipulación intencional de una o más variables independientes para observar sus efectos sobre variables dependientes. Este enfoque permite establecer relaciones de causalidad (Hernández, Fernández y Baptista 2014). El tipo de investigación es de campo, debido a que se caracteriza por la recolección de datos en el entorno natural donde ocurre el fenómeno de estudio, considerados como datos primarios (Hernández y otros, *op. cit.*).

Procedimiento para la recolección de la muestra de leche

Las muestras de leche de vaca provenían de una unidad de producción situada en la parroquia La Luz, municipio Obispo del estado Barinas, donde se realizó el proceso de extracción y recolección de las muestras de leche en tubos de ensayo estériles con tapa de rosca de baquelita, según lo establecido en la Norma Venezolana: Leche Cruda COVENIN 903-93.

Diseño del muestreo

En esta fase se realizó un experimento in vitro, mediante un diseño completamente aleatorizado (DCA) con los cuatro tratamientos mencionados, utilizando cuatro cápsulas de Petri por tratamiento con el enfrentamiento de los microorganismos (muestras de leche) a cada tratamiento y se midió el diámetro del halo de inhibición a las 24 y 48 horas.

Variables independientes: Tratamientos

- a) T0: Testigo solo con etanol
- b) T1: tratamiento con propóleos al 15%
- c) T2: Tratamiento con propóleos al 25%

- d) T3: Tratamiento con propóleo al 50%
- e) T4: Tratamiento comercial (Fármaco)
- f) Variables dependientes: Respuestas
- g) Crecimiento de colonias bacterianas: Diámetro (cm) del halo de inhibición producido por los tratamientos.
- h) Aislamiento e identificación de los patógenos presentes.

Análisis y procesamiento estadístico de datos

El procesamiento estadístico de los resultados del crecimiento (Halo inhibitorio) con modelo de clasificación de una vía (DCA) y medidas repetidas (24 y 48 horas), se realizó utilizando los programas SPSS versión 19.0 y STATISTIX versión 8.0.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Fueron procesados los cuatro pools de muestras de leche, provenientes de vacas y búfalas con dos y tres cruces en la prueba del CMT, para el aislamiento bacteriológico y medición de los halos de inhibición.

Identificación de los Agentes Etiológicos

La tabla 1 muestra los microorganismos aislados de las cuatro muestras procesadas en el laboratorio de microbiología de la UNELLEZ-VPDS.

Tabla 1.

Análisis bacteriológico de las muestras de leche

Muestra	Resultado
Leche Vaca ++	<i>Staphylococcus sp</i> <i>Staphylococcus coagulasa negative</i>
Leche Vaca +++	<i>Staphylococcus sp y Bacterias Gram -</i>

Fuente: Elaboración propia.

Antibiograma: Medición de halos de inhibición del crecimiento bacteriano

Para esta prueba se procedió a medir los halos de inhibición de las cuatro muestras de leche sembradas en placas de Petri que contienen agar Müller-Hinton, realizando la distribución de la manera siguiente: a) Etanol (control negativo); b) Propóleo al 15%; c) Propóleo al 25%; d) Propóleo al 50% y e) Antibiótico comercial (Cefalexina + Kanamicina). Los resultados de inhibición del crecimiento bacteriano, se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2.**Halos de inhibición del crecimiento bacteriano de los diferentes tratamientos**

Muestra Diámetro (mm)	Propóleo 0 0%	Propóleo 15%	Propóleo 25%	Propóleo 50%	Antibiotico Cefalexina+Kanamicina
Leche Vacas ++	0	15	20	22	24
Leche Vacas +++	0	16	19	20	26

Fuente: Elaboración propia.

Evaluando los promedios de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano según los valores de la escala de sensibilidad de Duraffourd (1986), se observa que en el grupo control (T0), discos con etanol, el diámetro es cero, lo que explica que su actividad antibacteriana es nula. Para el tratamiento con propóleo al 15% (T1), se tiene un promedio de 15 mm, lo que enmarca su actividad antibacteriana dentro de la escala de sensibilidad media. En los tratamientos con propóleo al 25%, 50% y fármaco comercial, (T2, T3 y T4) los promedios son superiores a 20mm del halo de inhibición, correspondiendo el mayor diámetro al antibiótico comercial (25,25 mm), por lo que se consideran sumamente sensibles (Duraffourd, *et al.* 1986).

En la tabla 3, se contrastaron los promedios del diámetro del halo inhibitorio de crecimiento bacteriano de los cinco tratamientos. Para ello se procesó el análisis de la varianza, utilizando la prueba F, para determinar si la variabilidad de las medias entre los cuatro grupos es mayor que la variabilidad de las observaciones dentro de los grupos.

Tabla 3.**Crecimiento (mm) in vitro, del halo inhibitorio (Antibiograma) por tratamiento**

Tto	Promedio Antibiogramas
T0 (Control)	00,00 c
T1 (15%Prop.)	15,00 b
T2 (25%Prop.)	20,00 ab
T3 (50%Prop.)	21,25 ab
T4 (Fármaco.)	25.25 a
Valor F (ANOVA)	F=71,1**(P<0,01)
	CV= 4,88%

**: Diferencias altamente significativas (P<0,01) entre tratamientos

Fuente: Elaboración propia.

En base al resultado de la prueba F (P<0,01) y del cociente de variación, se concluye que existe una diferencia altamente significativa en el efecto inhibitorio de crecimiento bacteriano de los cinco tratamientos evaluados.

El promedio general del diámetro de inhibición para el propóleo al 50% fue de 21,25 mm, para la solución al 25% fue de 20 mm y para el propóleo al 15% fue de 15 mm. Estos resultados son mayores a los reportados por Neacato (2005) quien señaló un promedio general del diámetro del halo de inhibición de 7,48 mm, con un coeficiente de variación de 12,60%. Esta misma concentración fue utilizada en estudios anteriores realizados por Bankova, Propova y Trusheva (2014) quienes, al trabajar con cuatro muestras de propóleos brasileño y con extractos elaborados con etanol a 70%, obtuvieron como resultado halos de inhibición con radios entre 3 y 5 mm. De igual manera, Principal y otros (2005) midieron la actividad antibacteriana in vitro del EEP sobre una cepa de *Staphylococcus aureus*, obteniendo halos de inhibición de 10 y 12 mm en promedio con concentraciones de EEP de 20 y 40 % respectivamente. Por su parte, Kushikawa, Mello, Maiklei y Sussumu. (2011) reportan halos de inhibición con crecimiento entre 6-18 mm, mientras que Najmadden y Kakamand (2009) informan de halos de inhibición de *Staphylococcus aureus* con diámetros que varían entre 15 y 22 mm al aplicar tratamientos con propóleos, los cuales son similares a los obtenidos en esta investigación.

CONCLUSIONES

El *Staphylococcus sp.* fue el principal agente etiológico diagnosticado en las muestras de leche con mastitis subclínica grado II y grado III, en la unidad de producción del municipio Obispos, parroquia La Luz, aislándose en las cuatro muestras de leche de vacas. Los resultados obtenidos en el antibiograma, midiendo en mm los halos de inhibición de crecimiento bacteriano, en promedio indican que, para la cepa de campo, el extracto etanólico de propóleo al 50% (21,25 mm), 25% (20 mm) y el tratamiento comercial cefalexina más kanamicina (25,25 mm) arrojaron todos ellos halos de inhibición mayores a 20 mm por lo cual se clasifican, según la escala de Duraffourd, como sumamente sensibles. Por otra parte, el tratamiento de extracto etanólico de propóleo al 15% (15 mm) resultó con sensibilidad media. Por lo cual se concluye que los tratamientos con propóleos tienen efecto antimicrobiano para esta cepa de *Staphylococcus sp.* y pueden ser recomendados para su uso a nivel de campo.

REFERENCIAS

- Arias, F. (2012). *El proyecto de investigación*. 5ta ed. Editorial Panapo. Caracas, Venezuela.
- Bankova, V., Popova, M., Trusheva, B. (2014). *Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review*. Chemistry Central Journal. 8(1):28. [En línea]: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4014088/> [Consulta: 2017, septiembre 26].
- Carroll, K., Hobden, J., Miller, S., Morse, S., Mietzner, T., Detrick, B., Mitchell, T., McKerrow, J., Sakanari. (2016). *Microbiología médica*. 27ª ed. McGraw-Hill. México.
- Crea, P. (1993). *Propóleo y demás productos de la colmena*. Ed. Continente - PROAPI (INTA). La Habana, Cuba.
- Duraffourd, C., D'Hervocourt, L., Lapraz, J. (1986). *Cuadernos de fitoterapia clínica*. 1ra ed. Barcelona, España.
- Gigante, V. (2023). *La Organización Mundial de la Salud constata poca investigación sobre nuevos antibióticos contra patógenos resistentes*. [En línea]: <https://www.medicosypacientes.com> [Consulta: 2023, marzo 20].
- Gil, M., Reyes, D., Rojas, T., Flores, M. (2008). *Actividad bacteriostática y bactericida de una tintura de propóleos proveniente del estado Cojedes sobre bacterias de interés clínico*. Bol Venez de Infectol, 19 (2): 124.
- Gil, M., Perelli, A., Alvarado, R., Arias Y., Blumenthal, E. (2012). *Actividad bacteriostática y bactericida de la tintura de propóleos sobre bacterias enteropatógenas*. Revista Salus-online, 16 (3). [En línea]: <http://ve.scielo.org>. [Consulta: 2024, noviembre 15].
- Hernández, R., Fernández, C., Baptista, L. (2014). *Metodología de la investigación*. 6ta ed. McGraw-Hill. México.

- Kushikawa, E., Mello, E., Maiklei, R., Sussumu, L. (2011). *Mastitis bovina por Staphylococcus aureus: sensibilidade as drogas antimicrobianas e ao extrato alcohólico de propolis* [En línea] <https://periodicos.ufersa.edu.br/acta/article/view/2172/5019> [Consulta: 2024, julio 2].
- Ijaz, M., Javed, M., Ahmed A. (2023) *Caracterización molecular y conocimientos terapéuticos sobre Staphylococcus aureus positivo a biopelículas aislado de mastitis subclínica en búfalas lecheras*. Rev. Cient. FCV-LUZ [En línea]. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/4337621> [Consulta: 2023, noviembre 21]
- Manrique, A. (2006). *Actividad antimicrobiana de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del estado Miranda, Venezuela. Efecto de la variación estacional*. Zoot Trop. 24 (1): 43-53.
- Najmadden, H., Kakamand, F. (2009). *Antimicrobial activity of propolis collected in different regions of Sulaimani province-Kurdistan region/Iraq j*. Duhok univ, 12(1):233-239. [En línea] https://www.researchgate.net/publication/317548911_Antibacterial_activity_of_propolis_on_bacteria_isolated_from_children_with_impetigo [Consulta: 2023, mayo 19]
- Norma COVENIN. (1993). *Leche Cruda*. N° 903-87. Caracas, octubre 13.
- Neacato, S. (2005). *Uso de extractos etanólicos de propóleo para el control de Staphylococcus aureus in vitro obtenidos de leche de vacas con mastitis*. [En línea]: <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2593>. [Consulta: 2019, junio 14]
- Organización Mundial de la Salud. (OMS, 1999). *Tradicional complementary and alternative medicines and therapies*. Washington DC. Regional de la OMS para Las Américas. OPS (Grupo de Trabajo OPS/OMS). [En línea]: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/46110?locale-attribute=es>. [Consulta: 2023, mayo 19]
- Paredes, C., Pérez, N. (2022). *Uso del propóleo en el control de la mastitis clínica y subclínica en vacas y búfalas*. Revista Ambientellanía. (2022) Vol.5 Nro.1: 21-31. [En Línea] <http://revistas.unellez.edu.ve/index.php/ambientellania>. [Consulta: 2023, mayo 19].
- Principal, J., Barrios, C., Pacheco, N., Corrales, F., Moreno F. (2005). *Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del propóleo sobre una cepa clínica de Staphylococcus áureus*. Gaceta de Ciencias Veterinarias, 11 (1): 31-36.

*Centro de Creación Intelectual en Neotecnologías para la Genética y la Producción Animal. <https://orcid.org/0000-0003-0928-5922>. Correo electrónico: paredes.ca@gmail.com

**Estación de Investigación Andina, Fundación La Salle, campus Boconò. <https://orcid.org/0009-0006-3379-4590>. Correo electrónico: nrosario23@gmail.com