



ARTÍCULO CORTO

Análisis del efecto de la miel en el crecimiento de *Escherichia coli* DH5- α

Merry Jocelyn González-Lázaro¹, Azul Maryann Ramírez-Romero¹, Emanuel Isaías Lino-León¹, Adrián Israel Hernández-Morales¹, Elena Margarita Castro-Rodríguez², Juan Pablo Chávez-Preciado³, Jaqueline Meritzel Florian-Peralta³, Fátima López-Alcaraz³, Karla Berenice Carrasco-Peña³, Mario del Toro-Equihua³, Karmina Sánchez-Meza³, Eliud Alfredo García-Montalvo⁴, Jorge Francisco Cerna-Cortés⁵, Joel Cerna-Cortés^{3*}

¹Bachillerato 16 de la Universidad de Colima. Villa de Álvarez, Colima, México.

²Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Colima. Colima, Colima, México.

³Facultad de Medicina de la Universidad de Colima. Colima, Colima, México.

⁴Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas. Orizaba, Veracruz, México.

⁵Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México.

Palabras clave:

Bacteria Gram negativa
Inhibición
Medio Luria Bertani
Miel de abeja
Recuento en placa

Keywords:

Gram-negative bacterium
Inhibition
Luria Bertani media
Honeybee
Plate count

Resumen

Las infecciones bacterianas representan un problema común en la práctica clínica. La resistencia a antibióticos convencionales ha impulsado la búsqueda de alternativas naturales y seguras. La miel, un producto natural con propiedades antibacterianas se ha utilizado desde los inicios de la historia humana como un medicamento. El presente trabajo evaluó la concentración mínima inhibitoria de la miel para inhibir el crecimiento de la bacteria *Escherichia coli* DH5- α . Los resultados muestran que una concentración de miel del 10 % es capaz de inhibir el crecimiento de *E. coli* DH5- α en medio agar y en caldo de cultivo líquido Luria Bertani.

Effect of honey on the bacterial growth of *Escherichia coli* DH5- α

Abstract

Bacterial infections are a common problem in clinical practice. Resistance to conventional antibiotics has driven the search for safe, natural alternatives. Honey, a natural product with antibacterial properties, has been used medicinally since the dawn of human history. This study evaluated the minimum concentration of honey that suppresses the growth of *Escherichia coli* DH5-alpha bacterium. The results show that a 10 % honey concentration can inhibit the growth of *E. coli* on LB agar and in LB liquid broth.

* Autor para correspondencia:

Facultad de Medicina,
Universidad de Colima.
Avenida Universidad 333,
Colonia Las Víboras, C.P.
28040.
Colima, Colima, México.
Correo-electrónico:
joelcerna@uclm.mx

1. Introducción

La miel se ha utilizado como medicina desde tiempos antiguos. Existen registros de su uso en la cultura babilónica. Los sumerios y egipcios la utilizaban para tratar enfermedades cutáneas y oculares. Desde hace ya 1000 años el libro “Canon de la Medicina” hace referencia a su efecto terapéutico (Avicena, 1025/1988). Incluso, la biblia y el Corán la refieren como una cosa indispensable para la vida del hombre (Yaghoobi et al., 2008).

El consumo de miel es generalmente seguro para adultos y niños mayores de un año, no se recomienda para lactantes debido a que puede contener esporas de *Clostridium botulinum*. En bebés menores de 12 meses, el intestino aún es inmaduro y no puede impedir que esas esporas germinen, lo que puede ocasionar botulismo, una enfermedad grave que afecta el sistema nervioso. El consumo de miel en niños mayores de 12 meses ya es seguro, debido a que a partir de esta edad el sistema digestivo presenta un grado de desarrollo mayor (ANSES, 2013).

La miel es una solución sobresaturada de azúcares (cerca al 80 %), compuesta principalmente de fructosa (38 %) y glucosa (31 %). Sin embargo, también contiene minerales, proteínas, aminoácidos libres, enzimas, vitaminas, polifenoles y flavonoides, a los cuales se atribuyen muchas de sus funciones biológicas. Adicionalmente, la miel presenta una actividad de agua baja, un pH ácido (3.8-5.4) y compuestos antimicrobianos como el peróxido de hidrógeno, defensinas y polifenoles, los cuales pueden actuar como antibacterianos. Además, la concentración elevada de azúcares ejerce un efecto osmótico en bacterias ocasionando su deshidratación (Alvarez-Suarez et al., 2013). Aunque los antibióticos convencionales, son efectivos, su uso excesivo ha llevado al aumento de cepas bacterianas resistentes (Mihrete et al., 2026). Por ello, la medicina tradicional y los remedios naturales han suscitado interés. El objetivo del presente trabajo fue evaluar que concentración mínima de miel es capaz de inhibir el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* DH5- α cultivado en medio Luria Bertani como alternativa al medio agar triptona extracto de levadura.

2. Materiales y Métodos

La miel empleada en este estudio fue comprada como miel silvestre producida por la abeja *Apis mellifera*, colectada por un apicultor del municipio de Tecalitlán Jalisco, México. Para evaluar la concentración mínima de miel capaz de inhibir el crecimiento de la bacteria *Escherichia coli*- DH5 α en medio agar, se consideró el método de recuento en placa de bacterias aerobias descrito en la NOM-092-SSA1-1994 (SSA, 1995), con una adaptación en el medio de cultivo, la cual consistió en el uso de medio agar Luria Bertani (LB) en sustitución del medio Agar Triptona-Extracto de Levadura (agar para cuenta estándar). Brevemente, utilizando una campana de flujo laminar, se sembró una colonia de *E. coli* DH5- α en 200 mL de caldo LB, el cuál fue dispuesto en agitación orbital a 200 rpm a 35 °C, hasta alcanzar una densidad óptica de 0.977 (cultivo madre). Con 1 mL de este

cultivo y utilizando 9 tubos de ensayo que contenían cada uno de ellos 9 mL de caldo LB estéril, se realizaron diluciones a concentraciones finales del cultivo madre de 1/ 10, 1/ 100, 1/ 1000, 1/ 10000, 1/ 100000, 1/ 1000000. Un mL de cada dilución fue colocado en cajas de Petri, rotuladas con el nombre de cada una de las diluciones. Posteriormente, a cada una de ellas, se adicionó medio agar LB líquido estéril a 45 °C sin miel (diluciones controles). Otro mL de cada dilución fue colocado en cajas Petri rotuladas como: miel 10 %, miel 20 %, miel 30 %, miel 40 %, miel 50 %, y miel 60 % indicando para cada concentración de miel las respectivas diluciones mencionadas en el párrafo previo. Posteriormente, a cada caja, se adicionó agar LB estéril en estado líquido (a una temperatura de 45 °C) en cuya preparación se utilizó agua y concentraciones finales de miel al 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 % y 60 %. Posteriormente, las placas fueron incubadas a 37 °C durante 48 h utilizando una incubadora VWR (*Sheldon Manufacturing Inc.*). El análisis para evaluar el efecto de la miel sobre el crecimiento de la bacteria *E. coli* DH5- α en medio agar LB se realizó por duplicado.

Para evaluar el efecto de la miel sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *E. coli* DH5- α en medio líquido, se prepararon 200 mL de medio de cultivo estéril de caldo LB teniendo como diluyente agua (medio control “sin miel”) y 7 frascos con 200 mL de caldo LB a concentraciones finales de miel del 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 % y 60 %. Las mezclas “caldo LB-miel” fueron esterilizadas a una temperatura de 121 °C durante 15 min. Posteriormente, se procedió a colocar 500 μ L de un cultivo madre de *E. coli* DH5- α (a una densidad óptica de 0.977) al medio de cultivo control (sin miel) y a cada uno de los frascos con caldo LB que contenían miel a las distintas concentraciones. Los cultivos control y los cultivos que contenían miel, se incubaron con agitación orbital de 200 rpm (Orbital Shaker *Scientific* 4520), a una temperatura de 35 °C durante 24 h. Durante el periodo de incubación se tomaron alícuotas de 1 mL de cada uno de los cultivos, con el propósito de evaluar el crecimiento bacteriano mediante espectrofotometría (espectrofotómetro *Spectronic* 20D) a una longitud de onda de 600 nm. Para este fin se tomaron lecturas de la absorbancia en el momento en que se colocó el inóculo del cultivo madre a cada uno de los medios y posteriormente cada 2 h. Al inicio de cada medición, se calibró el espectrofotómetro a cero de absorbancia, utilizando 1 mL de las distintas alícuotas de cada uno de los caldos estériles, control (sin miel) y de cada uno de los medios LB a las distintas concentraciones de miel. Dichas alícuotas fueron tomadas previo a la inoculación de los caldos LB sin miel y con miel con la cepa *E. coli* DH5 α (cada medio utilizado para realizar los cultivos “sin miel y con miel” sirvió como su propio control para la calibración a cero del espectrofotómetro). Los experimentos para evaluar el efecto de la miel sobre el crecimiento de *E. coli* DH5 α en caldo LB, descrito en el párrafo previo, se repitieron, pero utilizando caldo LB estéril, adicionado con miel sin esterilizar. Las curvas de crecimiento de *E. coli* DH5- α en

medio LB estéril adicionado con distintas concentraciones de miel sin esterilizar y esterilizadas fueron realizadas por triplicado, utilizando para los tres experimentos el mismo cultivo madre.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante el programa SigmaStat 3.5, el cual aprobó el análisis de normalidad de los datos. Para comparar las medias de crecimiento bacteriano, obtenidas como promedios de los valores de absorbancia a distintos tiempos (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 24 h) entre los diferentes grupos definidos por la concentración de miel (0 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 % y 60 %), se aplicó la prueba estadística ANOVA de una vía. Cuando se identificaron diferencias estadísticamente significativas, se realizaron comparaciones múltiples *post hoc* utilizando la prueba estadística Holm Sidak para determinar entre cuales tratamientos (diferentes concentraciones de miel utilizadas) se encontraban dichas diferencias, considerando un valor de $P < 0.05$. Los residuos generados por la realización de los experimentos fueron tratados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002 (SEMARNAT, 2003).

3. Resultados y Discusión

La Figura 1 muestra que la concentración de miel del 10 % en medio agar inhibe el crecimiento la cepa bacteriana *Escherichia coli* DH5- α , observándose este efecto a partir de la dilución 1/10 del cultivo madre. En la Figura 2, Se aprecia que la cepa *E. coli* DH5- α en caldo LB sin miel (cultivo control) presenta un crecimiento logarítmico desde la

siembra del inóculo bacteriano hasta las 24 h de incubación; y que la siembra de dicha bacteria en el mismo medio (caldo LB) pero adicionado de distintas cantidades de miel esterilizada (10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 % y 60 %) no presenta crecimiento.

Los experimentos descritos en párrafos previos se realizaron con medios de cultivos de agar y caldo LB mezclados con las distintas concentraciones de miel (a excepción del control) esterilizados en autoclave a una temperatura de 121 °C durante 15 min. Para descartar que el proceso de esterilización de los medios de cultivo pudiera haber caramelizado la miel y haber afectado sus propiedades antibióticas, se decidió repetir las curvas de crecimiento de *E. coli* DH5- α en caldo de cultivo LB estéril adicionado con distintas concentraciones de miel no esterilizada, tal como la podrían utilizar los pacientes. Los resultados mostraron que el cultivo de *E. coli* DH5- α control (sin miel) presentó crecimiento logarítmico desde la siembra del inóculo bacteriano hasta las 24 h de incubación y que la siembra de dicha bacteria en el mismo medio (caldo LB) pero adicionado de distintas cantidades de miel no esterilizada (10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 % y 60 %) no presentan crecimiento (Figura 3). Se observó que la miel sin esterilizar fue más eficiente que la miel esterilizada, ya que el cultivo miel al 10 % esterilizada, mostró un pequeño crecimiento de la bacteria *E. coli* DH5- α a las 24 h (Figura 2). En contraste, el crecimiento de esta en el cultivo miel al 10 % sin esterilizar fue nulo (Figura 3).

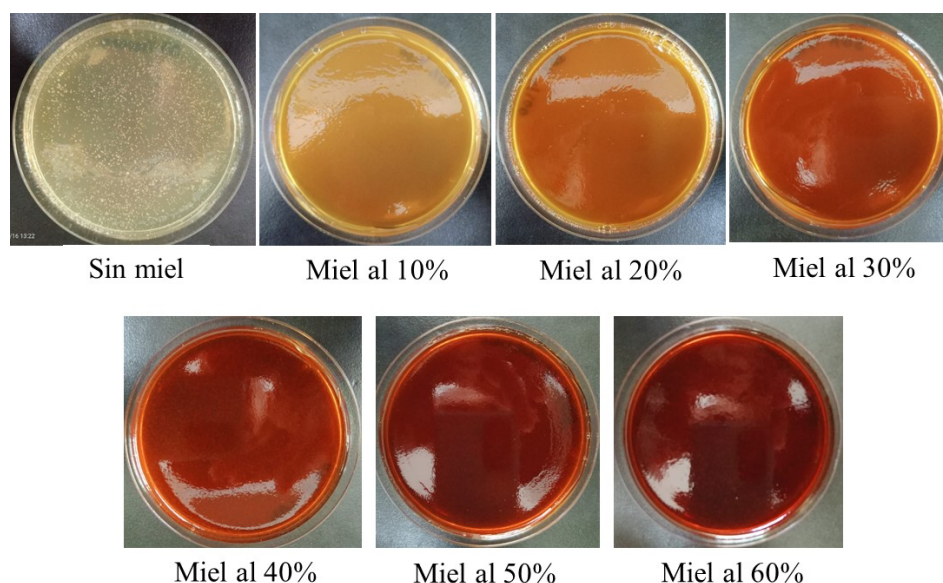


Figura 1. Crecimiento bacteriano en medio agar LB de la cepa *Escherichia coli* DH5- α sin miel (control) y con concentraciones de miel de 10 % al 60 %. Análisis realizado por duplicado.

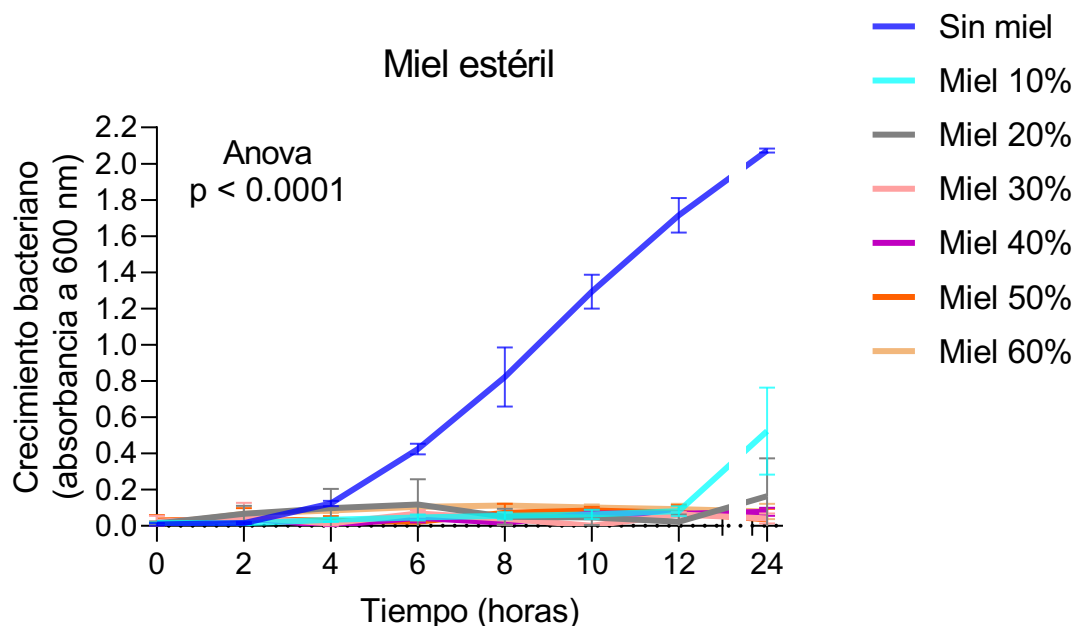


Figura 2. Crecimiento de la bacteria *Escherichia coli* DH5- α medido a través de espectrofotometría (600 nm) en caldo de cultivo Luria Bertani sin y con distintas concentraciones de miel esterilizada. Promedios de pruebas realizadas por triplicado.

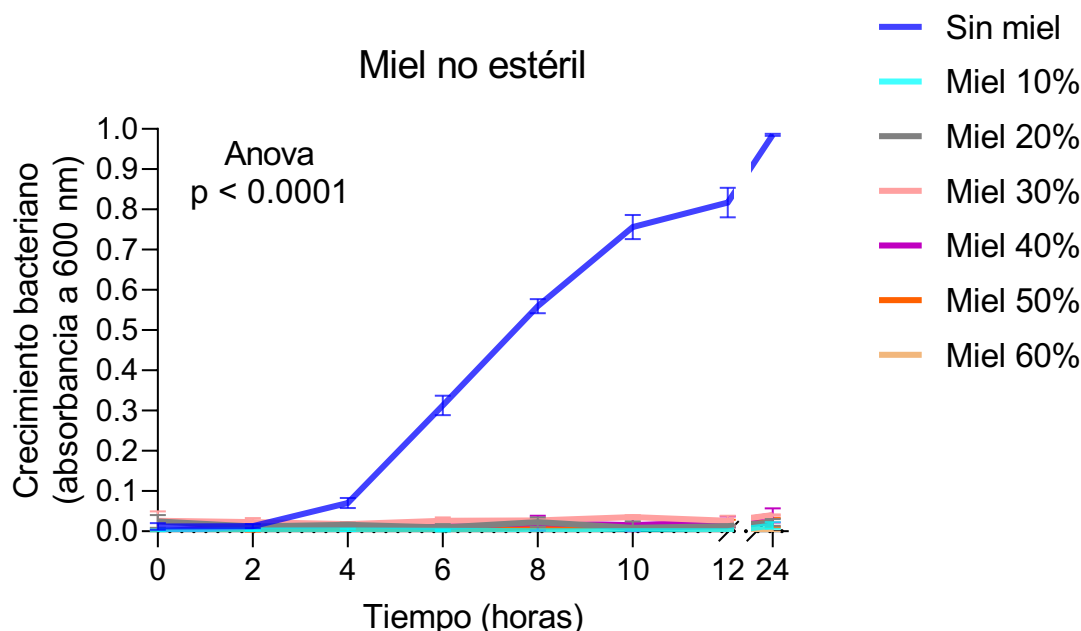


Figura 3. Crecimiento de la bacteria *Escherichia coli* DH5- α medido a través de espectrofotometría (600 nm) en caldo de cultivo Luria Bertani sin y con distintas concentraciones de miel no esterilizada. Promedios de pruebas realizadas por triplicado.

Diversos estudios han evaluado el uso de la miel para aliviar los síntomas de la faringitis y como complemento del tratamiento antibiótico. Un estudio similar al presente comparó la actividad antibacteriana de la miel y la cefalexina frente a una cepa de *E. coli*, así como la de la miel y cefquinoma frente a una cepa de *Staphylococcus aureus*, mediante ensayos de curvas de muerte bacteriana

modificadas. Los resultados mostraron que la máxima actividad antibacteriana de la miel se alcanzó con una dilución del 50 % (v/v). En el caso de *E. coli*, la cefalexina produjo una reducción del recuento de bacterias viables compatible con un efecto bactericida ($< 500 \text{ UFC mL}^{-1}$), mientras que la miel no logró superar este umbral. No obstante, frente a *S. aureus*, la miel demostró una mayor

eficacia al reducir el recuento de bacterias viables hasta niveles compatibles con la erradicación bacteriana (< 50 UFC mL⁻¹), en comparación con el efecto bactericida obtenido con el cefquinoma (< 500 UFC mL⁻¹) (Dell'Elce et al., 2018). Estos resultados contrastan en gran medida con lo observado en el presente trabajo, en donde al sustituir el agar tripton-extracto de levadura por agar LB, se observó inhibición de *E. coli* DH5- α con miel a partir de una concentración del 10% (Figura 1). Este mismo efecto se observó también al evaluar el efecto de la concentración de miel en el crecimiento de *E. coli* DH5- α en caldo LB (Figuras 2 y 3). La bacteria *E. coli* DH5- α es una bacteria Gram negativa que se caracteriza por una membrana delgada de peptidoglucano y una capa externa de lipopolisacáridos (Pokharel et al., 2023). Esta cepa bacteriana es inocua (Anton y Raleigh, 2016), por esta razón se utilizó como un modelo que permitiera estandarizar la metodología. *E. coli* es uno de los principales microorganismos que forman parte de la microbiota normal del intestino de humanos (Pokharel et al., 2023). Sin embargo, la miel podría ser utilizada para tratar infecciones principalmente en regiones corporales como la garganta y la piel debido a su accesibilidad anatómica. La bacteria que con mayor frecuencia causa las infecciones de garganta (faringitis o faringoamigdalitis) es *Streptococcus pyogenes* (Miller et al., 2024). En contraste, *Staphylococcus aureus* es la bacteria que con mayor frecuencia se asocia con las infecciones cutáneas (Miller et al., 2024). Ambos agentes patógenos son bacterias Gram positivas caracterizadas por una capa gruesa de péptido glucano (Tang et al., 2024). Algunos ensayos clínicos han mostrado que la ingesta de miel mejora los síntomas de la tos en infecciones de las vías respiratorias en niños, siendo más eficiente que la difenhidramina y el placebo, mejorando el confort sin ocasionar efectos secundarios significativos (Abuelgasim et al., 2021; Anibasa et al., 2022; Oduwale et al 2018). La miel ofrece una alternativa económica, ampliamente disponible a los antibióticos y podría contribuir a frenar la propagación de la resistencia a los antimicrobianos.

4. Conclusión

La miel de abeja a una concentración del 10 % inhibió el crecimiento *in vitro* de la bacteria *Escherichia coli* DH5- α cuando se evaluó por recuento en placa de bacterias aerobias en agar LB en sustitución del agar Tripton-Extracto de Levadura. Este mismo efecto se observó en cultivos *in vitro* utilizando caldo LB.

La investigación futura debe enfocarse en ensayos *in vitro*, semejantes al de la presente investigación, pero utilizando cepas inocuas de *Streptococcus pyogenes* (principal bacteria causal de infecciones de garganta) y *Staphylococcus aureus* (principal bacteria que ocasiona infecciones cutáneas) así como ensayos clínicos controlados para establecer protocolos claros de su uso en pacientes.

Agradecimientos

Agradecemos a los apicultores del municipio de Tecalitlán Jalisco y a nuestro Señor Jesús.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Abuelgasim H, Albury C, Lee J. 2021. Effectiveness of honey for symptomatic relief in upper respiratory tract infections: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Evidence Based Medicine*, 26(2), 57-64.
- Alvarez-Suarez JM, Giampieri F, Battino M. 2013. Honey as a source of dietary antioxidants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 20(5), 621-638.
- Anibasa FO, Abuba T, Dankyau M. 2022. Effect of honey on cough symptoms in children with upper respiratory tract infection: a randomised controlled trial. *West African Journal of Medicine*, 39(9), 928-934.
- ANSES. 2013. Honey should not be fed to infants under one year of age. <https://www.anses.fr/en/content/honey-should-not-be-fed-infants-under-one-year-age>
- Anton BP, Raleigh EA. 2016. Complete genome sequence of neb 5- α , a derivative of *Escherichia coli* K-12 DH5 α . *Genome Announcements*, 4(6), e01245-16.
- Avicena. 1988. El Canon de la Medicina (Traducido por Sharafkandi A.) Fondo de Cultura Económica. México. (Obra original publicada c. 1025).
- Dell'Elce A, Aguirre MS, Patricelli P, Formentini E. 2018. Actividad bactericida *in vitro* de miel sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Comparación con la actividad de cefalosporinas. *Revista FAVE. Sección Ciencias Veterinarias*, 17(1), 12-17.
- Mihrete K, Awoke T, Melake A, Sisay T, Abera B. 2026. Bacterial pharyngitis, antimicrobial susceptibility, and associated factors among children at comprehensive specialized hospitals, Northwest Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*, 26(1), 235.
- Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, González MD, Harrington A, Jerris RC, Kehl SC, Leal SM, Patel R, Pritt BS, Richter SS, Robinson-Dunn B, Snyder JW, Telford S, Theel ES, Thomson RB, Weinstein MP, Yao JD. 2024. Guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2024 update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clinical Infectious Diseases*, 5, ciae104.
- Oduwale O, Udoh EE, Oyo-Ita A, Meremikwu MM. 2018. Honey for acute cough in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4(4), CD007094.
- Pokharel P, Dhakal S, Dozois CM. 2023. The diversity of *Escherichia coli* pathotypes and vaccination strategies against this versatile bacterial pathogen. *Microorganisms*, 11(2), 344.
- SEMARNAT. 2003. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales & Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-

- infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo. Diario Oficial de la Federación. 17 de febrero de 2003.
- SSA. 1995. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Diario Oficial de la Federación. 12 de diciembre de 1995.
- Tang YW, Hindiyeh MY, Liu D, Sails A, Spearman P, Zhang JR. 2024. Molecular Medical Microbiology. 3ra Edición. Academic Press.
- Yaghoobi N, Al-Waili N, Ghayour-Mobarhan M, Parizadeh SM, Abasalt Z, Yaghoobi Z, Yaghoobi F, Esmacili H, Kazemi-Bajestani SM, Aghasizadeh R, Saloom KY, Ferns GA. 2008. Natural honey and cardiovascular risk factors; effects on blood glucose, cholesterol, triacylglycerole, CRP, and body weight compared with sucrose. The Scientific World Journal, 8, 463-469.