

## Propuesta de una metodología para cuantificar la actividad antibacteriana de la miel

Ferrer A<sup>1</sup>, Menseguéz S<sup>1</sup>, Anadón A<sup>1</sup>, Dell'Elce A<sup>1</sup>, Castromán R<sup>1</sup>, Candiotti V<sup>2</sup>, Picco E<sup>1</sup>, Formentini E<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Farmacología y Toxicología, FCV-UNL

<sup>2</sup>Cátedra de Semiología, FCV-UNL

[anapaulaferrer.af@gmail.com](mailto:anapaulaferrer.af@gmail.com)

La actividad antibacteriana de la miel era reconocida en la antigüedad por pueblos como el egipcio o el babilónico, que previamente habían descripto los beneficios de la misma en la prevención de infecciones y la curación de heridas<sup>2-3</sup>. La actividad antibacteriana de la miel se atribuye a su elevada osmolaridad, acidez, concentración de peróxido de hidrógeno y radicales no peróxidos tales como óxido nítrico y fenoles<sup>1</sup>. Muchas técnicas *in vitro* se han reportado para evaluar la actividad antibacteriana de la miel, sin embargo no se ha reportado ningún método estandarizado para realizar comparaciones entre distintas mieles respecto de una actividad basal o de referencia. En este trabajo proponemos una metodología que permite comparar objetivamente la actividad antibacteriana de distintas mieles. Se utilizó una cepa estandarizada de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y cuatro mieles que en estudios previos habían mostrado actividad antibacteriana *in vitro* sobre *S. aureus* (Tabla 1).

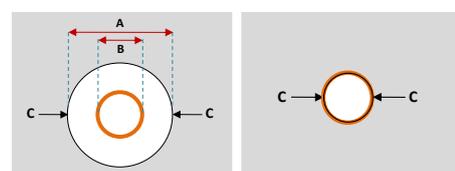
**Tabla 1.** Caracterización de cuatro tipos de mieles que en estudios previos habían presentado actividad antibacteriana sobre *S. aureus*.

Identificación	Denominación	Tipo de miel	Ciudad de origen	Provincia
A	“Monacal”	Comercial	Victoria	Entre Ríos
B*	FCV-UNL	Productor	Esperanza	Santa Fe
C	“El Ocaso”	Productor	Esquina	Corrientes
D	“Don Francisco”	Productor	San Martín	Santa Fe

(\*) Miel producida por el Grupo Funcional Apícola de la FCV en el apiario de la Unidad Académico Productiva (UAP) de la FCV-UNL.

Con un cultivo nuevo de *S. aureus* (ATCC 29213) se preparó una suspensión ( $0,5 \times 10^5$  ufc/mL) en solución fisiológica con el que se inoculó agar Mueller Hinton esterilizado a una temperatura de 45 °C a razón de 0,1 mL de suspensión cada 100 mL de agar. Se sembraron placas con agar hasta un espesor aproximado de 3 mm. Sobre la superficie de cada placa se colocaron en disposición radial cuatro cilindros de acero inoxidable de 8,14 mm de diámetro y 8,14 mm de altura. Un volumen de 0,1 mL de cada miel al 50% v/v se colocó en el interior de cada cilindro. El ensayo fue realizado por triplicado. Las placas se colocaron en estufa a 35°C durante 24 h. Transcurrido ese período se retiraron los cilindros y se midió el diámetro del halo de inhibición (A) y el halo central (B) determinado por los bordes del cilindro de acero inoxidable. Asumiendo que el diámetro del halo A es originado por la migración de los factores con actividad antibacteriana a través de la fase acuosa del agar, se asume que el límite entre la zona de inhibición y la zona de crecimiento (C) corresponde a la concentración inhibitoria mínima de la miel (CIM<sub>M</sub>). Como actividad de referencia se consideró la superficie del halo de inhibición equivalente el diámetro central del cilindro de acero inoxidable, asumiendo que esa es la menor actividad antibacteriana cuantificable, tal como se presenta en la figura 1.

**Figura 1.** Representación gráfica de la actividad antibacteriana de miel determinada por la técnica del cilindro en placa; A y B son los diámetros del halo de inhibición y el halo central respectivamente y C corresponde a la interfase equivalente a la concentración inhibitoria mínima de la miel.



La cuantificación de la actividad antibacteriana de cada miel se determinó estableciendo la relación entre la superficie del halo central ( $S_c$ ) y la superficie del halo de inhibición ( $S_i$ ) utilizando las ecuaciones 1 a 3.

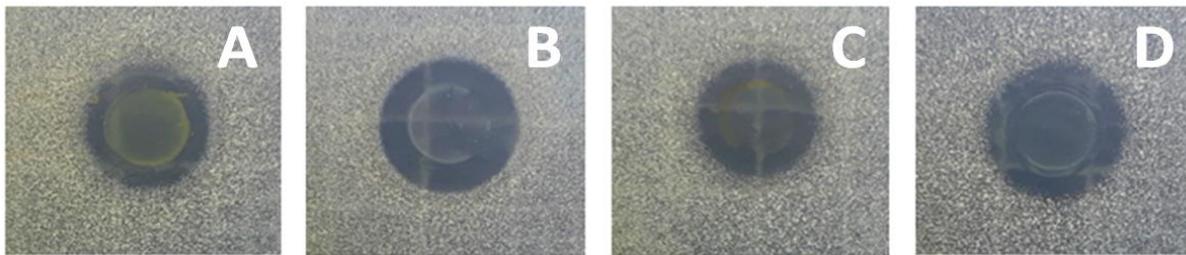
Donde,  $S_c$  y  $S_i$  son las superficies ( $\text{mm}^2$ ) del halo central y de inhibición respectivamente,  $r_c$  y  $r_i$  son los radios del halo central y de inhibición respectivamente,  $\varnothing H_c$  y  $\varnothing H_i$  son los diámetros del halo central y de inhibición. La relación entre  $S_i$  y  $S_c$  determina el valor de los múltiplos de la  $\text{CIM}_M$  presentes en la  $S_i$ .

$$S_c = \pi \cdot (r_c)^2 \text{ donde } r_c = (\varnothing H_c)/2 \quad \text{Ecuación 1}$$

$$S_i = \pi \cdot (r_i)^2 \text{ donde } r_i = (\varnothing H_i)/2 \quad \text{Ecuación 2}$$

$$\times \text{CIM} = S_i/S_c \quad \text{Ecuación 3}$$

Los halos de inhibición resultantes de la actividad de las cuatro mieles se presentan en la figura 2.



**Figura 2.** Halos de inhibición resultantes de la actividad sobre *S. aureus* de cuatro mieles (A, B, C y D) al 50% v/v sobre placa de agar.

La cuantificación de la actividad de las cuatro mieles (A, B, C y D) expresadas como múltiplos de la  $S_c$  equivalente a la  $\text{CIM}_M$  se presenta en la tabla 2.

**Tabla 2.** Cuantificación de la actividad de las cuatro mieles (A, B, C y D) expresadas como múltiplos de la superficie de inhibición central ( $\times \text{CIM}$ ) equivalente a la  $\text{CIM}_M$ .

Miel	% v/v	Halo central $\varnothing$ mm <sup>2</sup>		Halo periférico $\varnothing$ mm <sup>2</sup>		Actividad $\times \text{CIM}$
A	50	8,14	52,0	10,5	86,0	1,65
B				11,9	110,7	2,13
C				10,4	85,7	1,65
D				11,4	102,0	1,96

Los resultados obtenidos muestran que el procedimiento empleado permitió cuantificar y comparar objetivamente la actividad antibacteriana de las cuatro mieles seleccionadas, observándose la mayor actividad antibacteriana en la miel B producida en el apiario de la Unidad Académico Productiva (UAC) de la FCV-UNL. Si bien todas las mieles deberían presentar actividad antibacteriana, el grado de esta puede variar según las especies florales, la zona geográfica, la estación climática, el procesamiento (cosecha) y la conservación de las mismas. El procedimiento de cuantificación de la actividad antibacteriana de la miel presentado en este estudio puede ser empleado para identificar mieles que puedan emplearse con fines medicinales para el tratamiento de heridas.

### Bibliografía

- 1- Oryan, A.; Alemzadeh, E.; Moshiri, A. (2016). Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis. *Journal of Tissue Viability*, 25,98-118.
- 2- Becerra Torrejon, D.; Cabrera Ureña, J.; Solano, M. (2016). Efecto antibacteriano de la miel de abeja en diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus*. *Revista Científica Ciencia Médica*, 19,38- 42.
- 3- Malone, M.; Tsai, G. (2016). Wound healing with Apitherapy: A Review of the Effects of Honey. *Journal of Apitherapy*, 1(1), 29-32.