

## La dilución de miel en agua induce hormesis en la actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*

Castromán R<sup>1</sup>, Dell'Elce A<sup>1</sup>, Ferrer A<sup>1</sup>, Menseguéz S<sup>1</sup>, Anadón A<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  
[castromanrocio12@gmail.com](mailto:castromanrocio12@gmail.com)

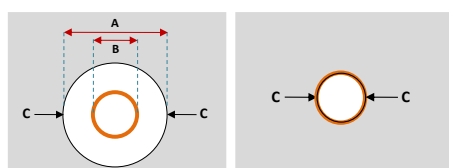
En farmacología se denomina hormesis a un aumento de eficacia a dosis bajas y a un descenso de la misma a dosis elevadas, resultando en una curva dosis respuesta en forma de “J” invertida. La actividad antibacteriana de la miel se atribuye a elevada osmolaridad, acidez, concentración peróxido y radicales no peróxidos como óxido nítrico y fenoles<sup>1</sup>. Aún se discute cual es la concentración de miel que presenta la mayor actividad antibacteriana. Muchas técnicas *in vitro* se han reportado para evaluar esta actividad, sin embargo no hemos hallado en la literatura ningún método estandarizado para realizar comparaciones entre distintas mieles respecto de una actividad basal o de referencia. En este trabajo utilizamos una metodología desarrollada por nosotros para evaluar la actividad antibacteriana de diferentes concentraciones de miel. Se utilizó una cepa estandarizada de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y cuatro mieles que previamente habían mostrado actividad *in vitro* sobre *S. aureus*, las que se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Caracterización de cuatro tipos de mieles que previamente 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.

A partir de un cultivo nuevo de *S. aureus* se preparó un inóculo ( $0,5 \times 10^5$  ufc/mL) en solución fisiológica. Se inoculó agar Mueller Hinton esterilizado con 0,1 mL del inóculo 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 cinco cilindros de acero inoxidable de 8,14 mm de diámetro y 8,14 mm de altura. Para cada miel se utilizó una placa y en el interior de cada cilindro se colocó un volumen de 0,1 mL de miel al 50-25-12,5-6,25 y 3,125 % v/v. El ensayo se realizó por triplicado. Las placas se colocaron en estufa a 35°C durante 24 h. Posteriormente se retiraron los cilindros y se midió el diámetro del halo de inhibición (A) y el halo central (C) determinado por los bordes del cilindro de acero inoxidable. Considerando que el diámetro del halo de inhibición es originado por la migración de los factores con actividad antibacteriana a través de la fase acuosa del agar, se asumió 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 un 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 al 3.

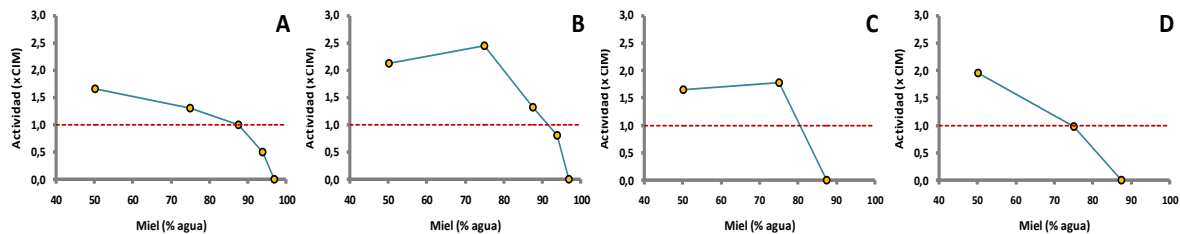
$$S_c = \pi \cdot (r_c)^2 \text{ donde } r_c = (\varnothing H_c)/2 \quad \text{Ecuación 1}$$

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

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

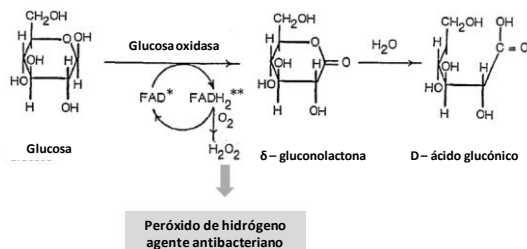
Donde  $S_c$  y  $S_i$  son las superficies ( $\text{mm}^2$ ) del halo central y de inhibición respectivamente,  $r_c$  y  $r_i$  son los radios del halo central y de inhibición respectivamente,  $\varnothing H_c$  y  $\varnothing H_i$  son los diámetros del halo central y de inhibición. La relación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

La actividad de las concentraciones sub-inhedoras se determinó como % de turbidez de la superficie del halo central. Los resultados de la actividad antibacteriana de las cuatro mieles expresadas como múltiplos de la actividad basal ( $\times CIM$ ) para cada dilución (% de agua) se presentan en la figura 2.



**Figura 2.** Actividad antibacteriana de cuatro mieles (A, B, C y D) expresadas como múltiplos de la actividad basal ( $\times CIM$ ) observados para cada dilución (50- 25-12,5-6,25 y 3,125 % v/v). La línea roja de puntos representa el valor o actividad basal representada como la unidad o  $CIM_M$ .

En las mieles A y D se observó disminución de la actividad antibacteriana proporcional al incremento de la dilución (% de agua), sin embargo se observó un incremento de la actividad a una concentración de agua mayor al 50% en las mieles B y C. Nosotros proponemos que este efecto hormético o paradójico podría ser debido a que estas mieles pueden contener menor proporción de agua libre, la que es necesaria para la actividad de la enzima glucosa-oxidasa, que cataliza la reacción que produce ácido glucónico y peróxido de hidrógeno<sup>2</sup> que son los compuestos que se postulan como los principales responsables de la actividad antibacteriana de la miel (Figura 3).



**Figura 3.** Representación esquemática de la reacción catalizada por la enzima glucosa oxidasa que da como producto final ácido glucónico (responsable del pH ácido de la miel) y de peróxido de hidrógeno, al cual se le considera como el principal compuesto con actividad antibacteriana de la miel.

Como conclusión, hemos observado que la mayor actividad antibacteriana sobre *S. aureus* fue obtenida con la miel procedente de la Unidad Académico Productiva (UAP) de la FCV-UNL, y que esa actividad (2,44  $\times CIM$ ) se obtuvo con una concentración 25 % p/v de miel (75% de agua). Dado que los componentes involucrados en la actividad antibacteriana de la miel son lábiles y capaces de ser inactivados por inadecuado procesamiento y almacenamiento (luz, calor, humedad), la actividad de la miel producida en el apiario de la UAP de la FCV-UNL podría ser considerada como un indicador de la calidad del producto.

### 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(2): 98-118.
- 2- Szeda, P. (2017). Antimicrobial activity of honey. INTECH. <http://dx.doi.org/10.5772/67117>.