

Actividad antibacteriana *in vitro* de miel sobre *Staphylococcus aureus* comparada con iodo povidona y clorhexidina; modelo que simula la aplicación por medio de apósitos

Albornoz, E.¹; Menseguez S.¹; Castroman, R.¹; Anadón, A.¹; López, A.¹; Weidmann, C.¹; Dell'Elce A.¹; Patricelli, P.¹; Formentini E.¹

¹Laboratorio de Farmacología y Toxicología, FCV-UNL

emilia.albornoz.ea@gmail.com

El *Staphylococcus aureus* es una bacteria que se encuentra presente en gran cantidad en la flora bacteriana de una herida aguda o crónica y la resistencia de esta bacteria a los antibióticos se incrementa día a día. Desde la antigüedad se ha reconocido que la miel tiene propiedades medicinales y entre las aplicaciones que se le conocen se incluyen el tratamiento de infecciones causadas por bacterias y hongos en heridas abiertas, úlceras, quemaduras e infecciones oculares¹. La propiedad curativa de la miel se debe al hecho de contener compuestos con actividad antibacteriana, mantener la humedad de la herida y debido a su elevada viscosidad actuar a modo de una barrera protectora para limitar y prevenir infecciones futuras. Actualmente se conoce que la propiedad antibacteriana de la miel es multifactorial debida a la osmolaridad originada por su elevada concentración de azúcares, su acidez, la presencia de peróxido de hidrógeno, defensina-1 de abeja y varios compuestos fitoquímicos con actividad antibacteriana, provenientes de las diferentes plantas y que llegan a la miel a partir del néctar colectado por la abeja¹. Además de sus propiedades antibacterianas, la miel ha mostrado disminuir la inflamación, promover el rápido debridamiento autolítico de los tejidos dañados y estimular la respuesta inmune³. La miel constituye una alternativa para el tratamiento antibacteriano de heridas infectadas porque es un producto natural, no alergénico, no tóxico, de fácil obtención y de bajo costo económico entre otras cosas. En este trabajo evaluamos *in vitro* la actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* de cuatro tipos de miel provenientes de la región centro de la provincia de Santa fe y de la provincia de Entre ríos y comparamos las mismas con dos antisépticos; la povidona iodada y la clorhexidina. Se utilizaron una cepa estándar de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), placas con agar antibiótico n° 1 (Britania®), solución de povidona iodada al 10%, solución de clorhexidina al 4%. Se utilizaron rectángulos de gasa estéril (2 x 2 cm) que simulaban apósitos para aplicación sobre una herida o una infección dérmica y muestras de 4 tipos de mieles; 3 provenientes de la región centro de la provincia de Santa Fe: A) miel de monte de acaulíptus, B) miel de isla y C) miel de pradera, y una miel comercial proveniente de la zona rural de la ciudad de Victoria, provincia de Entre Ríos (D). De cada una de las mieles se tomaron alícuotas con las que se realizaron diluciones al 50% v/v en agua destilada. Se preparó una suspensión de *S. aureus* con una concentración bacteriana equivalente a $1-2 \times 10^8$ unidades formadoras de colonia por mL. Con un hisopo estéril embebido en la suspensión bacteriana se extendió la misma por toda la superficie de las 4 placas de agar. Sobre la superficie de cada placa se depositaron cuatro rectángulos de gasa estériles embebidos con 100 μ L de: a) solución fisiológica, b) clorhexidina, c) povidona iodada y d) solución de miel al 50% v/v en agua destilada. Las placas se incubaron a 35°C durante 24 h. Luego de este período se retiraron las gasas y se determinó la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano en el área donde estas estaban. Una representación esquemática del modelo se presenta en la figura 1.

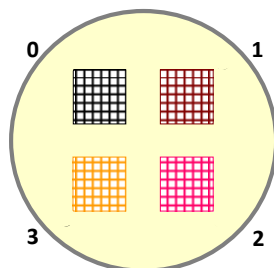
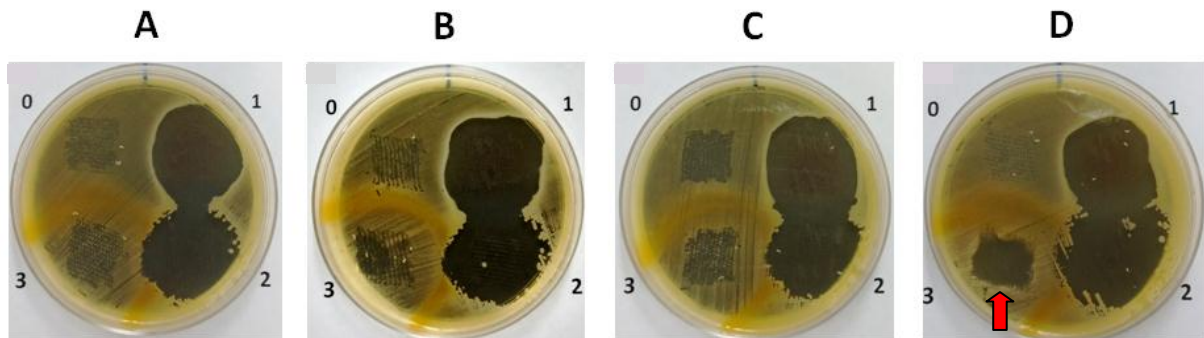


Figura 1. Representación esquemática de un modelo *in vitro* utilizado para evaluar la actividad antibacteriana de las mieles y clorhexidina y iodo povidona. Sobre la superficie de una placa de agar sembrada con una suspensión de *S. aureus* equivalente a $1-2 \times 10^8$ unidades formadoras de colonia por mL, se colocaron cuadrados de gasa estéril embebidos con 100 μ L de: 0) solución fisiológica, 1) solución de clorhexidina al 4%, 2) solución de povidona iodada al 10%, y 3) solución de miel al 50% v/v en agua destilada. Las placas se incubaron a 35°C durante 24 h. Luego de este período se retiraron las gasas y se determinó la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano en el área donde estas estaban colocadas.

El modelo *in vitro* que simuló la aplicación dérmica de apósitos impregnados con miel y antisépticos permitió evaluar la actividad de cuatro mieles de distinto origen y compararla con la de dos antisépticos. En todas las placas se observó la actividad antibacteriana de clorhexidina y povidona iodada, la que se manifestó por la presencia de un halo de ausencia de desarrollo bacteriano. Solamente la miel proveniente de la zona rural de la ciudad de Victoria, provincia de Entre Ríos (D) inhibió el desarrollo de bacterias sobre la superficie de la placa de agar. Los resultados se presentan en la figura 2.

Figura 2. Resultados de la actividad antibacteriana de clorhexidina y iodo povidona y cuatro mieles de distinto origen, tres provenientes de la región centro de la provincia de Santa Fe; **A)** miel de monte de eucalipto, **B)** miel de isla, **C)** miel de pradera y una cuarta **D)** proveniente de la zona rural la ciudad de Victoria provincia de Entre Ríos. En cada placa, los números **0, 1, 2 y 3** corresponden a los sitios donde se hallaban los rectángulos de gasa estéril impregnadas con 100 µL de solución fisiológica (actividad negativa testigo), clorhexidina al 4%, povidona iodada al 10% y miel al 50% v/v con agua destilada respectivamente. La flecha roja indica la actividad de la única miel (**D**) que impidió el desarrollo bacteriano. En las demás placas, al retirar la gasa embebida con la muestra de miel, esta arrastró consigo a la mayor parte del desarrollo bacteriano, no obstante se observa sobre las superficies de contacto restos del desarrollo bacteriano.



Se ha demostrado que todos los tipos de miel presentan actividad antibacteriana, aunque el grado de esta actividad varía en función de las especies florales de las proviene el néctar que la abeja succiona y con el que fabrica la miel. Sin embargo, hay otras causas por las que la actividad bactericida de la miel puede disminuir o anularse. Inadecuados métodos de procesamiento o de conservación como por ejemplo la exposición al calor o a la humedad entre otros, afectan de forma negativa la actividad antibacteriana de la misma². En base a los resultados obtenidos en este ensayo, podemos considerar que la ausencia de actividad antibacteriana de las mieles provenientes de monte de eucalipto, isla y de pradera, se debería a factores relacionados a su inadecuado procesamiento y conservación que habrían determinado la inactivación de los factores responsables de la actividad bactericida. Estos resultados muestran que no todas las mieles disponibles en el mercado u obtenidas directamente del productor tienen un adecuado poder bactericida para ser utilizada con fines médicos, sino que su actividad antibacteriana debería ser testeada previamente.

1- Becerra Torrejón, D.; Cabrera Ureña, J.; Solano, M. (2016). Efecto antibacteriano de la miel de abeja en diferentes concentraciones frente a *Staphylococcus aureus*. Rev Cient Cienc Med. 19(2): 38- 42

2- Kateel, R.; Bhat, G.; Baliga, S.; Augustine, A.; Ullal, S.; Adhikari, P. (2018). Antibacterial action of Tropical honey on various bacteria obtained from diabetic foot ulcer. Complement Ther Clin Pract. 30:29-32. doi: 10.1016/j.ctcp.2017.11.001.

3- Malone, M.; Tsai, G. (2016). Wound healing with Apitherapy: A Review of the Effects of Honey. J Apither. 1(1): 29-32. doi: 10.5455/ja.20160620031837.