

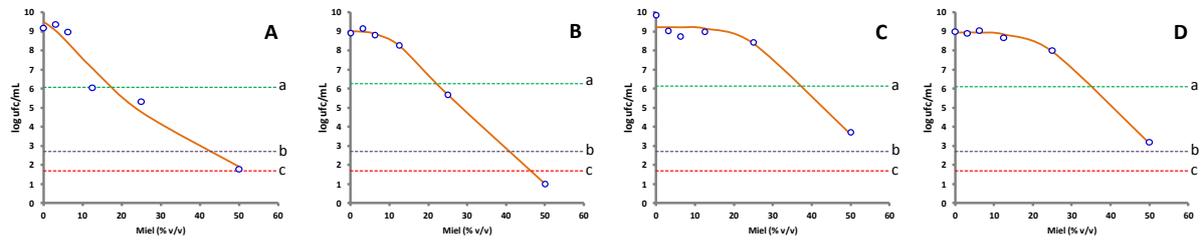
## Actividad antibacteriana de miel producida en el apiario de la Unidad Académico Productiva de la FCV-UNL sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

Anadon, A.<sup>1</sup>; López, A.<sup>1</sup>; Menseguez, S.<sup>1</sup>; Castroman, R.<sup>1</sup>; Weidman, C.<sup>1</sup>; Alborno, E.<sup>1</sup>; Dell'Elce, A.<sup>1</sup>; Patricelli P.<sup>1</sup>; Formentini E.<sup>1</sup>

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

[antoanadon@gmail.com](mailto:antoanadon@gmail.com)

Durante miles de años la humanidad ha utilizado a la miel con fines medicinales debido a su actividad antibacteriana<sup>2</sup>. La actividad antibacteriana de la miel es debida entre otras cosas a su concentración de defensina -1 de abeja, peróxido de hidrógeno, elevada osmolaridad, acidez y compuestos no peróxidos como óxido nítrico y fenoles<sup>3</sup>. *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* son bacterias que se encuentran presentes en gran cantidad en heridas agudas o crónicas y la miel ha sido utilizada para tratar infecciones dérmicas producidas por estas bacterias<sup>1</sup>. Aunque se acepta que todos los tipos de miel presentan actividad antibacteriana en grado variable, factores relacionados a su recolección, procesamiento y condiciones de almacenamiento pueden afectar negativamente esta actividad. Dado que la mayoría de los principios activos responsables de la actividad antibacteriana de la miel son termolábiles, la presencia de una elevada actividad antibacteriana sería un buen indicador de la calidad de su producción, procesamiento y conservación. De esta manera la presencia de actividad antibacteriana podría ser utilizada como un indicador adicional de calidad respecto de sus propiedades medicinales y nutricionales. En este trabajo hemos cuantificado la actividad antibacteriana *in vitro* de una muestra de miel producida en el apiario ubicado en la Unidad Académico Productiva (UAP) de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) de la Universidad Nacional del Litoral (UNL). Se utilizaron dos cepas de *Staphylococcus aureus*; una cepa testigo (ATCC 29213) y una cepa autóctona (5128) y dos cepas de *Escherichia coli*; una cepa testigo (ATCC 25922) y una cepa autóctona (09-684). Por cada cepa bacteriana se preparó por duplicado una serie de diluciones de miel en caldo Mueller Hinton a las siguientes concentraciones: 50, 25, 12,5, 6,25 y 3,12% v/v. De cada suspensión bacteriana se tomaron alícuotas de 1 mL, que fueron adicionadas a cada una de las diluciones logrando una concentración bacteriana inicial de  $5 \times 10^5$  unidades formadoras de colonia/mL (ufc/mL). De manera que por cada cepa quedaron constituidas dos series de diluciones en miel. En cada serie se incorporó un crecimiento bacteriano testigo en caldo Mueller Hinton en ausencia de miel. Todas las series de diluciones fueron incubadas a 35°C durante 24 h. De cada serie de diluciones de miel se extrajeron alícuotas a tiempo cero y a las 24 h de exposición. Las alícuotas correspondientes a cada concentración de miel fueron diluidas en forma seriada en solución fisiológica y posteriormente fueron extendidas sobre la superficie de placas de agar. Luego de incubar las placas a 35°C durante 24 h se procedió al conteo del número de ufc/placa. El conteo de colonias de cada placa se multiplicó por un factor de corrección que derivó de cada dilución realizada y el conteo de bacterias viables luego de 24 h de exposición se expresó como ufc/mL. La concentración inhibitoria mínima (CIM) de miel de las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* se determinó como la mayor dilución de miel que inhibió el crecimiento visible de microorganismos. La curva de eficacia antibacteriana de la miel se representó graficando la evolución del log ufc/mL en el crecimiento testigo y en las distintas diluciones de miel al final del ensayo. La eficacia antibacteriana de la miel se determinó con tres puntos de corte: (i) actividad bacteriostática, sin modificación del log del conteo bacteriano inicial (equivalente a la CIM), (ii) actividad bactericida, con una reducción del log del conteo bacteriano  $\leq$  a 2,7, que equivale a 500 ufc/mL, y (iii) erradicación bacteriana, con una reducción del log del conteo bacteriano  $\leq$  a 1,7, que equivale a 50 ufc/mL. La relación entre la concentración de miel (% v/v) y el log ufc/mL se ajustó con el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de Hill, con el que se estimaron los valores teóricos de las diluciones de miel con los que se obtendrían los tres efectos antibacterianos mencionados. Los resultados de la eficacia antibacteriana de la miel sobre las cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* se presentan en la figura 1 y la tabla 1.



**Figura 1.** Curvas de eficacia antibacteriana de distintas diluciones de miel (% p/v) producida en el apiario de la UAP de la FCV-UNL sobre dos cepas de *Staphylococcus aureus*; A) ATCC 29213 y B) 5128 y de dos cepas de *Escherichia coli*; C) ATCC 25922 y D) 09-684. Los conteos de bacterias viables se expresan como log de unidades formadoras de colonias/mL (ufc/mL). Las líneas de puntos horizontales corresponden a los valores del log de ufc/mL asociados a: a) efecto bacteriostático, b) efecto bactericida y c) efecto de erradicación bacteriana.

**Tabla 1.** Actividad antibacteriana de la miel sobre las cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Las diluciones de miel que logran los efectos bacteriostáticos, bactericidas y de erradicación bacteriana luego de 24 horas de exposición se estimaron a partir de los parámetros calculados con el modelo de respuesta máxima o de hill, y se expresan como se expresan como %p/v.

Efecto	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	ATCC 29213	5128	ATCC 25922	09-684
<b>Bacteriostático</b>	17,49 (%v/v)	22,53 (%v/v)	37,82 (%v/v)	35,92 (%v/v)
<b>Bactericida</b>	41,24 (%v/v)	38,65 (%v/v)	55,57 (%v/v)	52,33 (%v/v)
<b>Erradicación</b>	52,54 (%v/v)	44,71 (%v/v)	63,45 (%v/v)	58,25 (%v/v)

La miel producida en la UAC de la FCV-UNL presentó mayor potencia y eficacia sobre las cepas de *S. aureus*. Esto podría explicarse porque los principios activos con actividad antibacteriana de la miel son de acción inespecífica y probablemente la pared de las bacterias Gram+ (*S. aureus*) sea más vulnerable a la acción de estos que la pared de las bacterias Gram+ (*E. coli*). Tal como ha sido reportado por otros autores, la máxima eficacia antibacteriana se obtuvo con diluciones de miel cercanas al 50% v/v. Esto se explica porque la miel aunque presenta un contenido de agua del 17%, esta no se encuentra en estado libre a causa de la elevada concentración de azúcares que la retiene. La incorporación de agua hasta una dilución del 50% v/v, proporciona una fase acuosa por la que pueden difundir los factores con actividad antibacteriana y a su vez facilitar la actividad de la enzima glucosa oxidasa, responsable de transformar la glucosa en ácido glucónico (descenso del pH) y la formación de peróxido de hidrógeno como metabolito secundario. Ambos factores con demostrada actividad antibacteriana. Aunque la actividad antibacteriana es una propiedad que en teoría poseen todas las mieles, el grado de esta actividad es afectada por los procedimientos con los que la miel se procesa y por las condiciones de su almacenamiento y conservación, de manera que no todas las mieles disponibles en el mercado presentan el mismo grado de actividad, pudiendo en algunos casos llegar a ser nulo. De esta manera el grado de actividad antibacteriana de una miel puede ser un parámetro adicional para evaluar su calidad, por lo que la actividad antibacteriana de la miel producida en la UAC de la FCV-UNL demostrada en este ensayo puede ser considerada como un buen indicador de su calidad en lo que se refiere a sus propiedades medicinales y nutricionales.

- 1- Becerra Torrejon, 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- 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.
- 3- Oryan, A.; Alemzadeh, E.; Moshiri, A. (2016). Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis. J Tissue Viability. 25(2): 98-118. doi: 10.1016/j.jtv.2015.12.002.