

Actividad bactericida *in vitro* de la miel sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*; comparación con la actividad de antibióticos betalactámicos

Dell'Elce A.¹; Aguirre M.S.¹; Weidmann C.¹⁻²; Patricelli P.¹; Formentini E.¹

¹Laboratorio de Farmacología y Toxicología, FCV-UNL

²Cátedra de Matemática, FCV-UNL

adellelce95@gmail.com

La medicina tradicional, siempre reconoció las propiedades curativas de la miel sobre heridas y úlceras. Ya en la antigua Grecia y en Egipto se utilizaban aplicaciones tópicas de miel para tratar heridas, úlceras y quemaduras. En la medicina tradicional de la antigua Persia está bien documentado el empleo de miel para el tratamiento de heridas, eczemas y de inflamaciones cutáneas.

Con el advenimiento de los agentes antibióticos, la aplicación clínica de la miel fue abandonada y olvidada, aunque muchas culturas originarias la siguieron utilizando con fines medicinales. En el inicio del siglo XXI, la resistencia bacteriana se ha incrementado y ha llegado a ser un problema de interés mundial, ya que muchos agentes antibióticos han disminuido su eficacia. Al mismo tiempo, son pocos los nuevos antibióticos que salen al mercado para hacer frente a esta problemática.

Esta situación ha llevado a la comunidad científica a revalorar el empleo medicinal de la miel por sus propiedades curativas y antibacterianas. La potente actividad de la miel sobre bacterias resistentes a los antibióticos, ha despertado el interés por su empleo en el tratamiento de heridas y úlceras cutáneas. Sin embargo tenemos un incompleto conocimiento de los componentes de esta que determinan su actividad antibacteriana. La elevada concentración de azúcares, el peróxido de hidrógeno y el bajo pH, son componentes bien conocidos por sus propiedades antibacterianas.

Recientemente se han identificado dos compuestos cuya acción es fundamental para explicar la actividad antibacteriana de la miel; un compuesto denominado methylglyoxal y un péptido antibacteriano denominado defensina de abeja-1 (bee defensin-1). La actividad antibacteriana de la miel es altamente compleja, debido a que esta es la resultante de la interacción de múltiples componentes, cuyas proporciones y concentraciones varían según el origen de las diversas mieles.

En este estudio se evaluó la actividad antibacteriana de una miel regional sobre cepas de bacterias Gram Negativas (*Escherichia coli*) y Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) y se comparó la actividad de esta con la observada para dos antibióticos betalactámicos actuando sobre estas dos especies bacterianas. En este estudio se utilizó una muestra de miel de la región y estándares de cefalexina y cefquinoma de pureza conocida. Las cepas de *Escherichia coli* utilizadas fueron; una cepa testigo ATCC 25922 y dos cepas autóctonas; 09-684 y 17-23b. Las cepas de *Staphylococcus aureus* utilizadas fueron; una cepa testigo ATCC 29213, y dos cepas autóctonas; 5128 y 5507.

Los inóculos de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y 09-684 y *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y 5128 con una concentración bacteriana de 5×10^5 UFC/mL fueron expuestos a las siguientes concentraciones de miel: 50, 40, 30, 20 y 10%. Los inóculos fueron incubados a 35°C durante 24 h. De cada concentración 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 cada placa se multiplicó por un factor de corrección que derivó de cada dilución realizada y el conteo de bacterias viables presentes en cada concentración de miel tras 24 h de exposición se expresó como UFC/mL. La concentración inhibitoria mínima (CIM) de cefalexina para *Escherichia coli* ATCC 25922 y 1723b y de cefquinoma para *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y 5507 fueron determinadas por el método de macrodilución en tubo¹. Los inóculos de las cepas de *Escherichia coli* fueron expuestos a las siguientes concentraciones de cefalexina: 0, 8, 32 y 64 µg/mL y los inóculos

de *Staphylococcus aureus* fueron expuestos a las siguientes concentraciones de cefquinoma: 0, 0,5, 1, 2 y 4 µg/mL. De cada concentración se procedió a la toma de alícuotas, diluciones, siembra en placa y conteo de UFX/placa según el procedimiento descrito anteriormente.

La eficacia antibacteriana de la miel y los antibióticos se determinó con tres puntos de corte: (i) actividad bacteriostática, sin modificación del \log_n del conteo bacteriano inicial ($\log_n N_0$), (ii) actividad bactericida, con una reducción \geq al 99,9% de $\log_n N_0$ y (iii) erradicación bacteriana, con una reducción \geq a 99,99 de $\log_n N_0$.

La relación entre la diferencia del \log_n del número UFC/mL final y el $\log_n N_0$ obtenidas con cada concentración de antibiótico y con cada dilución de miel, se ajustó con el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de Hill, con el que se estimaron los valores teóricos de las diluciones (miel) o concentraciones (antibióticos) con los que se obtendrían los tres efectos antibacterianos mencionados. Los resultados de la eficacia antibacteriana de la miel y los antibióticos betalactámicos sobre las cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. La actividad antibacteriana de la miel sobre las cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* se expresa como % de miel que alcanza los efectos bacteriostáticos, bactericida y de erradicación bacteriana luego de 24 horas de exposición del agente infeccioso. La actividad antibacteriana de cefalexina y cefquinoma sobre las cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* se expresa como la concentración (µg/mL) de cada antibiótico que alcanza los efectos bacteriostáticos, bactericida y de erradicación bacteriana luego de 24 h de exposición del agente infeccioso.

	Miel			
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
Efecto	ATCC 25922	09-684	ATCC 29213	5128
Bacteriostático	16,82 % de miel	17,10 % de miel	2,67 % de miel	5,46 % de miel
Bactericida	-	-	24,27 % de miel	23,82 % de miel
Erradicación	-	-	58,84 % de miel	41,85 % de miel
	Cefalexina		Cefquinoma	
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
Efecto	ATCC 25922	1723b	ATCC 29213	5507
Bacteriostático	11,32 µg/mL	4,44 µg/mL	0,27 µg/mL	0,84 µg/mL
Bactericida	18,18 µg/mL	21,43 µg/mL	4,01 µg/mL	1,72 µg/mL
Erradicación	-	-	-	2,43 µg/mL

La actividad antibacteriana de la miel mostró ser más eficaz y más potente sobre las bacterias Gram positivas. Esto puede explicarse porque los compuestos antibacterianos de la miel son de acción inespecífica y posiblemente la pared de las bacterias Gram negativas sea más refractaria a estos que la pared de las bacterias Gram positivas. Sin embargo, hay que considerar que en las cepas de *Escherichia coli*, la miel al 50% logró una reducción del 99% del inóculo inicial, que es una eficacia considerable tratándose de un producto de origen natural. Respecto a la actividad antibacteriana de la miel sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, esta presentó una eficacia comparable a la observada para cefquinoma, que es un antibiótico betalactámico con actividad tiempo dependiente. Estos resultados muestran el empleo potencial de este producto natural para evitar la contaminación de heridas recientes y también para el tratamiento local de heridas infectadas.

Bibliografía

- 1- CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute. (2008). Development of *in vitro* Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters for Veterinary Antimicrobial Agents; Approved Guideline, vol. 28, third ed. Document M37-A3. Wayne, Pennsylvania, USA.
- 2- Kwakman, P.H.; Zaat, S.A. (2012) Antibacterial components of honey. IUBMB Life. 64(1):48-55.