

Actividad antibacteriana *in vitro* de miel sobre inóculos de alta densidad de *Staphylococcus aureus*

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

¹Laboratorio de Farmacología y Toxicología, FCV-UNL

anahicrawford@gmail.com

Los test *in vitro* utilizados en la evaluación de la actividad de los agentes antibacterianos se realizan utilizando concentraciones bacterianas estandarizadas como 5×10^5 unidades formadoras de colonia por mL (UFC/mL). Sin embargo esta carga bacteriana no refleja el escenario *in vivo*, ya que en muchas infecciones esta carga bacteriana puede llegar a ser mucho más elevada como puede ocurrir en el tracto respiratorio ($>10^7$ UFC/mL)² (Fagon et al., 1990) o en el sistema nervioso central ($>3 \times 10^8$ UFC/mL)³, situación que puede producirse en heridas infectadas. La actividad antibacteriana de la miel es debida entre otras cosas a su concentración de peróxido de hidrógeno, elevada osmolaridad, acidez y compuestos no peróxidos como óxido nítrico y fenoles⁴. El grado de actividad antibacteriana varía según el tipo de miel, y está influida por el tipo de flor de donde proviene el néctar como de los apropiados procedimientos de procesamiento y conservación. Por lo tanto, no todas las mieles disponibles en el mercado presentan la misma actividad antibacteriana y antes de utilizar una miel para el tratamiento de heridas infectadas sería necesario testear la presencia y el grado de su actividad antibacteriana. El *Staphylococcus aureus* es una bacteria que se encuentra en gran cantidad en la flora bacteriana de una herida aguda o crónica y la miel ha sido utilizada tratar la infecciones dérmicas producidas por esta bacteria¹. En este trabajo se evaluó la actividad antibacteriana de nueve tipos de miel provenientes de distintas regiones de Argentina sobre inóculos de dos cepas de *Staphylococcus aureus* de densidad estándar (SD) y elevada (HD). Los detalles de las mieles utilizadas en este ensayo se presentan en la tabla 1.

Identificación	Tipo de miel	Ciudad de origen	Provincia
10	Comercial	No conocido	Mendoza
2	Productor	Sauce Viejo	Santa Fe
A	Comercial	Esquina	Corrientes
4	Comercial	Victoria	Entre Ríos
C	FCV-UNL*	Esperanza	Santa Fe
8	Comercial	Victoria	Entre Ríos
1	Productor	Monte Vera	Santa Fe
7	Comercial	Crespo	Entre Ríos
9	Comercial	Chajarí	Entre Ríos

Tabla 1. Detalle del tipo y procedencia de 9 tipos de miel cuya actividad antimicrobiana fue testada frente a inóculos de alta densidad dos cepas de *S. aureus*; una cepa testigo (ATCC 25922) y una cepa autóctona (5128).

*Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral (Campo experimental), Esperanza, Santa Fe.

Se utilizaron dos cepas de *Staphylococcus aureus*; una cepa testigo (ATCC 29213) y una cepa autóctona (5128). Con cada una de ellas se prepararon dos tipos de suspensiones a) suspensión de densidad estándar (SD) con 5×10^5 unidades formadoras de colonia/mL (UFC/mL) y b) suspensión de alta densidad (HD) con 9×10^8 UFC/mL. De cada una de las mieles se tomaron muestras que se diluyeron al 50% v/v con agua destilada estéril. Con cada muestra de miel al 50% v/v se formaron 4 alícuotas de 1 mL distribuidas en 4 tubos de Kant identificados como a, b, c y d, a los que se les añadió 1 mL de los siguientes inóculos de *S. aureus*: a) ATCC 25922 SD, b) ATCC 25922 HD, c) 5128 SD y 5128 HD. Los tubos se incubaron a 35°C durante 24 h. Luego de ese tiempo, de los tubos a, b, c y d de cada muestra de miel se extrajeron 100 µL se extendieron sobre la superficie de placas de agar salado manitol (Britania®), estas se incubaron a 35°C durante 24 h. En número de UFC/mL se obtuvo multiplicando el número de colonias de cada placa x 10. La eficacia se evaluó con dos puntos de corte: a) un conteo bacteriano ≤ 500 UFC/mL se consideró como actividad bactericida asociada a la

remisión clínica y b) un conteo bacteriano ≤ 50 UFC/mL se consideró como erradicación bacteriana asociada a la cura bacteriológica. De los nueve tipos de miel, solo las mieles 4 y 8 presentaron un efecto de erradicación bacteriana ≤ 50 UFC/mL sobre los inóculos de SD de las dos cepas de *S. aureus* (ATCC y 5128), mientras este efecto solo fue obtenido con las mieles 4 y C sobre los inóculos HD de las dos cepas de *S. aureus*. Los resultados se presentan resumidos en la tabla 2.

Tabla 2. Actividad antibacteriana de distintas mieles frente a inóculos de densidad estándar (SD) y alta densidad (HD) de dos cepas de *S. aureus* (ATCC 25922) y (5128). Los valores corresponden a unidades formadoras de colonia/mL (UFC/mL). El conteo de bacterias viables al inicio del ensayo fue de 5×10^5 UFC/mL para el inóculo SD y de 9×10^8 UFC/ml para el inóculo HD. Se consideró como actividad bactericida una reducción del conteo bacteriano a valores ≤ 500 UFC/mL (valores en negrita azul), mientras que una reducción a valores ≤ 50 UFC/mL se consideró como erradicación bacteriana (valores en negrita rojo).

Tipos de miel	S. aureus (SD)	S. aureus (SD)	S. aureus (HD)	S. aureus (HD)
	ATCC 29213	5128	ATCC 29213	5128
10	> 870	> 24640	> 1430	220
2	160	70	>16040	> 2190
A	80	50	> 31280	>4240
4	0	10	10	10
C	20	90	0	30
8	10	10	40	320
1	> 31040	> 16240	> 50000	> 50000
7	350	10	260	570
9	> 50000	> 50000	> 50000	> 50000

Estos resultados muestran que dos tipos de mieles presentaron *in vitro* una excelente actividad bactericida, reduciendo cargas bacterianas de alta densidad a niveles compatibles con la erradicación, fenómeno que nuestro grupo de trabajo no halló por ejemplo con cefquinoma, un antibiótico del grupo de las cefalosporinas especialmente indicado para el tratamiento de *S. aureus*. En medicina veterinaria, cada vez está más difundido el empleo de la miel en el tratamiento de heridas con fines curativos, ya sea para reducir la carga bacteriana, evitar la contaminación de las heridas y/o favorecer la cicatrización de las mismas. Las propiedades medicinales de la miel son inobjetables, no obstante es necesario que los profesionales tomen conciencia que estas propiedades no son extensivas a todos los tipos de mieles que pueden encontrarse ya sea en el mercado o directamente del productor. La exposición prolongada al calor, ya sea en el proceso de “cosecha de la miel”, o durante su almacenamiento, es un factor que reduce significativamente su poder antibacteriano. La adulteración o fabricación de productos alimenticios en los que la miel se diluye ya sea con jarabe de glucosa o jarabe de maíz, dan como resultado productos comerciales que presentan apariencia de miel pero que nada tienen que ver con el producto original de la abeja. Los resultados muestran que antes de utilizar una muestra de miel con fines medicinales para el tratamiento de heridas, la actividad antibacteriana debería ser testada. Esto puede ser realizado mediante pruebas simples de laboratorio a fin de garantizar el éxito terapéutico deseado.

- 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- Fagon, J.; Chastre, J.; Trouillet, J.; Domart, Y.; Dombret, M., Bornet M.; Gibert C. (1990). Characterization of distal bronchial microflora during acute exacerbation of chronic bronchitis. Use of the protected specimen brush technique in 54 mechanically ventilated patients. Am Rev Respir Dis.142(5):1004-1008.
- 3- Feldman, W. (1976). Concentrations of bacteria in cerebrospinal fluid of patients with bacterial meningitis. J Pediatr. 88:549-452.
- 4- 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.