

Observación de actividad antibacteriana *in vitro* de miel sobre cepas de *Staphylococcus aureus* debido a factores termosensibles

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

¹Laboratorio de Farmacología y Toxicología, FCV-UNL

sofia.menseguez@hotmail.com

Durante miles de años la miel ha sido utilizada con fines medicinales y debido a su actividad antimicrobiana, siempre constituyó opción para el tratamiento de diversos tipos de heridas³. La actividad antibacteriana de la miel es debida entre otras cosas a la presencia de defensina-1 de abeja, su concentración de peróxido de hidrógeno, elevada osmolaridad, acidez y compuestos no peróxidos como óxido nítrico, fenoles y ¹. 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 miel ha sido utilizada tratar la infecciones dérmicas producidas por esta bacteria². En este trabajo utilizamos un modelo *in vitro* para evaluar la actividad antibacteriana de nueve tipos de miel provenientes de distintas regiones de Argentina sobre dos cepas de *Staphylococcus aureus* y las comparamos con actividad la dos antisépticos: povidona iodada y clorhexidina y también mostramos la naturaleza termosensible de los componentes de la miel responsables de su actividad antibacteriana. Los detalles de las mieles 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 testeada sobre dos cepas de *S. aureus*; una cepa testigo (ATCC 25922) y una cepa autóctona (5128), utilizando un modelo *in vitro* de infección dérmica.

*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). De cada miel se tomaron 2 alícuotas que se diluyeron al 50% v/v en agua destilada. Una de ellas fue sometida a ebullición durante 20 minutos. Con las cepas de *S. aureus* se prepararon suspensiones con una concentración bacteriana equivalente a $1-2 \times 10^8$ unidades formadoras de colonia por mL. Se prepararon 2 series (A y B) de 9 placas de agar salado manitol (Britania®) y la superficie de cada serie fue sembrada con un isopo estéril embebido en la suspensión de *S. aureus* ATCC 25922 (Serie A) y 5128 (Serie B). Sobre la superficie de cada placa se depositaron cinco cilindros de acero inoxidable que se numeraron de 0 al 4 dentro de los cuales se colocaron 100 µL de: 0) solución fisiológica, 1) miel al 50% v/v en agua destilada hervida durante 20 minutos, 2) solución de clorhexidona al 4%, 3) solución de povidona iodada al 10% y 4) miel al 50% v/v en agua destilada. Las placas se incubaron a 35°C durante 24 h. Luego de este período se retiraron los cilindros y se determinó la presencia o la ausencia de crecimiento bacteriano y en caso de haberlo, se determinó el diámetro del halo de de inhibición. Una representación esquemática del modelo se presenta en la figura 1.

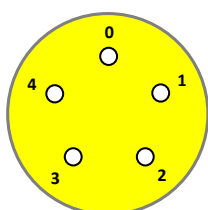
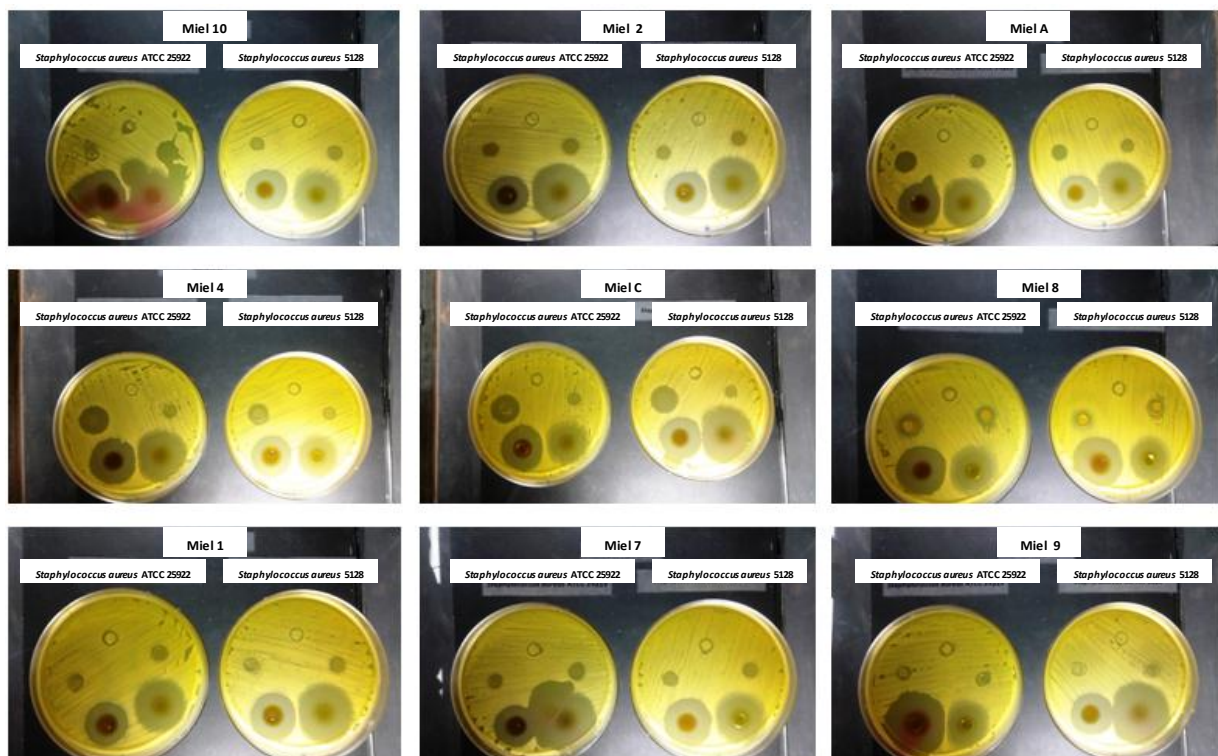


Figura 1. Representación esquemática de un modelo *in vitro* utilizado. Sobre la superficie de la placa de agar salado manitol (Britania®) sembrada con una suspensión de *S. aureus* equivalente a $1-2 \times 10^8$ unidades formadoras de colonia por mL, se colocaron cilindros de acero inoxidable, dentro de los cuales se colocaron 100 µL de: 0) solución fisiológica, 1) miel al 50% v/v en agua destilada sometida a ebullición durante 20 minutos, 2) solución de clorhexidona al 4%, 3) solución de povidona iodada al 10% y 4) miel al 50% v/v en agua destilada.

De los nueve tipos de miel, solamente cuatro presentaron actividad antibacteriana (A, 4, C y 8), presentando la cepa autóctona de *S. aureus* menor sensibilidad a la actividad de la miel. La ausencia de actividad de las muestras sometidas a ebullición, muestra la naturaleza termolábil de los componentes de la miel responsables de su actividad antibacteriana. Los resultados se presentan en la figura 2.

Figura 2. Resultados obtenidos mostrando la actividad antibacteriana *in vitro* de nueve tipos la miel comparada con la de clorhexidina al 4% y povidona iodada al 10% sobre dos cepas de *S. aureus*: ATCC 25922 y 5128. Las mieles A, 4, C y 8 presentaron actividad antibacteriana de distinta intensidad (diferentes diámetros del halo de inhibición). La naturaleza termolábil de los factores responsables de la actividad bactericida de las mieles A, 4, C y 8 se manifestó porque las mismas mieles sometidas a ebullición durante 20 minutos no presentaron halo de inhibición.



En este trabajo se testeó la actividad antibacteriana de nueve mieles sobre dos cepas de *S. aureus* y se demostró la presencia de esta actividad en cuatro tipos de miel y la naturaleza termosensible de los componentes responsables de la misma. No disponemos de evidencia para asegurar que las restantes mieles no poseían originalmente esa actividad en distinto grado, sin embargo, dada la naturaleza lábil de estos componentes fundamentalmente el peróxido de hidrógeno, y la defensina de abeja-1, es posible que esta actividad antibacteriana se haya perdido por inadecuados procesos de procesamiento y almacenamiento (humedad y calor entre otros). Concluyendo, podemos afirmar que no todas las mieles disponibles en el mercado garantizan actividad antibacteriana para ser usadas con fines medicinales, y la presencia de dicha actividad debería ser testeada previamente.

- 1- 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.
- 2- 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.
- 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.