

Acción antibacteriana de miel con propóleos

Autores: Gisela Valdés González, Teresa Giral Rivera, Miguel Ruiz Rodríguez y Milena Martín Artau.

Estación Experimental Apícola. El Cano. Arroyo Arena. La Lisa. Ciudad Habana. CP 12190. Cuba. Fax (537) 220950 E-mail eeapi@ceniai.inf.cu

Resumen

El conocimiento y aplicación de los productos apícolas en la salud humana y veterinaria esta dejando de ser en estos momentos empírica ya que se han alcanzado resultados de investigación importantes que avalan la utilización de los mismos.

Es precisamente el objetivo de este trabajo profundizar en el estudio de los productos apícolas por lo que se procedió a conocer y comparar la acción antibacteriana de extractos de propóleos, miel de abejas y una mezcla de miel de abejas con propóleos al 0,5 %.

Se obtuvo como resultado que no todas las cepas bacterianas fueron sensibles a los extractos de propóleos y a las mieles, pero sí fueron inhibidas por las mezclas de miel con propóleos al 0,5 %, quedando demostrado *in vitro* la efectividad de estas mezclas frente a los microorganismos con relación a los productos miel y propóleos por separado.

Introducción

Desde hace tiempo se conocen las propiedades antimicrobianas que poseen los productos apícolas así como su empleo en la terapéutica de algunas afecciones en humanos (Molan, 1999). La miel de abejas inhibe en gran medida el crecimiento de los microorganismos, pero presentando una gran variabilidad de acción frente a los mismos, dependiendo del tipo de miel y otros aspectos no dilucidados aún. En varios tipos de miel no se hace proporcional esta actividad antibacteriana y específicamente para ciertas cepas microbianas (Ialomiteanu y Daghie, 1973; Dustmann, 1979; Popeskovic y col; 1984, Molan, 1992)

Por otra parte el estudio del efecto inhibidor del propóleos ha sido mucho más amplio, inclusive en nuestro país (Asis, 1989). Así tenemos también que este producto presenta variabilidad del factor antimicrobiano, que pudiera deberse a la diferencia de las especies botánicas que lo integran (Kivalkina, 1976; Stark, 1993) o a los métodos de extracción de los principios activos empleados en los diferentes trabajos.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana de preparaciones de miel con propóleos, para ello se realizó el estudio del propóleos y la miel por separado y de la combinación de ambos productos apícolas (miel con propóleos al 0,5 %) enfrentándolos a diferentes cepas bacterianas con vista a evaluar la actividad biológica de este preparado para su empleo en la terapéutica de varias afecciones como antibacteriano.

Materiales y Métodos.

Para este trabajo se emplearon 12 extractos alcohólicos de propóleos procedentes de apiarios ubicados en el Mariel, Provincia La Habana. Los extractos se prepararon con alcohol al 70% a una concentración del 5% p/v.

Se emplearon 12 muestras de miel recogidas en floración de cítrico en Jagüey Grande, Matanzas y se prepararon mezclas de miel con propóleos al 0,5%.

Los extractos de propóleos, las mieles y las mezclas se enfrentaron a 8 cepas bacterianas (grampositivas y gramnegativas) empleando para ello el método de difusión en doble capa de medio agarizado con cortes cilíndricos (Grove y Randall, 1955).

Las cepas bacterianas empleadas fueron: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*.

Los inóculos bacterianos se prepararon con cultivos de 18-24 horas a una concentración celular entre 10^9 - 10^{10} células por ml. empleando una porción de 1 ml. de inóculo por cada 30 ml. de Agar nutriente fundido a 45° C.

Para la lectura de los resultados se tomó como positivo los orificios en torno a los cuales se observó un halo transparente de inhibición del crecimiento, expresando los resultados en mm. En todos los casos se montó un control de etanol al 70% y se realizó el trabajo en paralelo.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un procesamiento estadístico donde se empleo análisis de varianza de clasificación simple y la prueba de Duncan y para otros casos la prueba de t-student.

Resultados y Discusión.

En la figura 1 se expresan los resultados encontrados para los extractos alcohólicos de propóleos probados frente a las diferentes cepas bacterianas, donde se puede observar que dichos extractos de propóleos no fueron efectivos frente a las cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.* y *Pseudomonas aeruginosa*. Mientras que si resultaron efectivos para las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Proteus mirabilis* coincidiendo con los encontrados por Valdés y col (1989) pero no así con los obtenidos por Díaz y col (1999) donde hubo efecto inhibitorio del crecimiento frente a todos estos microorganismos (en mayor o menor proporción), esto puede deberse al método de extracción de los principios activos o a la procedencia floral del propóleos. No se refleja el resultado de los controles con alcohol al 70% porque en todos los casos fue negativo.

En la figura 2 se expresan los resultados obtenidos de las diferentes mieles de cítrico probadas frente a las cepas bacterianas, donde se observa que las mieles fueron efectivas frente a las cepas probadas excepto para *Bacillus subtilis* donde hubo sobrecrecimiento alrededor de los orificios, para este microorganismo ha sido encontrada una baja sensibilidad o resistencia al efecto

inhibidor de la miel de abejas (Toth y col, 1987, Valdés y col, 1996).

En este caso las cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sp.* y *Salmonella sp.* que fueron resistentes a los extractos de propóleos probados resultaron sensibles a las mieles estudiadas.

La figura 3 presenta los resultados obtenidos al enfrentar la miel con propóleos al 0.5% frente a las cepas estudiadas, encontrándose que todas las mezclas fueron efectivas ya que inhibieron las cepas probadas.

En la tabla 1 se presentan los resultados del análisis estadístico y los valores medios de los resultados encontrados para los extractos de propóleos, miel y las mezclas de miel con propóleos al 0.5% frente a las diferentes cepas, donde se observa que las cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.* y *Pseudomonas aeruginosa* manifestaron resistencia al efecto antibacteriano del propóleos y sensibilidad a la miel y con la mezcla de estos productos se garantiza la inhibición del crecimiento de estos microorganismos.

Solo en el caso de *Shigella sp.* se encontró diferencias significativas entre la miel y la miel con propóleos, donde la media aritmética alcanzada para las mezclas fue mayor. Pudiera ser que la combinación de estos productos (miel y propóleos) produjera un mejor efecto de inhibición sobre este microorganismo

Situación diferente ocurrió con *Bacillus subtilis* donde resulto ser inhibido por los extractos de propóleos, pero la miel ejerció un efecto contrario ya que hubo sobrecrecimiento, mientras que las mezclas fueron efectivas pero con valores menores que los encontrados frente a los propóleos. El efecto de inhibición del crecimiento de la mezcla este caso es solo responsabilidad del propóleos y se vio disminuido por la combinación con la miel.

Frente a la cepa de *Staphylococcus epidermidis* no resultó significativo la acción entre las mieles y las mezclas, aunque la media aritmética de las mieles con propóleos alcanzó un mayor valor. En este caso no pudo ser probada la cepa frente a los extractos de propóleos, pero su sensibilidad a los mismos ha sido reportada por varios autores (Rojas y col, 1987; Valdés y col, 1989) luego se pudiera asegurar que el crecimiento de este microorganismo puede ser inhibido por la aplicación de cualquiera de estos productos apícolas (miel, propóleos y miel con propóleos al 0.5%).

Para *Staphylococcus aureus* y *Proteus mirabilis* se encontraron diferencias significativas entre los extractos de propóleos, las mieles y las mezclas para un 99% de probabilidad. Al aplicar la prueba de Duncan para el 95% se encontró que difieren entre ellos, donde los extractos fueron los más efectivos, le sigue la miel con propóleos y como menos efectivo las mieles. Para estas dos cepas es evidente que el propóleos es el responsable del efecto inhibidor de las mezclas, además es posible el empleo de estas para la inhibición del crecimiento.

Como se ha podido apreciar a través de los resultados presentados las mezclas de miel con propóleos al 0.5% es efectiva frente a todos los microorganismos probados y su poder inhibidor puede ser debido lo mismo a la miel que al propóleos presente y esto está en dependencia de la sensibilidad de la cepa en particular frente a estos productos apícolas.

Luego resulta mucho más efectivo la aplicación de miel con propóleos al 0.5% como antibacteriano para la cura de heridas, quemaduras y otras afecciones para lo cual se emplea la miel o el propóleos. Con esta mezcla se logra garantizar inhibir el crecimiento de un mayor número de microorganismos, se potencializa esta actividad ya que el espectro de acción es superior a los productos por si solos, ya existen resultados de estudios clínicos de la aplicación sobre el tratamiento de quemaduras y úlceras (Morfi y col, 1997; Cuza y col, 1997), donde se aprecia que se previene o elimina la presencia de infección además de contribuir aportando las otras propiedades curativas que poseen estos productos descritas en la literatura observándose un efecto curativo potente..

Conclusiones

- 1- Las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Proteus mirabilis* fueron las únicas cepas inhibidas por los extractos de propóleos probados.
- 2- Las cepas de *Proteus mirabilis*, *Shigella sp.*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa* fueron las únicas cepas inhibidas por el 100% de las mieles.
- 3- Todas las cepas bacterianas probadas fueron sensibles a las mezclas de miel con propóleos al 0.5%.

Bibliografía

- Asís, Moisés. (1989). Propóleos. El oro púrpura de las abejas. CIDA
- Cuza, L.A; Pérez, A.P; Giral, T.R. (1997) Tratamiento de Quemados. XXXV Congreso Internacional de Apicultura. Apimondia. Bélgica.
- Díaz, D.M; Gil, J.D; Valdés, G.G. (1999). Determinación de la concentración mínima inhibitoria de propóleos cubano empleando dos técnicas diferentes. I Forum Tecnológico Especial de Apicultura. Cuba.
- Dustmann, J. (1979). Efecto antibacteriano de la miel. Apiacta, 1:7-11.
- Grove, D.C and W.A, Randall.(1955). Assay methods of antibiotics. A Laboratory. Manual Medical Encyclopedia. New York.
- Ialomiteanu, M y V, Daghe. (1973). Investigaciones sobre los principios antibióticos de la miel. XXIV Congreso Internacional de Apicultura. Apimondia. 438-440.
- Kivalkina, V.P. (1976). Balance y perspectiva de la investigación del propóleos. I Simposio Internacional de Apiterapia. Apimondia. Bucarest.
- Molan, C.P.(1992). The antibacterial activity of honey. The nature of antibacterial activity. Bee World. 73 (1): 5-28.
- Molan, C.P.(1999). Why honey is effective as a medicine. 1. Its use in modern medicine. Bee World 80 (2): 80-92.
- Morfi, R.S; Pérez. A.P; Caballero. M; Ramos, J; Cuza, L.A; Giral, T.R. (1997). Dos pacientes con escaras en estado crítico tratados con miel y propóleos. XXXV Congreso Internacional de Apicultura. Apimondia. Bélgica.
- Popeskovic, .D; M, Dakic; S, Buncit y P, Ruzic. (1984). Investigaciones de las propiedades antimicrobianas de la miel. Apiacta, 3:65-66.
- Rojas, N.M; G, Valdés y C, .Morales. (1987) Actividad antimicrobiana de extractos acuosos y alcohólicos de propóleos. Revista Biología. Vol. .I, No.3: 41-50.

Stark, J.A. (1993). Trials to standardize the antibacterial activity of propolis. XXXIII Congreso Internacional de Apicultura. Apimondia. China.480-484.

Toth, G; Lemberkovics, E y Kutasi-Szabo, J. (1987). Componentes volatiles de algunos tipos de miel hungara y su efecto antimicrobiano. American Bee Journal. 127 (7): 496-497.

Valdés, G; M, Ruíz y M, Martín. (1989) Caracterización antibacteriana del propóleos de los municipios de Madruga y Mariel de la provincia la Habana. Ciencia y Técnica en la Agricultura. Apicultura Vol. 5: 25-38 ,

Valdés, G; Ruiz, M y Giral, T (1996). Caracterización de la actividad antibacteriana de la miel de abejas. IV Simposio de propóleos y III de Apiterapia. Cuba.

Abstract

Antibacterian Action Of Bee Honey With Propolis.

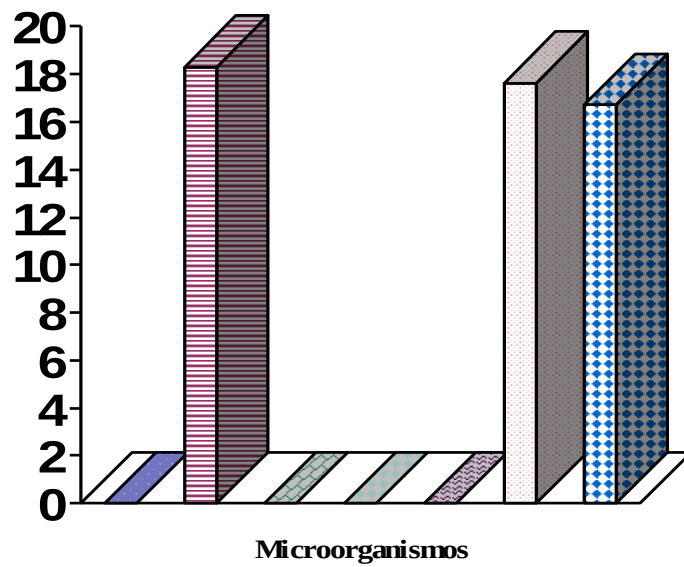
The knowledge and using of apicultural products for human and veterinarian health is getting less empiric at present because of the results of important research works which sustain the usage of these products.

The objective of this work is precisely the deepening in the study of the apicultural products, and so it was known and compared the antibacterian action of propolis extract, bee honey and a mixture of bee honey and propolis at 0.5%.

As a result of the work, it could be known that not all the bacterian strains were sensitive to the propolis extracts and to the honeys, but they were inhibited by the mixtures of honey and propolis at 0.5%, being demonstrated, in vitro, the effectiveness of these mixtures against the microorganisms in relation to the honey and propolis products separately.

Fig.1 Efecto de los diferentes extractos de propóleos frente a los microorganismos

**Halo de inhibición
(mm)**



■ E.coli ■ P.mirabilis ■ Salmonella sp □ Shigella sp ■ Ps.aeruginosa □ B.subtilis ■ Saureus

Fig.2 Efecto de las mieles de cítrico frente a los microorganismos

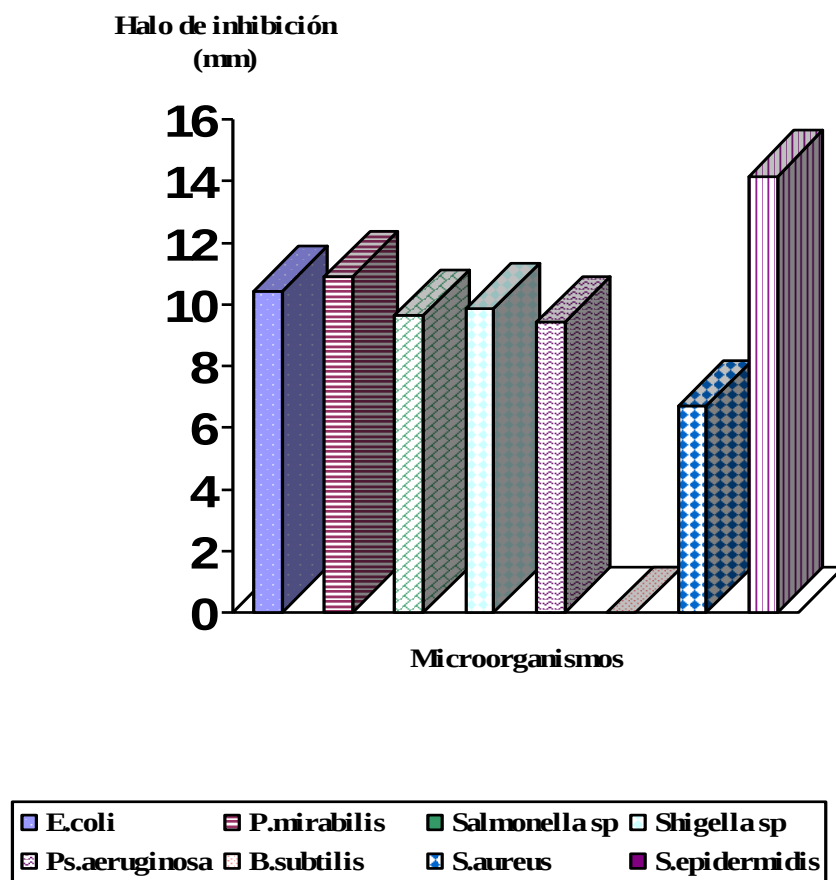


Fig.3 Efecto de las mezclas de miel con propóleos al 0.5% frente a los microorganismos

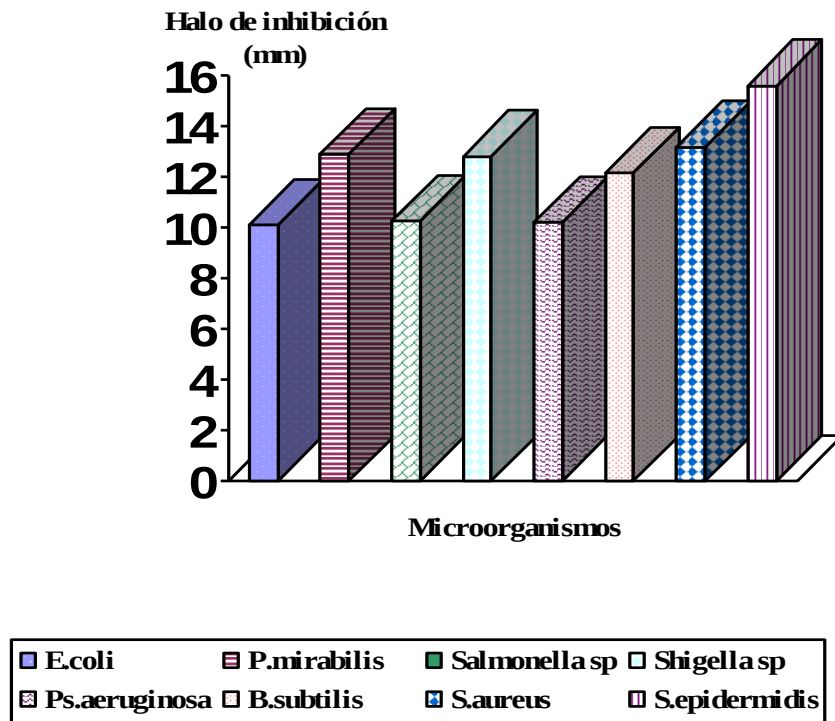


Tabla 1. Resultados de los análisis estadísticos de las muestras de propóleos, miel y miel con propóleos al 0.5% frente a las cepas bacterianas.

Microorganismos	Valores medios de los halos de inhibición. (mm)		
	Extractos de propóleos	Miel de abejas	Miel con propóleos al 0.5%
<i>Escherichia coli</i>	0	10.41	10.12
<i>Proteus mirabilis</i>	18.30 a	10.9 c	12.9 b
<i>Salmonella. sp</i>	0	9.66	10.25
<i>Shigella. sp</i>	0	9.87	12.83
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	n.p	14.16	15.62
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	9.41	10.20
<i>Bacillus. subtilis</i>	17.62	s.c	12.16
<i>Staphylococcus .aureus</i>	16.70 a	6.70 c	13.20 b

Leyenda: n.p- no probada.

0- no inhibición

s.c- sobrecrecimiento

Letras diferentes difieren significativamente para $p < 0.05$