

Comparación del efecto antibacteriano de tres tipos de miel sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC® 25175™)

Comparison about antimicrobial effects of three different cain of honey bee on Streptococcus mutans (ATCC® 25175™)

Silva CF *, Valenzuela RM **, Portocarrero MJ ***

RESUMEN

Objetivo: Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de muestras de miel de *Apis mellifera* producida en la Costa, Sierra y Selva contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Material y métodos: Se evaluó el efecto en 3 grupos distribuidos en concentraciones de 100%, 50% y 25% para cada miel. Se hicieron 5 repeticiones por grupo experimental. La sensibilidad bacteriana se evaluó mediante el método de difusión en pozo. El espécimen bacteriano fue reactivado en caldo nutritivo, para inocularlo en cultivo Agar Cerebro Corazón.

Resultados: Al enfrentar el microorganismo a las mieles de abeja, se obtuvo halos promedios de inhibición de 27,84 mm y 14,38 mm para las concentraciones de 100% y 50% de la miel de abeja de origen de sierra.

Conclusión: sin embargo, las mieles de abeja de origen costa y selva no presentaron halos de inhibición. Se concluye que la miel de abeja de origen de Sierra al 100% y 50% tienen efecto antibacteriano sobre *S. mutans* ATCC 25175

PALABRAS CLAVE: miel de abeja, *Apis mellifera*, *Streptococcus mutans*. (Fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

Objective: To compare the *in vitro* antibacterial effect of samples of *Apis mellifera* honey produced in Costa, Sierra and Selva against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Material and methods: The effect was evaluated in 3 groups distributed in concentrations of 100%, 50% and 25% for each honey. Five repetitions were made per experimental group. The bacterial sensitivity was evaluated by the well diffusion method. The bacterial specimen was reactivated in nutritious broth, to inoculate it in heart agar culture.

Results: When facing the microorganism to the honeys of bee, average halos were obtained of inhibition

* Bachiller en Estomatología de la Escuela de Estomatología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Señor de Sipán.

** DSS. PhD. Directora de la Escuela de Estomatología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Señor de Sipán, Lambayeque, Perú

*** Docente a Tiempo Completo de la Escuela de Estomatología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Señor de Sipán. Responsable del Área de Estética y Restauradora del Centro Odontológico Americano Sede Chiclayo, Perú. Docente del Curso de Cariología y Operatoria dental de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Martín de Porres.

of 27,84 mm and 14,38 mm for the concentrations of 100% and 50% of the honey of bee of origin of saw. *Conclusion:* nevertheless, bee honeys of coastal and jungle origin did not present inhibition halos. It is concluded that bee honey of Sierra origin at 100% and 50% have antibacterial effect on *S. mutans* ATCC 25175

KEY WORDS: honey bee, *Apis mellifera*, *Streptococcus mutans* (**Source:** MeSH NLM).

Fecha de recepción: 7 de noviembre de 2018.

Fecha de aceptación: 15 de noviembre de 2018.

Silva CF , Valenzuela RM , Portocarrero MJ *Comparación del efecto antibacteriano de tres tipos de miel sobre el Streptococcus mutans (ATCC® 25175™)*. 2018; 34, (6): 294-298.

INTRODUCCIÓN

La caries dental no puede desarrollarse sin la presencia de carbohidratos fermentables en la dieta, en particular azúcar¹. Es conocido que existe diferentes factores que influyen en el desarrollo de la caries dental, uno de esos factores e la susceptibilidad a desarrollar caries en presencia de carbohidratos y esta puede verse influenciada por la genética y de los micronutrientes². Existen estudios que evidencia una relación significativa entre la actividad física, el comportamiento de la higiene dental y el estado de la caries dental. En este sentido, existen estudios que evidencian que el comer frutas y verduras no tiene una relación significativa con el estado de la caries dental, encontrando que los principales determinantes de la caries dental son el consumo de azúcar entre las comidas y el cepillado dental insuficiente^{3,4}.

Sin embargo, los conceptos de caries dental siempre han estado orientados a definirlos como una enfermedad caracterizada por la desmineralización del esmalte dental la ingesta dietética, las bacterias cariogénicas *Streptococcus mutans* *Streptococcus sanguinis* o *Streptococcus gordonii*⁵.

En técnicas vanguardistas en las que se emplean las secuencias de amplicones de ARNr 16S han sido identificadas de especies como *Streptococcus mutans* en todos los pacientes con caries, otras especies han sido identificadas en menor proporción⁶.

La miel se ha utilizado ampliamente como agente de curación a lo largo de la historia de la hu-

manidad, además de su uso generalizado como alimento popular. Existen varios experimentos han determinado que la miel de abeja posee actividad antibacteriana in vitro frente a diferentes bacterias de importancia en salud. Sin embargo, su actividad depende tanto de las especie de animal, como del microorganismo evaluado, así se ha reportado que diferente tipos de miel de abeja tener efecto antibacteriano frente a bacterias gram positivas y gram negativas tales como *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acetobacter baumani* como estreptococos β -hemolíticos del grupo A^{7,8}.

Por lo tanto, existen estudios del efecto antibacteriano de la miel de *Apis mellifera* en diferentes microorganismos pero hasta la actualidad no ha sido investigada su efecto sobre los *Streptococcus mutans* (ATCC® 25175™). Por lo que, el objetivo de la presente investigación se centra en comparar tres tipos de miel de *Apis mellifera* obtenidas en diferentes regiones del Perú.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron tres tipos de miel según su origen de recolección en la costa, sierra y selva. Los centros de apicultura estaban ubicados en tres regiones del Perú como se menciona anteriormente, para obtener el permiso de recolección de miel de abeja se coordinó con los propietarios quienes tenían licencia de apicultores certificados por la SENASA – Perú, además de ser exportadores de miel de abeja. Para el pre-

sente estudio se recolecto miel de abeja, de tres apicultores calificados, de eucalipto al 100% y fue envasada en un frasco de vidrio estéril, y de color ámbar. Se guardó por 4 días en un lugar seco, libre de humedad y sin exposición a la luz artificial o solar. Pasado los 4 días se abrió el frasco de las tres mieles y se procedió a evaluar el efecto antimicrobiano frente a la bacteria *Streptococcus mutans* siguiendo las recomendaciones de CLS (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁹, el cual consiste en que para evaluar el efecto antimicrobiano puede expresarse como porcentaje, se recolecto 1ml de miel en un tubo esteril con 1 ml agua destilada, se centrifugo a 4000 rpm por 5 minutos, luego las fracciones solubles de la miel se usaron para realizar las diluciones dobles seriadas y calcular las concentraciones expresadas en porcentajes, después fueron distribuidas en la placa de agar. Siguiendo las orientaciones de la Clinical and Laboratory Standards Institute, se recolectó de 3 a 5 colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que fueron seleccionadas de un cultivo en placa de agar Cerebro Corazón después de 24 horas de su activación, así mismo se tocó con un asa esteril la parte superior de cada colonia formada, para transferir a un tubo con 4-5 mL de caldo Müller-Hinton y con ayuda del espectrofotómetro se midió turbidez a una longitud de onda 625nm con absorbancias de 0,08 – 0,1 para bacterias equivalente a 0,5 del estándar de McFarland, obteniéndose una suspensión bacteriana resultante de 1 a 2×10^8 (UFC/mL). En un lapso de tiempo óptimo de 15 minutos después de ajustar la turbidez de la suspensión del inóculo, con una torunda de algodón se inoculó sobre toda la superficie de una placa de agar Cerebro-Corazón

A través del método de difusión en pozo¹⁰, sobre las placas sembradas, se realizaron 5 perforaciones de 6 mm de diámetro, con un sacabocado y se colocaron 50 µL en cada pozo de la miel de abeja, posteriormente fueron selladas con parafilm y se incubó a 37 °C, por un periodo de 24 horas y después hacer la medición de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano.

Estadística

Para determinar la relación del efecto antibacteriano de la miel de abeja en el crecimiento bacteriano, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación de $P < 0,05$. Para de-

terminar si existe diferencia significativa entre los tipos de miel, se empleó la prueba t student

RESULTADOS

DE LA MIEL DE ABEJA

Se obtuvo 1 mL de la fracción soluble de la miel de abeja de origen de Costa, Sierra y Selva, considerando frascos comerciales.

A través de la fracción soluble se realizó 2 diluciones doble seriadas, obteniendo concentraciones (V/V) al 100%, 50% y 25% respectivamente para cada miel dependiendo de su origen.

DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

De acuerdo al promedio de las mediciones de los halos de inhibición de crecimiento microbiano, la miel de abeja comercial de origen de la Sierra presentó actividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175

La miel de abeja comercial de la costa y selva no presento halos de inhibición de crecimiento antibacteriana contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175

De acuerdo a la evaluación del efecto antibacteriano de la miel de abeja *Apis mellifera* de origen sierra, presentó inhibición crecimiento a la

Tabla 1: Comparación del efecto antibacteriano de la miel de abeja *Apis mellifera* contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Concentraciones	<i>Apis mellifera</i>		
	Costa	Sierra Halos de inhibición	Selva
100%	0	28.10	0
	0	27.40	0
	0	27.78	0
	0	28.12	0
	0	27.82	0
50 %	0	14.46	0
	0	14.82	0
	0	14.6	0
	0	14.25	0
	0	13.75	0
25 %	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0

Tabla 2: Evaluación del efecto antibacteriano de la miel de abeja *Apis mellifera* de origen de Sierra, contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Concentraciones	<i>Apis mellifera</i>					P
	Sierra Halo de inhibición (mm)					
100%	28.10	27.40	27.78	28.12	27.82	t = 60,06
50 %	14.46	14.82	14.6	14.25	13.75	P = 0,00
25 %	0	0	0	0	0	d = 1,89

concentración del 100 y 50 %, asimismo también se obtuvo las mediciones de los halos (Tabla 2), como también el resultado estadístico se comprobó la diferencia con la prueba t estudent (60,06) con un valor de P altamente significativo significancia ($p = 0,000$) y se verifica con d de cohen (1,89) cuya fuerza del efecto es mucho mayor que el típico.

DISCUSIÓN

La caries dental es un importante problema de salud pública a nivel mundial y es la enfermedad no transmisible más extendida¹⁰, además que se sido considerado a *S. mutans*, durante mucho tiempo como uno de los principales patógenos orales y responsables de la caries, asimismo que forma glucanos y fructanos que promueven la colonización bacteriana y son factores clave la virulencia en la formación de caries dental¹¹.

En el presente estudio se evidenció que la miel de abeja *Apis mellifera* de origen de Sierra tuvo efecto antibacteriano a concentraciones del 100 % y 50 % respectivamente, además que la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 resultó tener sensibilidad frente a la miel de abeja de origen de Sierra.

La miel de abeja *A. mellifera* de origen de Sierra presentaron diferentes diámetros del promedio de inhibición de crecimiento de 27.84 mm y 14,38 mm, estudio coincidente con Kotris et al⁸ quienes revelaron la variabilidad del efecto antibacteriano de diferentes tipos de miel de abeja con respecto a su origen, obteniendo diferentes medidas de las zonas de inhibición. Esta diferencia se demuestra que las mieles de abeja presentan una variabilidad dependiendo del origen de su cosecha. Además otros autores como Kalidasan et al.⁷, compararon el efecto antibacteriano de muestras de miel natural y comercial contra bacterias patógenas indisti-

tamente de *Streptococcus mutans*, obtuvieron mayor actividad antibacteriana en miel natural que miel comercial presentando zonas de inhibición de 26 mm y 22 mm para *Staphylococcus aureus*. Otros estudios como Rani et al¹² demostraron la capacidad antibacteriana de la miel de abeja contra bacterias meticilino resistentes y meticilino sensibles mostrando una zona de inhibición de 36,2 mm y 46,16 mm respectivamente por otro lado Murugesan K et al¹³, compararon el efecto antibacteriano de tres mieles naturales y una miel de abeja comercial, obtuvieron rangos de inhibición de 16 a 30 mm, todas las mieles evaluadas presentaron efecto antibacteriano (14).

Complementando el estudio, otros autores también demostraron el efecto antibacteriano de la miel de abeja, tal como Wasihun y Kasa¹⁴, evidenciaron el potencial antibacteriano frente a bacterias multirresistentes, demostrando su actividad bacteriostática y bactericida, asimismo Mshelia, Adeshina y Onalapo demostraron también la actividad antibacteriana de la miel de abeja de manera sinérgica con el jugo de limón e independiente obteniendo como hallazgo su capacidad bactericida¹⁵.

Con el presente estudio se puede corroborar que la miel de abeja puede contribuir en el control del crecimiento de *Streptococcus mutans*, dependiendo de su origen natural o comercial y la región de cosecha.

CONCLUSIONES

- Los resultados del estudio comparativo demostraron, que la miel de abeja *Apis mellifera* de origen de Sierra presentó mayor efecto antibacteriano *in vitro* que el de origen de Costa y Selva contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- La miel de abeja *Apis mellifera* de origen de Costa no presentó efecto antibacteriano en las concentraciones evaluadas.
- La miel de abeja *Apis mellifera* de origen de Sierra presentó efecto antibacteriano a concentración del 100 y 50 % respectivamente.
- La miel de abeja *Apis mellifera* de origen de Selva no presentó efecto antibacteriano en las concentraciones evaluadas.

BIBLIOGRAFIA

1. Hujoel PP, Lingström P. Nutrition, dental caries and periodontal disease: a narrative review. *J Clin Periodontol.* marzo de 2017;44 Suppl 18:S79-84.
2. John JR, Daniel B, Paneerselvam D, Rajendran G. Prevalence of Dental Caries, Oral Hygiene Knowledge, Status, and Practices among Visually Impaired Individuals in Chennai, Tamil Nadu. *Int J Dent [Internet].* 2017 [citado 21 de octubre de 2018];2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5387819/>
3. Suratri MAL, Indirawati T, Vivi S. Correlation between dental health maintenance behavior with Dental Caries Status (DMF-T). [Internet]. 2018 [citado 21 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://www.bali-medicaljournal.org/index.php/bmj/article/view/836>
4. Diouf M, Kebe M, Guirassy ML, Diop M, Diouf A, Kanoute A, et al. Dental Caries and Associated Determinants among Students of the Military School of Saint Louis (Senegal). *Open J Epidemiol.* 13 de septiembre de 2017;07:299.
5. Garcia SS, Blackledge MS, Michalek S, Su L, Ptacek T, Eipers P, et al. Targeting of *Streptococcus mutans* Biofilms by a Novel Small Molecule Prevents Dental Caries and Preserves the Oral Microbiome. *J Dent Res.* julio de 2017;96(7):807-14.
6. Ribeiro AA, Azcarate-Peril MA, Cadenas MB, Butz N, Paster BJ, Chen T, et al. The oral bacterial microbiome of occlusal surfaces in children and its association with diet and caries. *PloS One.* 2017;12(7):e0180621.
7. Kalidasan I, Saranraj, Ragul P, Sivasakthi S. Antibacterial Activity of Natural and Commercial Honey-A Comparative Study. *Adv Biol Res.* 11(6):365-72.
8. Kotris I, Talapko J, Drenjan evi D. Evaluation of Antibacterial Activity of Two Different Honeys against Clinical Isolates of β -hemolytic *Streptococci* Group A. *SEEMED J.* 2017;(1):67-73.
9. M11Ed9 | Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria, 9th Edition [Internet]. Clinical & Laboratory Standards Institute. [citado 22 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m11/>
10. WHO | Sugars and dental caries [Internet]. WHO. [citado 22 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/nutrition/publications/nutrientrequirements/sugars-dental-caries-keyfacts/en/>
11. Giacaman RA. Sugars and beyond. The role of sugars and the other nutrients and their potential impact on caries. *Oral Dis.* octubre de 2018;24(7):1185-97.
12. Rani GN, Budumuru R, Bandaru NR. Antimicrobial Activity of Honey with Special Reference to Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA). *J Clin Diagn Res JCDR.* agosto de 2017;11(8):DC05-8.
13. Murugesan K, Vijayan H, Ezhilarasi MR, Maheshwaran P, Radha RS, Shama M. Antibacterial Activity of Honey against Selected Pyogenic Bacteria. (26):4.
14. Wasihun AG, Kasa BG. Evaluation of antibacterial activity of honey against multidrug resistant bacteria in Ayder Referral and Teaching Hospital, Northern Ethiopia. *SpringerPlus.* 2016;5(1):842.
15. Bm M. The Antibacterial Activity of Honey and Lemon Juice against *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* Isolates from Respiratory Tract Infections. *Adv Biotechnol Microbiol [Internet].* 14 de agosto de 2017 [citado 22 de octubre de 2018];5(2). Disponible en: <http://juniperpublishers.com/aibm/AIBM.MS.ID.555660.php>

CORRESPONDENCIA:

Dra. Marisel Roxana Valenzuela Ramos.
Teléfono: +51956291247
Correo electrónico: vmarisel@hotmail.com