

Artículo original

Efecto de los complementos alimenticios con propóleo en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aislados de la microbiota de personas sanas

Effect of food supplements with propolis on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated from the microbiota of healthy people

Berlanga M, de Grau G, Marqués AM*

Laboratorio de Microbiología, Departamento de Biología Sanidad y Medio Ambiente. Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación. Universidad de Barcelona

*Correspondencia: ammarques@ub.edu

Recibido: 09.04.21; aceptado: 30.05.21

Resumen: Los productos apícolas se usan como suplemento alimenticio por sus características nutritivas y sus efectos antimicrobianos, antiinflamatorios y antioxidantes. En este trabajo se estudia la actividad antimicrobiana de los complementos alimenticios Bechipropol, Bechiplus y Bechigola y el propóleo, componente base de dichas formulaciones, en *Staphylococcus aureus* (muestras nasales) y *Escherichia coli* (muestras de heces) aisladas de personas sanas y en bacterias lácticas (ej. *Lactobacillus* sp.). También se analiza la susceptibilidad de estas cepas a diferentes antibióticos y la interacción de los complementos alimenticios con estos antibióticos. Se ha observado que la mayoría de los aislados de la microbiota presentan un nivel elevado de sensibilidad tanto a los antibióticos como a los complementos alimenticios y al propóleo. No obstante, las cepas de *E. coli* estudiadas presentan menos susceptibilidad a los antibióticos que las cepas de *S. aureus*. Los complementos alimenticios mostraron mayor actividad antimicrobiana, respecto al propóleo solo. Este aumento de la actividad podría ser debido a los diferentes componentes de las fórmulas, siendo probablemente los extractos vegetales los responsables de este aumento en la actividad antimicrobiana. La combinación de Bechiplus con ampicilina no tiene ningún efecto sobre la susceptibilidad en las cepas estudiadas. Sin embargo, en el caso de la eritromicina, para todas las cepas estudiadas, se ha constatado un efecto antagónico, es decir que se necesita aumentar la concentración de antibiótico para poder observar la inhibición del crecimiento. Para la tetraciclina y ciprofloxacina, se observa el efecto antagónico con las cepas de *E. coli*. En cualquier caso, es recomendable no mezclar estos complementos alimenticios con un tratamiento antibiótico. Por otro lado, respecto a las bacterias lácticas no se observó actividad inhibitoria de los complementos alimenticios ni del propóleo, pudiendo indicar que no alteran la microbiota láctica beneficiosa que se encuentra en el tracto digestivo en las personas sanas.

Abstract: Bee products are used as food supplements (FS) due to their nutritional properties and their antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant effects. In this work, the antimicrobial activity of the FS Bechipropol, Bechiplus and Bechigola as well as propolis, an important component of these formulations, was studied in *Staphylococcus aureus* (nasal samples) and *Escherichia coli* (stool samples), isolated from healthy people, and lactic bacteria (e.g., *Lactobacillus* sp.). The effect of the FS on the susceptibility of these strains to different antibiotics was analyzed. Most of the isolated microbial strains were found to be highly sensitive to antibiotics as well as to the FS and propolis when these were applied separately, although *E. coli* was less susceptible to antibiotics than *S. aureus*. The FS showed

greater antimicrobial activity (lower MIC) than propolis alone, probably due to the plant extracts in their composition. The combination of Bechiplus with ampicillin had no effect on the susceptibility of the studied strains, but an antagonistic effect was found with all the strains when combined with erythromycin, that is, the inhibition of growth required a higher concentration of antibiotic. Such an antagonistic effect was also observed in *E. coli* strains with tetracycline and ciprofloxacin. Therefore, the mixing of these FS with an antibiotic treatment is not recommendable. Finally, no inhibitory activity of FS or propolis was observed on the beneficial lactic microbiota found in the digestive tract in healthy people.

Palabras clave: Complementos alimenticios, propóleo, susceptibilidad, antibióticos, antagonismo.
Keywords: Dietary supplement, propolis, susceptibility, antibiotics, antagonism.

1. Introducción

Después del hambre, el segundo gran enemigo de la humanidad fueron las enfermedades infecciosas. En las últimas décadas, la incidencia e impacto de las epidemias infecciosas se han reducido espectacularmente. Este “milagro” se debe a los progresos sin precedentes de la medicina del siglo XX, que nos ha proporcionado vacunas, antibióticos y mejoras higiénicas en cuanto a potabilización del agua, condiciones higiénicas en los hospitales y medidas en la seguridad alimentaria. En 2010, la tasa de mortalidad por las enfermedades infecciosas se redujo al 3 % en los países industrializados [1, 2]. Simultáneamente, la esperanza de vida ha aumentado en los países industrializados de aproximadamente los 50 años en el siglo XIX, a unos 80 en la actualidad. La pandemia por el coronavirus CoV-SARS-2, causante de la enfermedad denominada Covid-19, es un giro “inesperado” de la creencia que las enfermedades infecciosas estaban controladas.

Comer y beber es la actividad que con más frecuencia se hace a lo largo de la vida. Actualmente vivimos en una sociedad muy avanzada tecnológicamente y en los países industrializados no se tiene “hambre” específica de nutrientes. Nunca hubo tanto donde escoger. Sin embargo, las sociedades de los países industrializados tienen una forma de vida que implica altos niveles de estrés, incorrectos hábitos alimentarios, falta de ejercicio, obesidad y otros factores que perjudican la salud [3, 4]. En este contexto, parte de la sociedad, es cada vez más consciente que uno de los factores que pueden influir en su estado de salud es la dieta. En este sentido, los complementos

alimenticios (CA) aportan vitaminas, minerales, ácidos grasos, antioxidantes, proteínas, fibras, extractos de plantas y otros nutrientes que no se obtienen mediante la alimentación convencional [5]. En situaciones de desnutrición o convalecencia pueden desempeñar un papel en el mantenimiento de la salud [6, 7]. Y también se pueden usar para equilibrar la dieta. Sin embargo, también se debe tener en cuenta que estos complementos administrados en altas dosis podrían ser perjudiciales para la salud, como el exceso de hierro [8]. Los CA no son medicamentos y no podrá atribuirles propiedades preventivas, curativas o de tratamiento de enfermos, pero si tienen efectos beneficiosos en la vitalidad, conciliación del sueño o como reguladores intestinales entre otros muchos efectos [9]. Así, los productos apícolas como la miel, el polen, el pan de abeja, la jalea real y el propóleo ganan importancia como complemento alimentario por sus características nutritivas que además pueden ayudar en la protección de la salud [10]. Las propiedades “promotoras” de la salud del propóleo se derivan de su composición química, que determina sus versátiles efectos farmacológicos, tales como antimicrobianos, antiinflamatorios, antiproliferativos, antioxidantes, cicatrizantes y conservantes [11-15] (Fig. 1).

La composición química del propóleo es muy variable y cambia según la región geográfica, el clima, el medio ambiente y época de cosecha. Hasta ahora se han identificado más de 420 compuestos químicos en muestras de propóleos procedentes de diversas regiones geográficas del mundo [12, 14]. Los principales grupos de compuestos químicos que se encuentran

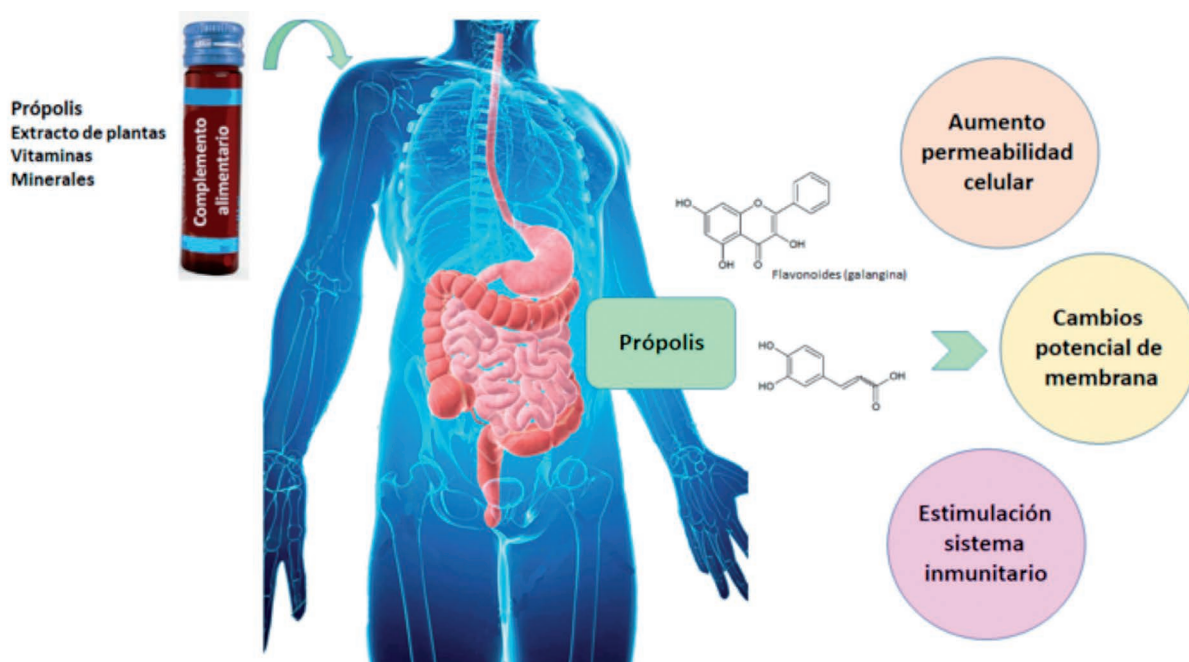


Figura 1. El propóleo en los complementos alimenticios. El propóleo es una mezcla resinosa compleja producida por las abejas (*Apis mellifera*). A pesar de la gran diversidad de la composición química los diferentes propóleos se caracterizan por presentar similar actividad biológica siendo antimicrobianos, antiinflamatorios, antiproliferativos, antioxidantes, cicatrizantes y conservantes. En la imagen se muestra los posibles mecanismos relacionados con la actividad antimicrobiana [5]. Imagen del tracto digestivo de Sebastian Kaulitzki.

presentes en los propóleos son ceras, polifenoles (ácidos fenólicos y flavonoides) y terpenoides. Los propóleos de España contienen como principales compuestos flavonoides la pinocembrina, galangina, naringenina, acacetina y crisina y como principales ácidos fenólicos el ácido cafeico, p-coumárico y ferúlico [16].

La microbiota intestinal desempeña un papel crucial en el metabolismo de compuestos químicos derivados de los alimentos ingeridos, especialmente aquellos que no son digeridos en el intestino delgado [17]. La enorme cantidad de células bacterianas que habitan el intestino grueso forma un ecosistema complejo. La adecuada integración entre los componentes del entorno intestinal, la microbiota y el sistema inmunitario del huésped se consideran marcadores clave de salud. Cambios en el equilibrio entre estos componentes, conducen a la disbiosis y enfermedad [18]. Existen importantes diferencias interindividuales en las especies bacterianas que colonizan el tracto gastrointestinal [19, 20]. Esta diferenciación de la composición de la microbiota intestinal se debe a la influencia de diversos factores, tales como modo de nacimiento (parto natural vs. cesárea), tipo de alimentación durante los

primeros meses de vida (leche materna vs. leche de fórmula), la edad, la ubicación geográfica, el medio ambiente, los hábitos alimentarios (incluidos los probióticos), uso de antibióticos [19-21]. Sin embargo, a pesar de la gran diversidad de especies bacterianas, la mayoría de ellas pertenecen básicamente sólo cuatro filos bacterianos: Firmicutes (64 %), Bacteroidetes (23 %), Proteobacteria (8 %) y Actinobacteria (3 %) [21-23]. La microbiota intestinal, y su microbioma (conjunto de genes), está equipada con un gran conjunto de diferentes enzimas capaces de hidrolizar polisacáridos complejos, amidas, ésteres y lactonas, etc. La microbiota intestinal también interviene en la transformación de los polifenoles de la dieta (90-95 % de la ingesta total de polifenoles llegan al colon prácticamente intactos) en compuestos biológicamente activos absorbibles [24].

En este trabajo se presenta la actividad antimicrobiana de los complementos alimenticios Bechipropol, Bechiplus y Bechigola y el propóleo, componente base de dichas formulaciones (Tabla 1) en bacterias que forman parte de la microbiota en personas sanas, tales como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y algunos *Lactobacillus* sp. Con dichas bacterias también

Tabla 1. Componentes, expresados en mg/10 mL, de los complementos alimenticios estudiados

<i>BECHIPROPOL</i>		<i>BECHIPLUS</i>		<i>BECHIGOLA</i>	
Jalea real	600	Vit E	6	Vit C	60
Acerola	720	Vit B6	0,7	Vit E	6
Propóleo	100	Vit B12	1,25	Beta-caroteno	10
Equinácea	100	Zinc	1,7	Manganeso	1,8
Vit C natural	60	Selenio	0,105	Cobre	1
Vit E	6	Manganeso	0,6	Rabo de gato	1000
Beta-caroteno	1	Cobre	0,500	(Aceites esenciales)	3
Vit B1	0,5	Acerola	120	Agrimonia	1000
Vit B2	1,4	(Vit C)	60	(Taninos)	100
Vit B6	0,7	Maitake	100	Equinácea	250
Vit B12	1,25	(Polifenoles)	30	(Aceites esenciales)	3,75
Cobre	0,5	Tomillo común	25	Rosa silvestre	86
Manganeso	0,6	(Aceite esencial)	1	(Vit C)	60,2
Magnesio	56,4	Menta piperita	25	Propóleo	100
		(Aceite esencial)	1,63		
		Jalea real	600		
		Jalea real liofilizada	200		
		Bioflavonoides cítricos	200		
		Ácido pangámico	100		
		Propóleo	100		
		Galangina	2,5		
		Quercetina	100		
		N-acetilcisteína	50		
		Coenzima Q10 (ubiquinona)	30		

se ha estudiado el nivel de susceptibilidad a diferentes antibióticos y la interacción positiva o negativa que pudieran tener los productos con propóleo y los antibióticos analizados.

1. Material y métodos

Microorganismos estudiados

Se han estudiado tres grupos de microorganismos: (1) 18 cocos grampositivos aislados en agar sangre (AS) y agar manitol hipersalino (MSA) a partir de muestras de las fosas nasales de individuos sanos e identificados como *Staphylococcus aureus* por pruebas bioquímicas tradicionales, dos cepas de origen hospitalario resistentes a la metilina (MRSA) y dos cepas de la colección ATCC, una sensible a la metilina (ATCC9144) y otra resistente (ATCC 43300). (2) Se han estudiado 19 bacilos gramnegativos aislados en agar MacConkey a partir de muestras de heces de individuos sanos e identificados como *Escherichia coli* por pruebas bioquímicas tradicionales, una cepa de origen hospitalario con elevada resistencia a beta-lactámicos (BLEA) y dos cepas de colección, *E. coli* ATCC 10536 y *E.*

coli O157:H7 CECT 4972. (3) Finalmente, se han estudiado 21 bacterias lácticas que pertenecen a la colección de nuestro laboratorio. El grupo de individuos escogidos para el aislamiento de *E. coli* y *S. aureus* fueron personas sanas entre 20–22 años, que se ofrecieron voluntariamente al estudio. Las muestras nasales y las de heces no pertenecen a los mismos individuos.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se ha estudiado la actividad antimicrobiana de tres CA, Bechipropol, Bechiplus y Bechigola (Bechinatural Nutrition S.L., Alicante, España), y propóleo (Bechinatural Nutrition S.L., Alicante, España) mediante la determinación de la CMI en medio sólido [25]. Se estableció la CMI como la concentración más baja del propóleo o CA que inhibía el crecimiento en la superficie del agar.

Determinación de la sensibilidad a los antibióticos

Se ha estudiado el nivel de sensibilidad a los antibióticos realizado un antibiograma [25] utilizando los siguientes discos de antibióticos

tetraciclina (30 µg, Oxoid), clindamicina (2 µg, Oxoid), oxacilina (1 µg, Oxoid), cefalotina (30 µg, Oxoid), eritromicina (15 µg, Oxoid), sulfafurazol (300 µg, Oxoid), tobramicina (10 µg, BioRad), ciprofloxacina (5 µg, BioRad), ampicilina (10 µg, BioRad), ticarcilina (75 µg, BioRad) y colistina (50 µg, BioRad) (BD Sensidisk, Canadá).

Interacción entre la actividad antimicrobiana de los antibióticos y el Bechipropol

Se ha estudiado la interacción entre el Bechipropol y la actividad antimicrobiana de cuatro antibióticos: ampicilina, tetraciclina, eritromicina y ciprofloxacina (Sigma-Aldrich, Alemania), según modificación de la técnica descrita por Regueira Neto et al., [14]. Los microorganismos utilizados en el estudio son cinco cepas de *S. aureus* con diferentes características (cepa 121 (sensible al Bechipropol y resistente a los antibióticos), cepa 19 (sensible al Bechipropol y antibióticos), dos cepas MRSA hospitalarias y *S. aureus* ATCC 9144). Seis cepas de *E. coli* (cepa 1 (resistente a los antibióticos), cepa 98 (resistencia intermedia a los antibióticos), cepa 131 (sensible a los antibióticos), *E. coli* ATCC10537, *E. coli* 0157:H7 CECT 4972 y *E. coli* BLEA).

Se determinó la CMI del antibiótico y Bechipropol más antibiótico y se calculó el valor del índice de concentración inhibitoria fraccional (FIC). El valor del índice FIC tiene en cuenta la combinación de productos (en este caso un complemento alimentario y un antibiótico) que produce el mayor cambio de la CMI respecto al antibiótico individual. Cuando la combinación de ambos compuestos resulta en un FIC < 0,5, existe una interacción sinérgica (la combinación produce un aumento de la actividad inhibitoria respecto al compuesto individual). Entre 0,5–4, interacción indiferente, y > 4, antagonismo [26].

3. Resultados y discusión

*Susceptibilidad a los antibióticos y actividad antimicrobiana de los CA frente a *S. aureus* y *E. coli* de la microbiota de personas sanas*

Se ha estudiado el nivel de sensibilidad a los antibióticos en los aislados de *S. aureus* procedentes de la microbiota nasal y *E. coli* de heces de personas sanas, además éstas se han comparado con cepas de colección y clínicas de origen hospitalario resistentes.

Se ha observado que la mayoría de los aislados de la microbiota presentan un nivel elevado de sensibilidad (Tabla 2) hecho que se puede asociar con ausencia de presión selectiva por uso de antibióticos en personas sanas. A pesar de ello, hay dos aislados tanto de *S. aureus* como *E. coli* con reducida sensibilidad, semejante a las cepas clínicas. En cualquier caso, las cepas de *E. coli* estudiadas son más resistentes a los antibióticos que las cepas de *S. aureus*. Esta mayor resistencia es habitual y se asocia con la mayor complejidad de la pared bacteriana de las bacterias gramnegativas. La membrana externa presente en los microorganismos gramnegativos es un impedimento remarcable para el acceso de los antibióticos a su lugar de acción intracelular.

Los complementos alimenticios, mostraron mayor actividad antimicrobiana (CMI más baja), respecto al propóleo solo. Este aumento de la actividad podría ser debido a los diferentes componentes de las fórmulas, siendo probablemente los extractos vegetales los responsables de este aumento en la actividad antimicrobiana. El CA con mayor actividad antimicrobiana es el Bechigola, especialmente en el caso de *S. aureus*. Las CMIs del propóleo y CA es prácticamente la misma independientemente del nivel de resistencia a los antibióticos de las cepas ensayadas. Este resultado puede indicar un mecanismo de actividad antimicrobiana diferente.

El extracto alcohólico de propóleo es más efectivo frente a bacterias grampositivas que bacterias gramnegativas. Este resultado está de acuerdo con trabajos previos [15]. La actividad antimicrobiana del propóleo y por tanto los CA que lo contienen, parece ser consecuencia de la acción de sus componentes, particularmente los flavonoides y se produciría a diferentes niveles afectando permeabilidad de la membrana, desestabilización de membranas con disipación del potencial de membrana, que afectaría a la formación de ATP, lo que afectaría al sistema de transporte activo de la célula y al movimiento. Por otra parte, el propóleo también estimula el sistema inmunitario lo que podría favorecer la destrucción del microorganismo. Esta acción múltiple dificulta la aparición de resistencias [11, 14, 27, 28]. No obstante, los componentes del propóleo pueden hidrolizarse en una suspensión bacteriana por enzimas hidrolíticos liberados por las bacterias [28].

Tabla 2. Número de antibióticos sensibles y CMI de los diferentes complementos alimenticios estudiados y del propóleo de los aislados de *S. aureus* y *E. coli*

Nº sensibilidades frente a antibióticos (nº aislados)	CMI Propóleo (mg/mL)	CMI Bechiprocol (mg/mL)	CMI Bechiplus (mg/mL)	CMI Bechigola (mg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>				
<i>S. aureus</i> cepas microbiota				
10 (3)	5	1,2*	1,2*	0,3*
9 (5)	5	1,2 (2,5)	1,2 (0,6)	0,6-0,3
8 (3)	5	1,2 (0,6)	0,6 (1,2)	0,6 (0,3)
7 (5)	5	2,5-0,6	1,2-0,6	0,6-0,3
6 (2)	5	2,5-0,6	1,2-0,6	0,6-0,3
<i>S. aureus</i> ATCC 9144 10 (1)	5	2,5	2,5	1,2
<i>S. aureus</i> MRSA 4 (1)	5	2,5	2,5	1,2
<i>S. aureus</i> MRSA Z452 5 (1)	5	2,5	2,5	1,2
<i>S. aureus</i> MRSA Z 644 4 (1)	5	2,5	2,5	0,6
<i>Escherichia coli</i>				
<i>E. coli</i> cepas microbiota				
8 (3)	>10	2,5	1,2	1,2
7 (6)	>10	2,5	2,5-1,2	1,2
6 (4)	>10	2,5	1,2 (2,5)	1,2
5 (4)	>10	2,5	1,2	1,2
4 (2)	>10	2,5	1,2	1,2
<i>E. coli</i> ATCC 10536 9 (1)	>10	2,5	1,2	1,2
<i>E. coli</i> O157:H7 8 (1)	>10	2,5	1,2	1,2
<i>E. coli</i> BLEA Z694 2 (1)	>10	2,5	1,2	1,2
* Las CMIs (concentración mínima inhibitoria) de los CA (complementos alimenticios) se expresan en concentración de propóleo presente en la dilución que es inhibitoria correspondiendo 2,5 mg/mL con una dilución del CA de 1/4; 1,2 mg/mL con una dilución 1/8 del CA; 0,6 mg/mL con una dilución del CA de 1/16 y 0,3 mg/mL con una dilución del CA de 1/16.				

Graikou et al. [12] estudiaron la actividad antimicrobiana de diferentes propóleos de la zona del Mediterráneo, ricos en diterpenos, frente a bacterias grampositivas, negativas y levaduras. Los valores de CMI descritos se encuentran entre 2,05–0,05 mg/mL, pero no se pudo correlacionar la actividad antimicrobiana con una zona geográfica o composición química concreta. En nuestro caso, los resultados obtenidos con los CA (y propóleo) presentan actividades de CMI a concentraciones de mg. La revisión realizada por Freires et al. [11] con propóleo rojo del Brasil describe una notable actividad antimicrobiana frente a microorganismos orales responsables de las caries y patógenos bacterianos relacionados con la periodontitis, con un rango de CMIs entre 25–250 µg/mL. Esta divergencia tan marcada en las concentraciones de propóleo inhibitorias

puede estar relacionada con sus componentes y también con las técnicas empleadas en el estudio y la lectura de la CMI. La determinación de la CMI es el método de referencia para estudiar la actividad antimicrobiana de los productos. Si los compuestos a estudiar son complejos, se trabaja a concentración elevada y además presentan cierta turbidez, la lectura visual del crecimiento en medio líquido se hace muy difícil o imposible. Esto ha llevado a diferentes autores a emplear diferentes reactivos para medir la presencia de células vivas como la resazurina [14], o bioluminiscencia [29]. En este trabajo hemos realizado la determinación de la CMI en medio sólido. Es un método de referencia, cuyos resultados se corresponden con los obtenidos en medio líquido. La preparación laboriosa del material está compensada por la fácil lectura

visual del crecimiento y del control de las posibles contaminaciones [29].

Actividad antimicrobiana de los complementos alimenticios (CA) frente bacterias lácticas

Se ha estudiado el efecto de los CA frente a bacterias lácticas. Las bacterias lácticas son microorganismos probióticos que se encuentran en varias localizaciones del cuerpo, como la vagina y tracto digestivo. Tienen un efecto beneficioso pues además de participar en la maduración del sistema inmune y obtención de nutrientes, el pH ácido que producen, consecuencia de su metabolismo, protege los diferentes hábitats frente a la colonización por microorganismos patógenos exógenos. Se ha estudiado como se afectaba el crecimiento de 21

bacilos lácticos de la colección del laboratorio junto con *Pediococcus pentosaceus* CECT 4695 y *Lactobacillus plantarum* ATCC8014 como microorganismos de referencia (Tabla 3).

De acuerdo con los resultados obtenidos, las bacterias lácticas son resistentes, de forma homogénea al propóleo a la concentración de uso, pues no se observó inhibición del crecimiento. También se encontró una escasa actividad inhibitoria de todos los complementos alimenticios comparando los resultados con los observados en *S. aureus* y *E. coli*. Es de destacar, que el uso de los CA estudiados no afecta al crecimiento de las bacterias lácticas estudiadas, pudiendo indicar este resultado que no alteran la microbiota láctica beneficiosa que se encuentra

Tabla 3. CMI de los diferentes complementos alimenticios estudiados y del propóleo de los aislados de bacterias lácticas

Número de bacterias lácticas	CMI Propóleo (mg/mL)	CMI Bechipropol (mg/mL)	CMI Bechiplus (mg/mL)	CMI Bechigola (mg/mL)
21	>10	5*	5*	5*
<i>P. pentosaceus</i>	>10	5	5	5
<i>L. plantarum</i>	>10	5	5	5

Las CMI (concentración mínima inhibitoria) de los CA (complementos alimenticios) se expresan en concentración de propóleo presente en la dilución que es inhibitoria correspondiendo 5 mg/mL con una dilución del CA de 1/2.

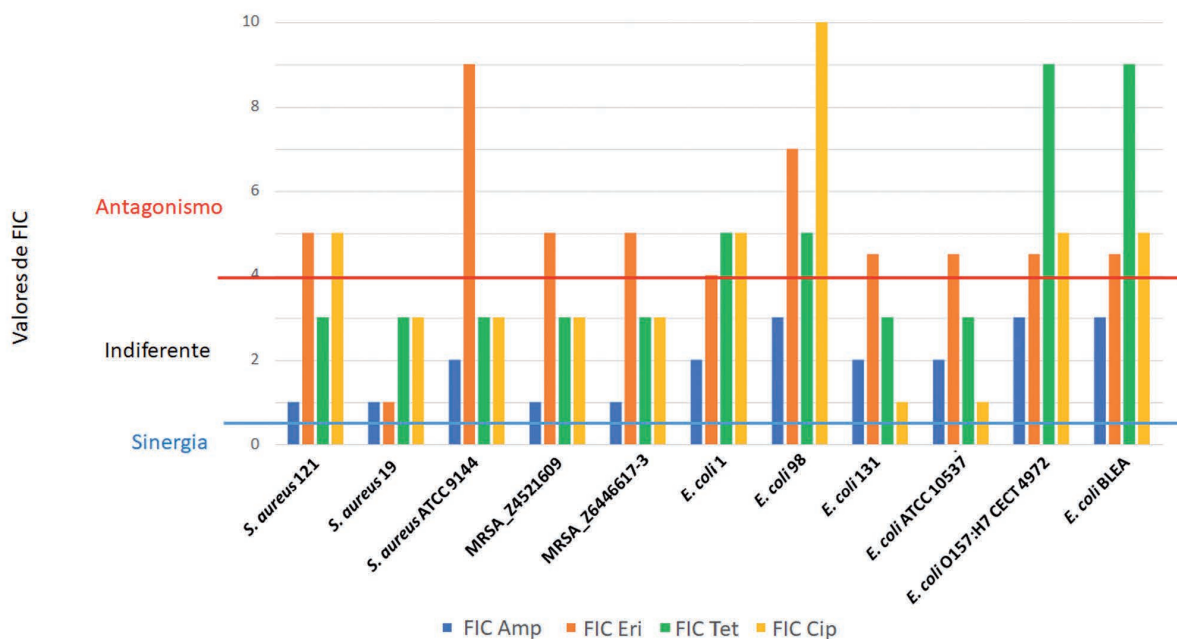


Figura 2. Índice de concentración inhibitoria fraccional (FIC) de Bechipropol en combinación con diferentes antibióticos, tales como ampicilina (Amp), eritromicina (Eri), tetraciclina (Tet) y ciprofloxacina (Cip).

en el tracto digestivo en las personas sanas. Estos resultados son similares a los realizados con propóleo en la microbiota gastrointestinal en pollos en cuanto a que no afecta la microbiota de lactobacilos. En este estudio se observó que había una reducción del número de géneros de *Enterobacteriaceae* y aumentaba la cantidad de enterococos y lactobacilos. Estos cambios podrían ayudar a mejorar el bienestar, el estado de salud y el rendimiento de los pollos de engorde [30].

Interacción entre la actividad antimicrobiana de los antibióticos y el Bechipropol

Se ha estudiado *in vitro* si la combinación de y Bechipropol, con diferentes antibióticos podría modificar la sensibilidad de las bacterias frente dichos antibióticos (Fig. 2).

Con el CA estudiado se ha observado que la combinación del mismo con ampicilina, no tiene ningún efecto sobre los cambios en la susceptibilidad en las cepas. Sin embargo, en el caso de la eritromicina, para todas las cepas estudiadas se ha constatado un efecto antagónico, es decir que se necesita aumentar la concentración de antibiótico para poder observar la inhibición del crecimiento. Para la tetraciclina y ciprofloxacina, se observa el efecto antagónico en el caso de las cepas de *E. coli*. En estudios previos la combinación de propóleos con fármacos antimicrobianos reveló un efecto sinérgico entre propóleo y antibióticos como ciprofloxacino en tratamiento experimental de queratitis por *Staphylococcus aureus* [31], con amoxicilina, ampicilina, cefalexina, cloranfenicol, tetraciclina y neomicina y *Salmonella typhi* [32]. Como en el caso del estudio de las susceptibilidades al propóleo, es difícil obtener resultados comparables utilizando la mezcla de productos naturales del propóleo, dada la enorme diversidad en composición y efectos biológicos.

En cualquier caso, para este CA, se podría indicar la conveniencia de no mezclar estos complementos alimenticios con un tratamiento antibiótico. Es conocido que la mezcla de antibióticos y alimentos, en algunas ocasiones puede tener un efecto negativo. Las tetraciclinas, se absorben por el tracto intestinal y la ingestión de alimentos, especialmente los derivados de leche, algunos antiácidos y fármacos con hierro

reducen su absorción. Las mezclas tan complejas que forman algunos CA hace muy difícil su estudio y la extracción de conclusiones a pesar de sus propiedades positivas para la salud y sus posibles interacciones medicamentosas.

El propóleo no parece tener efectos secundarios después de su administración a ratones o seres humanos. No se observaron alteraciones en las actividades enzimáticas (lactato deshidrogenasa y aspartato aminotransferasa), niveles de lípidos (colesterol, colesterol de lipoproteínas de alta densidad, triglicéridos y lípidos totales) en el suero de ratas tratadas con propóleo, en comparación con el grupo de control [28]. Se ha sugerido que una concentración segura para los seres humanos podría ser de 1,4 mg / kg al día, o aproximadamente 70 mg / día. Sus efectos potencialmente beneficiosos dependen del tipo de propóleo. La estandarización universal del propóleo es difícil y compleja, pero es imprescindible un estudio detallado de la composición del propóleo y de su origen botánico, porque la composición de la fuente vegetal determina composición de propóleo. El uso de muestras caracterizadas químicamente para los ensayos biológicos es la manera de investigar sus propiedades y hacer comparativos los estudios, para la "estandarización" y el control de calidad de una muestra dada.

4. Conclusiones

La mayoría de las bacterias aisladas de personas sanas presentan un nivel de sensibilidad elevado a los antibióticos, siendo las bacterias gramnegativas (*E. coli*) más resistentes que las bacterias grampositivas (*S. aureus*), como era esperable por presentar una envuelta bacteriana más compleja.

Los complementos alimenticios presentaron acción antimicrobiana, mayor que el propóleo, probablemente debido a la presencia de extractos vegetales de su formulación. Esta actividad antimicrobiana es independiente del nivel de resistencia a los antibióticos, indicando un mecanismo de acción diferente.

Al combinar los complementos alimenticios con la ampicilina no se ha observado ningún cambio en la susceptibilidad de las cepas. Al combinarlos con tetraciclina y ciprofloxacino se ha observado un efecto antagónico con *E. coli*, y respecto a la

eritromicina la interacción antagónica se observó en todas las cepas estudiadas. Estos resultados indican la conveniencia de no mezclar los complementos alimenticios con un tratamiento antibiótico.

Las bacterias lácticas han mostrado un comportamiento diferente ya que las concentraciones de propóleo y de los complementos alimenticios utilizadas son escasamente inhibitorios, es decir, no alteran la microbiota láctica beneficiosa que se encuentra en personas sanas en el tracto digestivo.

Contribuciones de los autores

Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Ramón Garrido Rosso la ayuda y el apoyo mostrados durante la realización del trabajo.

Financiación

Este trabajo ha sido financiado por Bechinatural Nutrition S.L.

Conflicto de intereses

Los autores declaran la ausencia de conflicto de intereses.

Referencias bibliográficas

1. Armstrong GL, Conn LA, Pinner RW. Trends in infectious disease mortality in the United States during the 20th century. *JAMA*. 1999;281:61–6.
2. Michaud CM. Global burden of infectious diseases. *Encyclopedia Microbiology*. 2009;17:444-54.
3. Lewis JE, Schneiderman N. Nutrition, physical activity, weight management, and health. *Rev Colomb Psiquiatr*. 2006;35:157–75.
4. Kioukia-Fougia N, Georgiadis N, Tsarouhas K, Vasilaki F, Fragkiadaki P, Meimeti E, Tsitsimpikou C. Synthetic and natural nutritional supplements: Health “allies” or risks to public Health? *Bentham Science* 2016 doi: 10.2174/1872213X10666160923163700.
5. Lentjes MAH. The balance between food and dietary supplements in the general population. *Proc Nutr Soc*. 2019;78:97–109.
6. Schüpbach R, Wegmüller R, Berguerand C, Bui M, Herter-Aeberli I. Micronutrient status and intake in omnivores, vegetarians and vegans in Switzerland. *Eur J Nutr*. 2017;56:283–93. doi: 10.1007/s00394-015-1079-7.
7. Tueros I, Uriarte M. Innovative food products for cancer patients: future directions. *J Sci Food Agric*. 2018;98:1647–52. doi: 10.1002/jsfa.8789.
8. Genser D. Food and drug interaction: consequences for the nutrition/health status. *Ann Nutr Metabol*. 2008;52:29–32. doi: 10.1159/000115345.
9. Coppens P, Fernandes da Silva M, Pettman S. European regulations on nutraceuticals, dietary supplements and functional foods: a framework based on safety. *Toxicology*. 2006;221:59–74.
10. Yucel B, Topal E, Kosoglu M. Bee products as functional food. 2017. *INTECH Open Science* doi: 10.5772/65477.
11. Freires IA, de Alencar SM, Rosalen PL. A pharmacological perspective on the use of brazilian red propolis and its isolated compounds against human diseases. *Eur J Med Chem*. 2016;110:267–79.
12. Graikou KK, Popova M, Gortzi O, Bankova V, Chinou I. Characterization and biological evaluation of selected Mediterranean propolis samples. Is it a new type? *Food Sci Technol*. 2016;65:261-7. doi: 10.1016/j.lwt.2015.08.025.
13. Dantas RP, Souza BA, de Abreu G, Serra S, Nalone L, et al. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. *PLoS One*. 2017;12(3):e0172585. doi: 10.1371/journal.pone.0172585.
14. Regueira MS, Tintino SR, Pereira da Silva AR, Costa MS, Boligon AA, Matias EF, et al. Seasonal variation of Brazilian red propolis: Antibacterial activity, synergistic affect and phytochemical screening. *Food Chem Toxicol*. 2017;107:572–80.

15. Przybyłek I, Karpinski TM. Antibacterial properties of propolis. *Molecules* 2019;24:1–17.
16. El-Guendouz A, Lyoussi B, Miguel MG. Insight of propolis from Mediterranean countries: Chemical composition, biological activities and application fields. *Chem. Biodiversity*. 2019;16:e1900094. doi: 10.1002/cbdv.201900094.
17. Fint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;9:577–89.
18. Carding S, Verbeke K, Vipond DT, Corfe BM, Oweb LJ. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microbial Ecol Health Dis*. 2015;25:1. doi: 10.3402/mehd.v26.26191.
19. Aagaard K, Stewart CJ, Chu D. Does exposure to the vaginal microbiota confer Health benefits to the infant, and does lack of exposure disease risk? *EMBO rep*. 2016;17:1679–84.
20. Mills JG, Brookers JD, Gellie NJ, Liddicoat C, Lowe AJ, Sydnor HR, et al. Relating urban biodiversity to human Health with the “holobiont” concept. *Front Microbiol*. 2019;10:article 550. doi: 10.3389/fmicb.2019.00550.
21. Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiano GAD, Gasbarrini A, Mele MC. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and disease. *Microorganisms*. 2019;7(1):14. doi: 10.3390/microorganisms7010014.
22. The human gut microbiota. 2018 JRC Technical reports. <https://publications.jrc.ec.europa.eu › JRC112042>.
23. King CH, Desai H, Sylvetsky AC, LoTempio J, Ayanyan S, Carrie J, et al. Baseline human gut microbiota profile in healthy people and standard reporting templates. *PLoS ONE*. 2019;14:e0206484. doi: 10.1371/journal.pone.0206484.
24. Makarewicz M, Drozdzi I, Tarko T, Duda-Chodak A. The Interactions between polyphenols and microorganisms, especially gut Microbiota. *Antioxidants*. 2021;10:188.
25. Patel JB, Tenover FC, Turnidge JD, Jorgensen JH. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. En: Versalovic J, Carroll KC, Jorgensen JH, Funke G, Landry ML, Warnock DW, editores. *Manual of Clinical Microbiology*, 10th edition, vol 1. Washington DC: ASM Press; 2011. p. 1122-43.
26. Magi G, Marini E, Facinelli B. Antimicrobial activity of essential oils and carvacrol, and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant group A streptococci. *Front Microbiol*. 2015;6:165. doi.org/10.3389/fmicb.2015.00165.
27. de Vecchi E, Drago L. Attività antimicrobica della propoli; cosa c'è di nuovo. *La Infezioni in Medicina*. 2007;1:7-15. doi.org/10.3390/antiox10020188.
28. Sforcin JM. Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytother Res*. 2016;30:894–905.
29. Klancnik A, Guzej B, Kolar MH, Abramovick H, Mozina SS. In vitro antimicrobial and antioxidant activity of commercial Rosemary extract formulations. *J Food Protect*. 2009;72:1744–52.
30. Kacaniova M, Rovna K, Arpasova H, Cubon J, Hleba L, Petrova J, et al. In vitro and in vivo antimicrobial activity of propolis on the microbiota from gastrointestinal tract of chickens. *J Environ Sci Health*. 2012;47:1665-71.
31. Oksuz H, Duran N, Taner C, Cetin M, Silici S. Effect of propolis in the treatment of experimental *Staphylococcus aureus* keratitis in rabbits. *Ophthalmic Res*. 2005;37(6):328-34. doi: 10.1159/000087943
32. Orsi RO, Sforcin JM, Funari SRC, Fernandes Jr A, Bankova V. Synergistic effect of propolis and antibiotics on the *Salmonella typhi*. *Brazilian J Microbiol*. 2006;37:108–12.

Este trabajo debe ser citado como:

Berlanga M, de Grau G, Marqués AM. Efecto de los complementos alimenticios con propóleo en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* aislados de la microbiota de personas sanas. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(1):13-22.