

COMUNICACIÓN CORTA

Actividad bactericida *in vitro* de miel sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Comparación con la actividad de cefalosporinas.

Dell'Elce A, Aguirre MS, Patricelli P, Formentini E

Laboratorio de Farmacología y Toxicología – Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad
Nacional del Litoral.

* *Correspondencia:* Enrique Formentini, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. R.P. Kreder
2805 (3080) Esperanza, Santa Fe, Argentina.
E-mail: eforment@fcv.unl.edu.ar

Recibido: 21 Noviembre 2017. Aceptado: 24 Febrero 2018. Disponible en línea: 6 Marzo 2018
Editor: A. Racca

RESUMEN. Se realizó un estudio comparativo entre la actividad antibacteriana de miel y cefalexina sobre una cepa de *Escherichia coli* y de miel y cefquinoma sobre una cepa de *Staphylococcus aureus* mediante ensayos de curva de muerte modificada. En todos los ensayos, la máxima actividad antibacteriana de la miel se observó a una dilución del 50% v/v. Respecto de la eficacia comparativa entre la miel y los antibióticos, se observó que sobre *E. coli*, cefalexina logró una reducción del conteo de bacterias viables compatible con un efecto bactericida (< 500 ufc/mL), mientras que la miel no logró superar este punto de corte. Lo opuesto se observó para *S. aureus*, donde la miel logró una reducción del conteo de bacterias viables compatible con un efecto de erradicación bacteriana (< 50 ufc/mL) respecto del efecto bactericida obtenido con cefquinoma (< 500 ufc/mL). Estos resultados preliminares, corroboran la necesidad de revalorar la actividad antibacteriana de productos naturales, cuya eficacia -aunque de manera empírica- ya era conocida desde la antigüedad y que fuera olvidada a partir de la aparición de los antibióticos.

SUMMARY. *In vitro bactericidal activity of honey against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Comparison with the activity of cephalosporins.* A comparative study was conducted between the antibacterial activity of honey and cephalexin against a strain of *Escherichia coli* and honey and cefquinome against a strain of *Staphylococcus aureus* by modified time-kill-curves essays. In all trials, the maximum antibacterial activity of honey was observed at a dilution of 50% v/v. Regarding the comparative efficacy between honey and antibiotics, it was observed that against *E. coli*, cephalexin achieved a reduction in viable bacteria count compatible with a bactericidal effect (<500 cfu/mL), while honey did not overcome this breakpoint. The opposite was observed for *S. aureus*, where honey achieved a reduction in the viable bacteria count compatible with a bacterial eradication effect (<50 cfu/mL) with respect to the bactericidal effect obtained with cefquinome (<500 cfu/mL). These preliminary results corroborate the need to revalue the antibacterial activity of natural products, whose efficacy - although empirically - was already known since antiquity and was forgotten after the appearance of antibiotics.

Palabras clave: miel; actividad antibacteriana; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*

Key words: honey; antibacterial activity; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*

La medicina tradicional siempre reconoció las propiedades curativas de la miel sobre las enfermedades de la piel (McLoone et al., 2016). Ya en la antigua Persia, en el antiguo Egipto y en Grecia, estaba documentado el empleo de miel para el tratamiento de heridas, eczemas e inflamaciones cutáneas (Eteraf-Oskouei y Najafi, 2013). Con la llegada de los antibióticos, el uso medicinal de la miel fue abandonado y olvidado (Molan, 2001; Fiorilli et al., 2015), aunque

muchas culturas originarias la siguieron utilizando con fines medicinales (Kwakman y Zaat, 2012).

La pérdida de eficacia de los antibióticos a causa del avance de la resistencia bacteriana y la escasez de nuevas drogas para hacer frente a esta problemática (Nathan, 2004), ha llevado a que la Organización Mundial de la Salud, reconozca la posibilidad del inicio de una era posantibiótica, donde infecciones comunes

puedan provocar la muerte (WHO, 2014). Frente a esta situación la comunidad científica ha comenzado a revalorar la actividad antibacteriana de la miel (Cooper et al., 2002) y se ha despertando el interés por su empleo en el tratamiento de infecciones dérmicas producidas por bacterias resistentes (Bonn, 2003).

Numerosos estudios han demostrado que la miel presenta una actividad antibacteriana de amplio espectro, que incluye gérmenes aerobios, anaerobios, Gram positivos y Gram negativos (Cooper et al., 2002; Al-Waili et al., 2005). Muchos microorganismos que son la etiología de infecciones dérmicas en humanos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Streptococcus pyogenes*, han mostrado ser sensibles a la actividad de la miel (Molan, 2001; Ong, 2014).

La actividad antibacteriana de la miel es consecuencia de la acción conjunta de varios factores y compuestos siendo los más importantes: la elevada osmolaridad, el bajo pH (3,2-4,5) (Kwakman y Zaat, 2012), y el peróxido de hidrógeno, cuya acción es responsable de una parte importante de su actividad antibacteriana (Fiorilli et al., 2015). Además se han identificado factores fitoquímicos tales como derivados tetraciclínicos, peróxidos, amilasa, ácidos grasos, fenoles, ácido ascórbico, terpenos, alcohol benzílico y ácido benzoico, los que también le confieren a la miel su actividad bactericida y bacteriostática (Shears, 2000).

Otro componente que tiene un importante papel en su actividad antibacteriana es la defensina de abeja-1, que es un péptido antibacteriano endógeno secretado por la glándula hipofaríngea de la abeja, que ingresa a la miel a través de la saliva de esta durante el proceso de su fabricación y presenta gran actividad sobre bacterias Gram positivas, especialmente *S. aureus* (Kwakman et al, 2010).

A diferencia de los antibióticos que destruyen las bacterias a partir de mecanismos de acción específicos, todos los factores y compuestos presentes en la miel, ejercen su acción de manera inespecífica y, actuando en conjunto, dan como resultado la muerte o la inhibición del crecimiento de muchas especies bacterianas, inclusive aquellas que han desarrollado resistencia a un antibiótico en particular como *S. aureus* meticilino resistente (Maeda et al., 2008) o que han desarrollado multiresistencia (Wasihun y Kasa, 2016).

Si bien la actividad antibacteriana de la miel ha sido reportada sobre muchas cepas bacterianas (Wasihun y Kasa, 2016), no son muchos los estudios comparativos entre el efecto antibacteriano de esta y el obtenido con agentes antibióticos.

En este estudio se evaluaron y compararon las actividades bactericidas de: (i) una miel regional y cefalexina (cefalosporina de 1^{ra} generación) sobre una cepa de *Escherichia coli* y (ii) una miel regional y cefquinoma

(cefalosporina de 4^{ta} generación) sobre una cepa de *Staphylococcus aureus*.

Las bacterias utilizadas fueron *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 29213. La miel utilizada fue una miel de pradera originaria de la zona rural de Esperanza, Santa Fe, Argentina, cosechada en el apiario existente en la Unidad Académica Productiva (UAP) perteneciente a la Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Argentina. Los antibióticos utilizados consistieron en estándares de cefalexina y cefquinoma de pureza conocida.

La actividad bactericida de la miel y los antibióticos se evaluó en ensayos modificados de curvas de muerte bacteriana, en las que las curvas de crecimiento testigo de *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 29213 se realizaron en caldo Mueller Hinton (García-Rodríguez y col., 2001).

Los inóculos de las cepas de *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 29213 con una concentración bacteriana de 5×10^5 unidades formadoras de colonia/mL (ufc/mL) fueron expuestos a miel diluida en caldo Mueller Hinton a las siguientes concentraciones: 50, 40, 30, 20 y 10 % v/v.

Las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de cefalexina sobre *E. coli* ATCC 25922 y de cefquinoma sobre *S. aureus* ATCC 29213 fueron determinadas por el método de macrodilución en tubo (CLSI, 2008) dentro de un intervalo de concentraciones comprendidas entre 0,5 y 64 µg/mL para cefalexina y entre 0,03 y 4 µg/mL para cefquinoma.

En los ensayos de curvas de muerte modificadas, los inóculos de *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 29213 (5×10^5 ufc/mL) fueron expuestos a concentraciones equivalentes a 0,5 x CIM, 1 x CIM, 2 x CIM y 4 x CIM de cefalexina y cefquinoma respectivamente.

Tanto en las curvas de crecimiento testigo y muerte en presencia de miel y antibiótico, todos los inóculos fueron incubados a 35°C durante 24 h. Durante ese período se extrajeron alícuotas a tiempo cero y a las 24 h. Las alícuotas fueron diluidas en forma seriada en solución fisiológica y de cada una se extrajeron 100 µL que fueron extendidos sobre la superficie de placas de agar Mueller Hinton. Luego de incubar las placas a 35°C durante 24 h se procedió al conteo de ufc/placa. El número de ufc/placa obtenido al final de cada ensayo para cada concentración de miel y antibiótico, se multiplicó por el factor de corrección que derivó de cada dilución realizada y el conteo de bacterias viables se expresó como \log_{10} ufc/mL.

La eficacia antibacteriana de la miel y los antibióticos se evaluó con tres puntos de corte: (i) actividad bacteriostática, sin modificación del \log_{10} conteo bacteriano inicial y que equivale a la CIM, (ii) actividad bactericida, cuando el \log_{10} del conteo de bacterias viables fue $\leq 2,7$

que corresponde a un conteo bacteriano ≤ 500 ufc/mL y que es equivalente a la concentración bactericida mínima (CBM) y (iii) erradicación bacteriana, cuando \log_{10} del conteo de bacterias viables fue $\leq 1,7$ que corresponde a un conteo bacteriano ≤ 50 ufc/mL y que es equivalente a la concentración mínima de erradicación bacteriana (CME) (Baroni et al., 2014; Patricelli et al., 2017).

La relación entre los valores del \log_{10} ufc/mL en función de cada concentración de antibiótico y cada dilución de miel, se ajustó con el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de Hill (Ecuación 1).

$$R = R_0 + \frac{R_{max} \cdot C^N}{C_{50} + C^N}$$

Ecuación 1

Donde R es el número de bacterias viables expresado como \log_{10} ufc/mL, R_0 es el \log_{10} ufc/mL al inicio del ensayo, R_{max} es la máxima reducción del conteo de bacterias viables (\log_{10} ufc/mL) respecto del conteo bacteriano inicial, C_{50} es la dilución de miel expresada en % p/v o la concentración de antibiótico ($\mu\text{g/mL}$) que logra el 50% de R_{max} , C es la dilución de miel o concentración de antibiótico y N es el coeficiente de sigmoidicidad o de Hill.

El ajuste de los datos experimentales se realizó mediante regresión no lineal ponderada de mínimos cuadrados con el software ADAPT II (BMSR, University of Southern California, USA).

Reordenando la ecuación 1 se obtuvo una segunda ecuación con la que se estimaron los valores teóricos de

las diluciones de miel o las concentraciones de antibiótico con que se obtendrían los tres efectos antibacterianos mencionados (Ecuación 2).

$$C = \left[\frac{(R - R_0) \cdot C_{50}^N}{R_{max} - R_0 - R} \right]^{\frac{1}{N}}$$

Ecuación 2

Donde R es la respuesta esperada (\log_{10} ufc/mL) de la que se requiere saber que concentración de miel o antibiótico se necesita para obtenerla. Los demás parámetros ya fueron explicados.

Los valores de CIM de cefalexina para *E. coli* ATCC 25922 y de cefquinoma para *S. aureus* ATCC 29213 fueron $16 \mu\text{g/mL}$ y $0,5 \mu\text{g/mL}$ respectivamente.

Las eficacias antibacterianas calculadas a partir del recuento de bacterias viables al final del ensayo (eficacia observada) para miel y cefalexina sobre *E. coli* ATCC 25922 fueron 99,77 % y 99,94 % respectivamente, mientras que para miel y cefquinoma sobre *S. aureus* ATCC 29213 fueron 99,99 % y 99,94 % respectivamente.

La evolución del conteo de bacterias viables expresado como \log_{10} ufc/mL de *E. coli* ATCC 25922 en función de concentraciones crecientes de miel y cefalexina y de *S. aureus* ATCC 29213 en función de concentraciones crecientes de miel y cefquinoma se presentan en la figura 1.

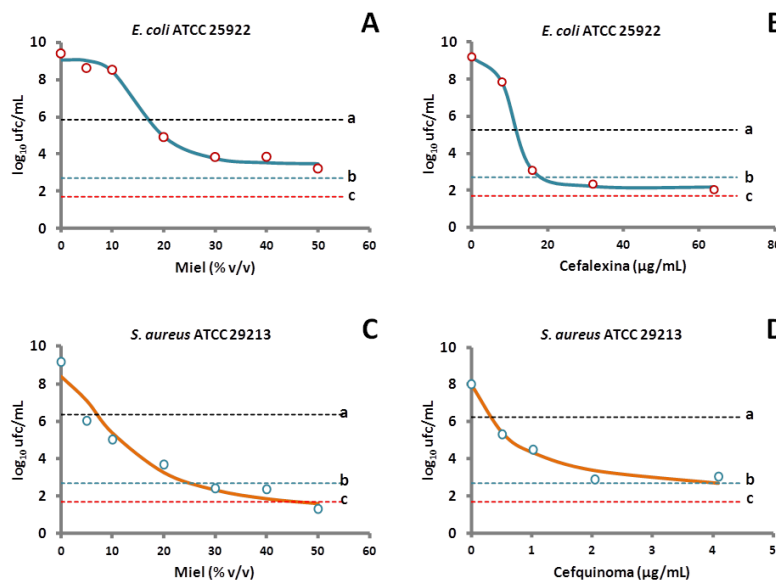


Figura 1. Evolución del conteo de bacterias viables expresado como \log_{10} ufc/mL de *E. coli* ATCC 25922 en función de concentraciones crecientes de miel (A) y cefalexina (B) y de *S. aureus* ATCC 29213 en función de concentraciones crecientes de miel (C) y cefquinoma (D). Los círculos corresponden a los datos experimentales (\log_{10} ufc/mL) y las líneas llenas son los valores estimados por el modelo de respuesta máxima o de Hill. Las líneas de puntos horizontales representan los puntos de corte de eficacia antibacteriana; a) actividad bacteriostática, b) actividad bactericida y c) actividad de erradicación bacteriana teórica.

Los parámetros farmacodinámicos estimados por el ajuste de los datos experimentales con el modelo sigmoideo de respuesta máxima o de Hill (Tabla 1) muestran que sobre *S. aureus* ATCC 29213, la miel logró una mayor reducción del \log_{10} de bacterias viables (R_{max}) y necesitó menor concentración (% v/v) para obtener el 50% de ese efecto (C_{50}), respecto de la actividad obtenida sobre *E. coli* ATCC 25922.

Tabla 1. Parámetros farmacodinámicos estimados por ajuste de los valores del conteo de bacterias viables expresado como \log_{10} ufc/mL de *E. coli* ATCC 25922 en función de concentraciones crecientes de miel y cefalexina y de *S. aureus* ATCC 29213 en función de concentraciones crecientes de miel y cefquinoma. R es el número de bacterias viables expresado como \log_{10} ufc/mL, R_0 es el \log_{10} ufc/mL al inicio del ensayo, R_{max} es la máxima reducción del conteo de bacterias viables (\log_{10} ufc/mL) respecto del conteo bacteriano inicial, C_{50} es la dilución de miel expresada en %v/v o la concentración de antibiótico ($\mu\text{g/mL}$) que logra el 50% de R_{max} y N es el coeficiente de sigmoidicidad o de Hill.

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		
Parámetros	Miel	Cefalexina
R_0	9,040	9,203
R_{max}	-5,579	-7,038
C_{50}	15,943	10,790
N	4,460	4,785
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213		
Parámetros	Miel	Cefquinoma
R_0	8,372	7,953
R_{max}	-7,427	-6,169
C_{50}	12,473	0,712
N	1,704	1,011

También se observó una diferencia respecto a la sensibilidad de la actividad antibacteriana, ya que sobre *S. aureus* ATCC 29213, el incremento de la eficacia fue gradual ($N \approx 1$), es decir que el conteo de bacterias viables se redujo en forma cuasi proporcional a las concentraciones de miel, fenómeno también observado para cefquinoma, mientras que sobre *E. coli* ATCC 25922, la actividad de la miel fue de tipo todo o nada ($N \gg 1$) es decir que bastó una dilución de miel (10 % v/v a 20 % v/v) para que se pasara de ausencia de actividad a una reducción importante en el número de bacterias viables, siendo este fenómeno también observado en la actividad de cefalexina.

Respecto de eficacia comparativa entre la miel y los antibióticos, se observó que sobre *E. coli* ATCC 25922, solo cefalexina logró una reducción del conteo de bacterias viables compatible con un efecto bactericida (< 500 ufc/mL), mientras que la miel no logró superar este punto de corte.

Lo opuesto se observó para *S. aureus* ATCC 29213, donde la miel logró una reducción del conteo de bacterias viables compatible con un efecto de erradicación bacteriana (< 50 ufc/mL) respecto del efecto bactericida obtenido con cefquinoma (< 500 ufc/mL).

Los valores de las concentraciones de miel y los antibióticos para obtener los efectos bacteriostático, bactericida y de erradicación bacteriana, que fueron calculados a partir de los parámetros estimados con el modelo de respuesta máxima o de Hill se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Valores estimados de las concentraciones de miel (% v/v), cefalexina y cefquinoma ($\mu\text{g/mL}$) para obtener los efectos bacteriostáticos (CIM), bactericida (CBM) y de erradicación bacteriana (CME) sobre *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 29213, calculados a partir de los parámetros estimados por el ajuste de los datos experimentales con el modelo de respuesta máxima o de Hill. CIM: concentración inhibitoria mínima; CBM: concentración bactericida mínima; CME: concentración mínima de erradicación bacteriana.

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		
Efecto	Miel	Cefalexina
Bacteriostático (CIM)	17,04 %v/v	11,32 $\mu\text{g/mL}$
Bactericida (CBM)	-	18,18 $\mu\text{g/mL}$
Erradicación (CME)	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213		
Efecto	Miel	Cefquinoma
Bacteriostático (CIM)	7,03 %v/v	0,28 $\mu\text{g/mL}$
Bactericida (CBM)	24,8 %v/v	4,01 $\mu\text{g/mL}$
Erradicación (CME)	44,8 %v/v	-

La miel presentó sobre *S. aureus* ATCC 29213 una concentración equivalente a la CIM de CIM (7,03 % v/v), logrando sobre esta bacteria un equivalente a la erradicación bacteriana (CEM) con una concentración cercana al 50 % v/v (44,8 % v/v). Por el contrario, sobre *E. coli* ATCC 25922, la miel solamente logró un efecto bacteriostático (CIM) necesitando para ello una concentración de 17,04 % v/v, que fue 2,42 veces mayor a la necesaria para obtener el mismo efecto sobre *S. aureus* ATCC 29213

En este trabajo se presenta información preliminar acerca de la actividad antibacteriana de una miel originaria de la zona rural de la Ciudad de Esperanza, ubicada en la región centro de la provincia de Santa Fe y se reportan los valores estimados de CIM, CBM y CEM de la misma sobre dos cepas bacterianas (*S. aureus* ATCC 29213 y *E. coli* ATCC 25922) empleando un modelo matemático. Esta metodología se utilizó porque la turbidez de las diluciones de miel, impedía la determinación de la CIM por inspección visual y, porque la estimación de los valores de CBM y CME por recuento de bacterias viables resultaría sesgada a causa de la inexactitud originada por los intervalos entre las diluciones de la miel. Por el contrario, el ajuste de los valores de \log_{10} ufc/mL con el modelo matemático, permitió estimar con exactitud el valor de estos parámetros, evitando así el error mencionado.

La miel regional presentó la máxima eficacia antibacteriana sobre las cepas de *S. aureus* y *E. coli* en su máxima concentración (50 % v/v), mostrando así una

actividad concentración dependiente, lo que concuerda con lo reportado por Wasihun y Kasa, (2016).

La potencia de la actividad antibacteriana de la miel regional, entendida como la concentración de miel (% v/v) capaz de eliminar el 50% del inóculo original y que se expresa como C_{50} fue menor sobre *S. aureus* (menor valor de C_{50}) que sobre *E. coli* (Tabla 1). Además, se observó que el valor de la CIM sobre *S. aureus* (7,03 % v/v) fue menor al estimado para *E. coli* (17,04 % v/v) (Tabla 2), resultados que se corresponden con las observaciones reportadas por Sherlock et al. (2010) y Kateel et al. (2018), quienes observaron que mieles de diversos orígenes presentaron menores valores de CIM sobre bacterias Gram positivas que sobre bacterias Gram negativas.

No obstante la menor potencia y eficacia de la miel regional sobre *E. coli* ATCC 25922, la dilución de esta al 50% v/v logró una eficacia del 99,77%, que aunque no llega a ser compatible con un efecto bactericida, no deja de ser una actividad antibacteriana importante, tratándose de un producto de origen natural.

Respecto a la actividad comparada entre la miel regional y cefquinoma sobre la cepa de *S. aureus* ATCC 29213, la primera mostró ser una importante alternativa a la terapéutica antibiótica convencional, ya que logró sobre esta bacteria la erradicación bacteriana teórica (CME) en contraposición a la actividad bactericida (CBM) obtenida con este antibiótico (Tabla 2), que es una cefalosporina de 4^{ta} generación y que está indicada para el tratamiento de infecciones producidas por cepas de *S. aureus* metilino resistentes (Li et al., 2016).

Siendo que *S. aureus* es uno de los agentes bacterianos que con mayor frecuencia se halla contaminando heridas cutáneas, los resultados obtenidos en este estudio respaldan el empleo potencial de este producto natural, que ha mostrado ser un antibacteriano de superficie tan efectivo como muchos agentes antibióticos. Su aplicación tópica sobre heridas produce exfoliación de tejidos muertos y favorece la formación de tejido de granulación, la angiogénesis y la reepitelización, y al ejercer además actividad antibacteriana sobre la solución de continuidad, evita la proliferación o la invasión de la herida por parte de microorganismos patógenos (Mandal y Mandal, 2011).

Los resultados obtenidos en este estudio, corroboran la necesidad de revalorar la actividad antibacteriana de productos naturales con actividad antimicrobiana como la miel, cuya eficacia –aunque de manera empírica– ya era conocida desde la antigüedad y que fuera olvidada a partir de la aparición de los antibióticos y destacan la importancia de testear la actividad antibacteriana de mieles originarias de la región centro de la provincia de Santa Fe para identificar aquellas que presentan mayor potencia y eficacia antibacteriana.

Bibliografía

Al-Waili N, Akmal M, Al-Waili F, Saloom K, Ali A. 2005. The antimicrobial potential of honey from United Arab Emirates on some microbial isolates. *Med. Sci. Monit.* 11: 433-438.

Baroni E, Russi N, Rubio M, Picco E, Formentini E. 2014. Actividad antibacteriana in vitro de ciprofloxacina sobre *Escherichia coli*: efecto del suero bovino y tamaño del inóculo. *InVet* 16: 7-14.

Bonn D. 2003. Sweet solution to superbug infections? *Lancet Infect. Dis.* 3: 608.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2008. Development of in vitro susceptibility testing criteria and quality control parameters for veterinary antimicrobial agents; Approved guideline. 3rd Edition, Document M37-A3, Volume 28, Number 7. Wayne, Pennsylvania USA.

Cooper RA, Molan PC, Harding KG. 2002. The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. *J. Appl. Microbiol.* 93: 857-863.

Eteraf-Oskouei T, Najafi M. 2013. Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: A Review. *Iran J. Basic. Med. Sci.* 16: 731-742.

Fiorilli G, Rosanova MT, Hernández C, Taicz M, Laborde S, Lede R. 2015. Evaluación del poder bactericida de miel de abeja polifloral sobre gérmenes de pacientes internados en un hospital pediátrico. *Revista Medicina Infantil* 22: 296-299.

García Rodríguez J, Cantón R, García Sánchez J, Gómez-Lus M, Martínez Martínez L, Rodríguez-Avial C, Vila J. 2001. Métodos Especiales para el Estudio de la sensibilidad a los Antimicrobianos. Juan J. Picazo Editor: Procedimientos en Microbiología Clínica; SEIMC Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Primera Edición. España. pp. 1-38.

Kateel R, Bhat G, Baliga S, Augustine AJ, Ullal S, Adhikari P. 2018. Antibacterial action of Tropical honey on various bacteria obtained from diabetic foot ulcer. *Complement. Ther. Clin. Pract.* 30: 29-32.

Kwakman PH, te Velde AA, de Boer L, Speijer D, Vandenbroucke-Grauls CM, Zaat SA. 2010. How honey kills bacteria. *FASEB J.* 24: 2576-2582.

Kwakman PH, Zaat SA. 2012. Antibacterial components of honey. *IUBMB Life* 64: 48-55.

Li Y, Feng B, Gu X, Yang D, Zeng Z, Zhang B, Ding H. 2016. Correlation of PK/PD indices with resistance selection for cefquinome against *Staphylococcus aureus* in an in vitro model. *Front. Microbiol.* 7: 466-467.

Maeda Y, Loughrey A, Earle JA, Millar BC, Rao JR, Kearns A, McConville O, Goldsmith CE, Rooney PJ, Dooley JS, Lowery CJ, Snelling WJ, McMahon A, McDowell D, Moore JE. 2008. Antibacterial activity of honey against community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *Complement Ther. Clin. Pract.* 14: 77-82.

Mandal MD, Mandal S. 2011. Honey: its medicinal property and antibacterial activity Asian Pac. J. Trop. Biomed. 1: 154-160.

McLoone P, Warnock M, Fyfe L. 2016. Honey: A realistic antimicrobial for disorders of the skin. J Microbiol. Immunol. Infect. 49: 161-167.

Molan PC. 2001. Potential of honey in the treatment of wounds and burns. Am. J. Clin. Dermatol. 2: 13-19.

Nathan C. 2004. Antibiotics at the crossroads. Nature 431: 899-902.

Ong PY. 2014. Recurrent MRSA skin infections in atopic dermatitis. J. Allergy Clin. Immunol. Pract. 2: 396-399.

Patricelli P, Ramirez E, Presa Rossa C, Dell'Elce A, Formentini E. 2017. Efecto de la persistencia bacteriana sobre la eficacia de la enrofloxacin y ciprofloxacina frente a una cepa de Escherichia coli. Revista FAVE - Sección Ciencias Veterinarias 16: 30-38.

Shears P. 2000. Antimicrobial resistance in the tropics. Trop. Doct. 30: 114-116.

Sherlock O, Dolan A, Athman R, Power A, Gethin G, Cowman S, Humphreys H. 2010. Comparison of the antimicrobial activity of Ulmo honey from Chile and Manuka honey against methicillin-resistant Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa. BMC Complement. Altern. Med.10: 47-52.

Wasihun AG, Kasa BG. 2016. Evaluation of antibacterial activity of honey against multidrug resistant bacteria in Ayder Referral and Teaching Hospital, Northern Ethiopia. Springerplus 23: 842-850.

WHO (World Health Organization). 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en>.
