



AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE CEPAS BACTERIANAS À EXTRATO DE PROPOLIS MARROM

VILELA, Camila de Oliveira¹; CASTRO, Clarissa Caetano de¹; NUNES, Cristina Freitas¹; FISCHER, Geferson¹; HÜBNER, Silvia Oliveira¹; LADEIRA, Silvia²; DE TONI, Letícia²; VARGAS, Gilberto D'Avila¹.

1 Laboratório de Virologia e Imunologia - Faculdade de Veterinária/UFPeI, Pelotas/RS.

*2 Laboratório Regional de Diagnósticos - Faculdade de Veterinária/UFPeI, Pelotas/RS/Brasil
Campus Universitário – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900. camilavilela@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado e prolongado de antimicrobianos químicos sintéticos tem originado microrganismos patogênicos resistentes, ressaltando a necessidade de estudos visando a descoberta de novas substâncias com capacidade antibiótica. Neste sentido, o uso de antimicrobianos de origem natural, como plantas medicinais e própolis, tem se demonstrado uma alternativa eficaz e econômica (Crisan *et al.*, 1995; Marccuci, 1995).

A própolis é uma substância resinosa natural coletada pelas abelhas a partir de partes de plantas, como flores e exudatos, e modificada na colméia através da adição de secreção salivares e cera (Marccuci, 1995). Utilizada pelas abelhas para fechar pequenas frestas, embalsamar insetos mortos e na proteção da colméia contra a invasão de microrganismos, a própolis apresenta várias propriedades bioativas dentre, elas destacam-se a ação antimicrobiana (Kujumgiev *et al.*, 1999), antioxidante (Bankova *et al.*, 2000), antineoplásica (Burdock, 1998 e Banskota *et al.*, 2001), antiparasitária, (De Castro, 2001; Higashi, 1995; Dantas *et al.*, 2006), imunomoduladora (Fischer *et al.*, 2007a; Fischer *et al.* 2007b), e antiviral (De Castro, 2001; Huleihel and Isanu, 2002; Fischer *et al.*, 2005).

Nos últimos anos, estudos "*in vitro*" têm comprovado que a atividade antimicrobiana da própolis está relacionada, principalmente, a seus compostos flavonóides, ácidos aromáticos e ésteres, presentes na resina natural (Bankova *et al.*, 1995; Grange *et al.*, 2005; Scazzocchio *et al.*, 2005). A galangina, pinocembrina e pinostrobina são tidos como os flavonóides mais efetivos contra bactérias. Os ácidos ferúlicos e cafeico também contribuem para a ação bactericida da própolis. O mecanismo de atividade antimicrobiana é complexo e provavelmente baseado na inibição da RNA-polimerase bacteriana (Bosio, 2000; Uzel *et al.*, 2005)

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação antibacteriana "*in vitro*" da própolis marrom em solução alcoólica a 24% sobre isolados bacterianos Gram positivos e

negativos, oriundos do Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste trabalho avaliou-se a sensibilidade de algumas espécies bacterianas frente a diferentes diluições da solução de própolis marrom (120 mg, 240 mg, 300 mg, 600 mg, 1200 mg, 2400 mg, 6 g, 12 g e 24 g). Utilizaram-se cepas bacterianas Gram positivas (*Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus equisimilis*, *Staphylococcus intermedius*, *Acinetobacter lowffii*, *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus*, *Streptococcus* sp) e Gram negativas (*Pseudomonas* sp, *E. coli*, *Escherichia* sp.), provenientes do Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas.

Para o teste utilizou-se o método de difusão em placa, também conhecido como teste de Kirby-Bauer. Em placas de Petri contendo um meio de cultura sólido foi semeada uniformemente, em toda a superfície, uma alíquota de cada cepa bacteriana, por placa. Após, utilizou-se nove concentrações conhecidas de solução de própolis (100 µl) em elos de inox de 6 mm x 6 mm, ao invés de utilizar os discos impregnados de antibióticos, como no teste original (Quintiliani, R *et al*, 1999). Posteriormente as placas foram incubadas a 37° C por 72 h. Durante a incubação, a própolis difundiu-se para o meio de cultura, formando uma zona de inibição do crescimento bacteriano. Esta zona foi medida e depois comparada com a medida de alguns antibióticos conhecidos e entre as diferentes diluições da própolis; os resultados são dados em medida dos halos em mm. A formação de um halo transparente sobre a superfície do meio, ao redor de um disco, indica uma região com ausência de crescimento bacteriano, revelando a ação inibitória do agente antimicrobiano sobre a bactéria.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

As diluições de 120mg a 600mg não foram suficientes para impedir o crescimento das bactérias testadas (Tabela 1).

Tabela 1: Atividade antibacteriana - diâmetro da zona de inibição (mm)

Bactérias	Diluições				
	1200mg	2400mg	6g	12g	24g
<i>Staphylococcus intermedius</i>	14	14	14	14	14
<i>Streptococcus equisimilis</i>	16	17	14	16	16
<i>Pseudomonas</i> SP	S/halo	S/halo	S/halo	S/halo	S/halo
<i>E. coli</i>	S/halo	S/halo	S/halo	S/halo	S/halo
<i>Staphylococcus intermedius</i>	S/halo	S/halo	S/halo	S/halo	S/halo
<i>Acinetobacter lowffii</i>	14	15	12	13	14
<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>Zooepidemicus</i>	13	15	14	14	12
<i>Escherichia</i> sp	S/halo	S/halo	S/halo	S/halo	S/halo
<i>Streptococcus</i> sp	17	17	15	16	17

Dentre as amostras de cepas bacterianas Gram positivas avaliadas, 90% (5/6) foram sensíveis à solução alcoólica de própolis, já nas Gram negativas a solução não exerceu efeito na inibição do crescimento (3/3). Segundo alguns pesquisadores, a própolis possui atividade antibacteriana maior contra bactérias Gram-positivas e limitada contra Gram-negativas (Lu *et al.*, 2005; Marcucci *et al.*, 2001; Bankova *et al.*, 1999). Estas bactérias possuem uma parede celular quimicamente mais complexa e um teor lipídico maior, o que pode explicar essa maior resistência (Vargas *et al.*, 2004).

4. CONCLUSÕES

Observou-se que concentrações menores que 1200 mg não causaram efeito sobre as bactérias testadas,

O extrato alcoólico a 24% de própolis apresenta atividade antibacteriana “*in vitro*”, inibindo o crescimento de 66,6% das amostras de *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus equisimilis*, *Acinetobacter lowffii*, *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus* e *Streptococcus* sp avaliadas. As bactérias Gram positivas foram mais sensíveis ao extrato testado do que as Gram negativas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; KUJUMGIEV, A.; MARCUCCI, M. C.; POPOV, S. Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. **Zeitschrift fur Naturforschung**, v. 50, n. 3/4, p. 167-172, 1995.
- BANKOVA, V. S.; CASTRO, S.L.; MARCUCCI, M.C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**. V. 31. p. 3-15. 2000.
- BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; ADNYANA, I.K. Hepatoprotective and anti-Helicobacter pylori activities of constituents from Brazilian propolis. **Phytomedicine**, v.8, p.16-23, 2001.
- BURDOCK, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food Chemical Toxicology**, v.36, p.347-363, 1998.
- BOSIO, K. et al. In vitro activity of propolis against Streptococcus pyogenes. **Lett Appl Microbiol**, v.31, n.3, p.174-177, 2000.
- CRISAN, I. et al. Natural propolis extract NIVCRISOL in the treatment of acute and chronic rhinopharyngitis in children. **Rom J Virol, Bucureste**, v.46, n.3-4, p.115-33, 1995.
- DANTAS AP, OLIVIERI BP, GOMES FHM, DE CASTRO SL 2006. Treatment of *Trypanosoma cruzi*-infected mice with propolis promotes changes in the immune response. **J Ethnopharmacol** 103: 187-193.
- DE CASTRO, S.L., 2001. Propolis: biological and pharmacological activities. Therapeutic uses of this bee-product. **Annu. Rev. Biomed. Sci.** 3, 49-83.
- FISCHER, G.; DUMMER, L.A.; VIDOR, T.; PAULINO, N.; PAULINO, A.S. Avaliação da ação antiviral de uma solução de própolis sobre o Herpesvírus Bovino e o Vírus da Diarréia Viral dos Bovinos. In: **ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO**, 2005, Pelotas, RS. *Anais*. Pelotas, 2005.
- FISCHER, G., CLEFF, M.B., DUMMER, L.A., PAULINO, N., PAULINO, A.S., VILELA, C.O., CAMPOS, F.S., STORCH, T., VARGAS, G.D., HÜBNER, S.O., VIDOR, T., 2007. Adjuvant effect of green propolis on humoral immune response of bovines immunized

with bovine herpesvirus type 5. **Veterinary Immunology and Immunopathology** 116, 79-84, 2007.

FISCHER, G., CONCEIÇÃO, F.R., LEITE, F.P.L., DUMMER, L.A., VARGAS, G.D., HÜBNER, S.O., DELLAGOSTIN, O.A., PAULINO, N., PAULINO, A.S., VIDOR, T., 2007.

GRANGE, J. M.; DAVEY, R. W. Antibacterial properties of propolis (bee glue). **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 83, p. 159-160, 1990. Scazzocchio et al., 2005

Immunomodulation produced by a green propolis extract on humoral and cellular responses of mice immunized with SuHV-1. **Vaccine** v.25, 1250-1256, 2007.

HULEIHEL, M. AND ISANU, V. Anti-Herpes Simplex Virus effect of an Aqueous Extract of propolis. **IMAJ** v. 4, 923-927, 2002.

KUJUMGIEV A, TSVETKOVA I, SERKEDJIEVA Y, BANKOVA V, CHRISTOV R, POPOV S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **J Ethnopharmacol**, 64:235–40, 1999

LU L, CHEN Y, CHOU C. Antibacterial activity of própolis against *Staphylococcus aureus*. **Int J Food Microbiol** 102: 213-220, 2005.

MARCUCCI MC, FERRERES F, GARCÍA-VIGUERA C, BANKOVA VS, DE CASTRO SL, DANTAS AP, VALENTE PHM, PAULINO N. Phenolic compounds from Brazilian própolis with pharmacological activities. **J Ethnopharmacol** 74: 105-112, 2001

MARCUCCI M.C., Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutical activity, **Apidologie** 26 83–99,1995.

QUINTILIANI, R.; SAHM, D.F. & COURVALIN, P. Mechanisms of resistance to antimicrobial agents. *In*: Murray, R.P. *et al. Manual of Clinical Microbiology*. 7. ed. American Society for Microbiology, Washington DC, p. 1505-25, 1999.

SANTOS, V. R., Própolis: antibiótico natural alternativo em Odontologia (Revisão de literatura) / Propolis: a natural alternative antibiotic in Dentistry (a review of the literature) **Revista do Conselho Regional de Odontologia de Minas Gerais**; 5(3):192-5, set.-dez. 1999.

UZEL A, SORKUN K, ÖNÇAG Ö, ÇOGULO D, GENÇAY Ö, SALIH B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiol Res** 160: 189-195, 2005

SCAZZOCCHIO F, D'AURIA FD, ALESSANDRINI D, PANTANELLA F. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. **Microbiol Res** 4: 327-333, 2005

VARGAS AC, LOGUERCIO AP, WITT NM, DA COSTA MM, SÁ E SILVA M, VIANA LR. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural** 34: 159-163, 2004.