



FACULDADE DE CIÊNCIAS GERENCIAIS DE MANHUAÇU

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DA PRÓPOLIS
FRENTE *Staphylococcus aureus***

Alane Torres de Araújo Lima

Manhuaçu

2018



ALANE TORRES DE ARAÚJO LIMA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DA
PRÓPOLIS FRENTE *Staphylococcus aureus***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no
Curso de Medicina da Faculdade de Ciências
Gerenciais de Manhuaçu, como requisito parcial à
obtenção do título de bacharel em Medicina.

Área de Concentração: Microbiologia
Orientador: Prof. Dr. Ríudo de Paiva Ferreira
Co-orientadora: Profª. Drª Daniele M. Knupp S. Sotte

Manhuaçu

2018



ALANE TORRES DE ARAÚJO LIMA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DA PRÓPOLIS FRENTE
*Staphylococcus aureus***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no
Curso de Medicina da Faculdade de Ciências
Gerenciais de Manhuaçu, como requisito parcial à
obtenção do título de bacharel em Medicina.

Área de Concentração: Microbiologia
Orientador: Prof. Dr. Ríudo de Paiva Ferreira
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a Daniele M. Knupp S. Sotte

BANCA EXAMINADORA:

APROVADO EM:

Prof. Dr. Ríudo de Paiva Ferreira
Faculdade de Ciências Gerenciais de Manhuaçu
Orientador

Prof^a. Dr^a. Daniele Maria Knupp Souza Sotte
Faculdade de Ciências Gerenciais de Manhuaçu
Co-Orientadora

Prof. MSc. Sérgio Alvim Leite
Faculdade de Ciências Gerenciais de Manhuaçu

Prof.^a Msc. Daniela Schimitz de Carvalho
Faculdade de Ciências Gerenciais de Manhuaçu

Manhuaçu

2018



AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida, por me permitir realizar todos os meus sonhos e pela coragem que me dá todos os dias.

Ao meu orientador, Ríudo de Paiva Ferreira, sem o qual este trabalho não seria possível. Obrigada por ter acreditado no meu potencial, por todo ensinamento, pelo apoio, pela paciência e por dividir comigo uma parte do seu grande conhecimento.

À professora Daniele Maria Knupp Souza Sotte pela orientação e apoio durante a realização deste trabalho.

À minha amada família pelo apoio e amor incondicionais, por viverem meus sonhos e por estarem sempre disponíveis para mim. Amo vocês.

Ao meu Filipe, amor da minha vida. Obrigada por dar tudo de si pra me fazer feliz, por ser meu anjo da guarda e por me amar tanto.

As minhas amigas Anna Carla, Larissa e Lívia por me ajudarem a enfrentar as dificuldades de estar longe casa, por cuidarem de mim e por toda amizade.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antibacteriana de diferentes extratos de própolis verde sobre *Staphylococcus aureus*. A avaliação da atividade antimicrobiana da própolis comercial foi realizada através de estriamento da cepa bacteriana em meio de cultura enriquecido com própolis. A quantificação da atividade antimicrobiana do extrato de própolis comercial, a avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de própolis de duas regiões diferentes e a avaliação da atividade antibacteriana do extrato de própolis em diferentes concentrações foram realizados através de testes de difusão em disco. As placas com própolis tiveram crescimento reduzido das colônias de *S aureus* em relação às placas com ágar-sangue puro e com álcool de cereais ($p<0,01$). A própolis ($1,81 \pm 1,12$; IC 95% 1,21-2,42 mm) apresentou atividade antimicrobiana inibindo o crescimento de *S. aureus*. Os halos gerados pelas amostras de própolis verde de procedência de Minas Gerais ($1,47 \pm 1,21$; IC 95% 0,79- 2,14 mm) e de procedência do Ceará ($1,00 \pm 0,53$; IC 95% 0,70- 1,29 mm) não foram estatisticamente diferentes. As concentrações de própolis a 5% ($0,89 \pm 0,41$; IC 95% 0,56- 1,21 mm), própolis a 11% ($1,11 \pm 0,86$; IC 95% 0,45- 1,77 mm), própolis a 30% ($1,0 \pm 0,85$; IC 95% 0,57- 1,42 mm), própolis a 50% ($1,61 \pm 0,54$; IC 95% 1,19- 2,03 mm) mostraram halos de inibição crescente, porém sem diferenças estatísticas significativas. Somente foram encontradas diferenças significativas nas atividades antimicrobianas das concentrações de própolis 5% em relação a própolis 50%. Os halos de inibição formados pela Vancomicina (controle positivo) foram maiores que os da própolis em todos os ensaios, e os controles com solução salina 0,9% e álcool 70% não apresentaram halos de inibição em nenhum dos ensaios realizados. Conclui-se que, o extrato de própolis, nas diferentes metodologias e concentrações, apresenta atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*.

Palavras-chave: Própolis; Atividade antimicrobiana; *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the antibacterial activity of different extracts of green propolis on *Staphylococcus aureus*. The evaluation of the antimicrobial activity of the commercial propolis was carried out by bacterial strain striation on culture medium enriched with propolis. The quantification of the antimicrobial activity of the commercial propolis extract, the evaluation of the antimicrobial activity of the propolis extract from two different regions and the evaluation of the antibacterial activity of the propolis extract in different concentrations were performed by disk diffusion tests. The plates with propolis had reduced growth of the colonies of *S. aureus* in relation to the plates with pure blood and alcohol of cereals ($p < 0,01$). Propolis (1.81 ± 1.12 , 95% CI 1.21-2.42 mm) presented antimicrobial activity inhibiting the growth of *S. aureus*. The zones around the green propolis samples from Minas Gerais (1.47 ± 1.21 , 95% CI 0.79 - 2.14 mm) and from Ceará (1.00 ± 0.53 , 95% CI 0, 70-1.29 mm) were not statistically different. The concentrations of propolis 5% (0.89 ± 0.41 , 95% CI 0.56-1.21 mm), propolis 11% (1.11 ± 0.86 , 95% CI 0.45 -1.77), propolis 30% (1.0 ± 0.85 , 95% CI 0.57-1.42 mm), propolis 50% (1.61 ± 0.54 , 95% CI 1.19-2, 03 mm) presented increasing inhibition halos, but without statistically significant differences. The significant differences were found only in the antimicrobial activity of 5% of propolis in relation to propolis 50%. The inhibition zones formed by vancomycin (positive control) were superior to those of propolis in all the trials, and controls with 0.9% saline solution and 70% alcohol showed no inhibition activity in any of the assays performed. It is concluded that the propolis extract, in the different methodologies and concentrations, showed antimicrobial activity against *S. aureus*.

Keywords: Propolis; Antimicrobial activity; *Staphylococcus aureus*.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Atividade antimicrobiana do <i>Staphylococcus aureus</i> frente à vancomicina (controle positivo), solução salina 0,9% (controle negativo) e a própolis em duplicata.....	15
FIGURA 2 – Tamanho dos halos de inibição ao crescimento de <i>Staphylococcus aureus</i> . Tratamento com Vancomicina (controle positivo) e própolis comercial. Letras diferentes mostram diferenças estatísticas	16
FIGURA 3 – Atividade antimicrobiana do <i>Staphylococcus aureus</i> frente à vancomicina (controle positivo), à solução salina 0,9% (controle negativo) e a própolis de duas regiões diferentes.....	18
FIGURA 4 – Atividade antibacteriana dos extratos de própolis de duas regiões. Letras diferentes mostram diferenças estatísticas.....	19
FIGURA 5 - Atividade antimicrobiana do <i>Staphylococcus aureus</i> frente à vancomicina (controle positivo), à solução salina 0,9% (controle negativo), ao álcool etílico 70% e a própolis em diferentes concentrações.....	20
FIGURA 6 – Atividade antibacteriana de diferentes concentrações de extrato de própolis (5%, 11%, 30%, 50%). Letras diferentes mostram diferenças estatísticas	21

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVOS.....	11
2.1. OBJETIVO GERAL.....	11
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS COMERCIAL (MG).....	12
3.2. QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS COMERCIAL.....	12
3.3. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS COMERCIAL DE DUAS REGIÕES DIFERENTES.....	12
3.4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.....	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
4.1. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS COMERCIAL (MG).....	14
4.2. QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS COMERCIAL.....	14
4.3. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS COMERCIAL DE DUAS REGIÕES DIFERENTES.....	16
4.4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.....	19
5. CONCLUSÃO.....	23
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

1 INTRODUÇÃO

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram positiva, comensal humana, que habita principalmente a pele e as mucosas (KUEHNERT *et al.*, 2006). Quando há quebra da barreira cutânea ou desequilíbrio do sistema imunológico do hospedeiro, torna-se um importante agente causador de infecções oportunistas, sendo responsável por uma grande variedade de infecções potencialmente letais, como infecções na pele e no subcutâneo, osteomielite, pneumonia, abscessos e endocardite (ADELMAN, 2005; ADOUI *et al.*, 2017). É também uma das espécies mais relacionadas a infecções nosocomiais associadas à nutrição enteral, à administração intravenosa de medicamentos, à diálise e ao uso de cateteres em geral (WERTHEIM *et al.*, 2004; RYBAK; LAPLANTE, 2005; PLATA *et al.*, 2009; FRANK *et al.*, 2010).

Além disso, esta espécie possui um notável potencial para o desenvolvimento de resistência aos antibióticos, com um número crescente de cepas MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*), resistentes aos betalactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, cabapenêmicos e monobactâmicos) e com resistência associada a outras classes de antibacterianos (PLATA *et al.*, 2009; HUANG *et al.*, 2011). Isso se deve substancialmente ao uso indiscriminado e prolongado de antimicrobianos sintéticos, que tem levado à seleção de micro-organismos patogênicos resistentes (VARGAS *et al.*, 2004). Estes, devido à sua alta plasticidade genômica, podem transmitir essa característica de resistência a outras bactérias através de plasmídeos ou outros elementos móveis (cassete cromossômico estafilocócica, transposons, bacteriófago e sequências de inserção). Às cepas MRSA são imputadas epidemias que causam grandes níveis de morbidade e mortalidade (ADOUI *et al.*, 2017).

De modo geral, a alta taxa de resistência bacteriana vem sendo fonte de grande preocupação para a comunidade médica e científica, constituindo um sério problema para a terapêutica e consequentemente uma grave ameaça à saúde mundial (COS *et al.*, 2006; GARZA-GONZÁLEZ *et al.*, 2010). A perspectiva de drogas antimicrobianas em um futuro próximo é incerta, o que gera uma pressão por novos produtos que sejam eficazes e seguros (VARGAS *et al.*, 2004; DJEUSSI *et al.*, 2013; YUSOP *et al.*, 2018).

Nesse aspecto, a utilização de fitofármacos pode ser uma alternativa aos antibióticos convencionais no combate a diversas patologias infecciosas (MARCUCCI *et al.*, 2001). Dentre as possíveis alternativas está a própolis, cujo uso terapêutico está presente na medicina popular desde a antiguidade, principalmente para tratar feridas e infecções cutâneas (STEPANOVIĆ *et al.*, 2003; BARROSO *et al.*, 2012; SUNG *et al.*, 2017). Trata-se de um produto resinoso de origem vegetal produzido a partir de flores, pólen, galhos, brotos, exsudados de árvores e secreções salivares das abelhas da espécie *Apis mellifera* (NETO *et al.*, 2002; LONGHINI *et al.*, 2007), sendo responsável por manter baixos níveis de micro-organismos no interior das colmeias (SALATINO *et al.*, 2011; HARFOUCH *et al.*, 2016). É classificado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como um opoterápico, medicamento que possui em sua composição produtos animais, no caso, secreções salivares das abelhas (BRASIL, 2005; BRASIL, 2007).

A composição química da própolis é complexa, em geral, contém 50-60% de resinas e bálsamos, 30-40% de ceras, 10% de pólen (MATSUDA *et al.*, 2006; LUSTOSA *et al.*, 2008), abrangendo mais de 300 substâncias, das quais destacam-se ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos, hidrocarbonetos, aminoácidos, minerais (alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês) e vitaminas (B1, B2, B6, C e E) (BANKOVA *et al.*, 2000; MARCUCCI *et al.*, 2001; DOS SANTOS *et al.*, 2003; SALATINO *et al.*, 2005; FUNARI; FERRO, 2006). Esta composição sofre influências da região onde foi coletada, da sazonalidade e da variabilidade genética das abelhas-rainhas. Em decorrência destas variações, ocorrem diferenças nas suas atividades farmacológicas (MENEZES, 2005; NUNES *et al.*, 2009; LINS *et al.*, 2010). Aos seus extratos etanólicos, hidroalcoólicos e aquosos são atribuídos efeitos terapêuticos, anti-inflamatórios, antiparasitários, antivirais, antifúngicos, antibacterianos, antioxidantes, imunoestimulantes, hepatoprotetores, cicatrizantes, anestésicos e antineoplásicos (MARCUCCI *et al.*, 2001; VARGAS *et al.*, 2004; FUNARI; FERRO, 2006; MIGUEL *et al.*, 2010; TEIXEIRA *et al.*, 2010; MIGUEL *et al.*, 2011).

Os efeitos antibacterianos da própolis têm sido principalmente relacionados aos compostos fenólicos, sobretudo aos flavonoides e ácidos fenólicos (MIGUEL *et al.*, 2010; TEIXEIRA *et al.*, 2010; MIGUEL *et al.*, 2011; SFORCIN; BANKOVA, 2011; MIGUEL *et al.*, 2014), sendo a atividade antibacteriana maior, quanto maior for a concentração destes compostos no extrato (LONGHINI *et al.*, 2007; FRANCA *et al.*,

2014). Estudos *in vitro* utilizando diferentes metodologias, mostram eficiente atividade bacteriostática e bactericida (MIGUEL *et al.*, 2010; TEIXEIRA *et al.*, 2010; MIGUEL *et al.*, 2011; SFORCIN; BANKOVA, 2011; MIGUEL *et al.*, 2014; SINHORINI *et al.*, 2015), ocasionadas principalmente por disfunções metabólicas e estruturais na célula bacteriana (ZEIGHAMPOUR *et al.*, 2014; ENDO *et al.*, 2017).

A coloração da própolis pode variar entre marrom escuro, nuances esverdeada e avermelhadas isso se deve às diferenças regionais, à flora, à fauna e ao clima (PINTO *et al.*, 2001; CABRAL *et al.*, 2009; NUNES *et al.*, 2009). Park *et al.* (2000) classificaram as própolis brasileiras em 12 grupos distintos, sendo cinco grupos encontrados na região sul (grupos 1, 2, 3, 4, 5), seis grupos na região nordeste (grupos 6, 7, 8, 9, 10, 11) e um grupo na região sudeste (grupo 12 – própolis verde).

A própolis verde, 12º tipo classificado, é a mais conhecida e estudada. É produzida a partir da *Baccharis dracunculifolia*, planta denominada popularmente como alecrim do campo (PARK *et al.*, 2002; KUMAZAWA *et al.*, 2003), encontrada em diversas regiões do Brasil (NASCIMENTO *et al.*, 2008). O principal constituinte químico da própolis verde é o Artepillin C, substância fenólica de baixo peso molecular presente apenas na própolis brasileira. À esta substância, são atribuídas ações antimicrobianas, anti-inflamatórias, antitumorais e antioxidantes (NOBUSH *et al.*, 2012, SZLISZKA, *et al.*, 2013; SALGUEIRO; CASTRO, 2016). Assim, a presença de Artepillin C confere à própolis verde maiores valores terapêuticos e comerciais em relação aos outros tipos de própolis, tanto no mercado nacional quanto no internacional (SALGUEIRO *et al.*, 2016).

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antibacteriana de dois diferentes extratos de própolis verde frente *Staphylococcus aureus*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- ✓ Avaliar a atividade antibacteriana da própolis frente uma amostra de *Staphylococcus aureus* de referência (ATCC 25923)

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar se a própolis apresenta atividade antibacteriana;
- ✓ Quantificar a ação antibacteriana da própolis comercial;
- ✓ Comparar a atividade antibacteriana da própolis de duas diferentes regiões;
- ✓ Verificar a atividade antibacteriana da própolis em diferentes concentrações.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Avaliação da atividade antibacteriana do extrato de própolis comercial (MG)

Amostras de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 cedidas da bacterioteca do Hospital Regional João Penido (HRJP) de Juiz de Fora, foram cultivadas em meio ágar-sangue a fim de obter-se colônias puras e isoladas para o experimento. Para avaliar a atividade antibacteriana da própolis, foi confeccionado o meio ágar-sangue acrescido de extrato de própolis comercial (N=14), e neste meio foi estriada a linhagem de *S. aureus* e incubada à 37 °C por 24 h. Adicionalmente, foram utilizados controles feitos com álcool de cereais acrescido ao ágar-sangue (N=8) e ágar-sangue puro (N=9).

3.2 Quantificação da atividade antibacteriana da própolis comercial

Uma suspensão de *S. aureus* em solução salina estéril (0,9%) na escala 0,5 de Mc Farland foi estriada em meio de cultura ágar-sangue com swab estéril, conforme o padronizado pelo CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) para antibiograma. Após aguardar 5 min para que a suspensão aderisse ao meio, discos de papel de filtro estéreis embebidos com extrato de própolis comercial (em duplicata), 1 com salina estéril 0,9% (controle negativo) e 1 disco de vancomicina próprio para antibiograma (controle positivo) foram dispostos sobre o meio. Após aguardar 5 min para que o material do disco começasse a se difundir, as placas foram vertidas e incubadas à 37 °C por 24h. Passado esse período, a atividade antibacteriana da própolis foi mensurada a partir da análise dos tamanhos dos halos de inibição.

3.3 Atividade antibacteriana da própolis comercial de duas regiões diferentes

Uma suspensão de *S. aureus* em solução salina estéril (0,9%) na escala 0,5 de Mc Farland foi estriada em meio de cultura ágar-sangue com swab estéril, conforme o padronizado pelo CLSI para antibiograma. Após aguardar 5 min para que a suspensão aderisse ao meio, discos de papel de filtro estéreis embebidos com extrato de própolis comercial (MG), com extrato de própolis comercial (CE), com salina estéril 0,9% (controle negativo) e disco de vancomicina próprio para

antibiograma (controle positivo) foram dispostos sobre o meio. Após aguardar 5 min para que o material do disco começasse a se difundir, as placas foram vertidas e incubadas à 37 °C por 24h. Passado esse período, a atividade antibacteriana da própolis foi mensurada a partir da formação de halos de inibição.

3.4 Atividade antibacteriana da própolis em diferentes concentrações

A fim de obter-se extrato de própolis nas concentrações de 5%, 11%, 30% e 50%, utilizou-se respectivamente 5g, 11g, 30g e 50g de própolis bruta triturada para cada 100 mL de solução hidro-alcoólica (70%), por período de 24 h, com posterior filtragem em papel-filtro, obtendo-se o extrato de própolis hidro-alcoólico.

Uma suspensão de *S. aureus* em solução salina estéril (0,9%) na escala 0,5 de Mc Farland foi estriada em meio de cultura ágar-sangue com *swab* estéril, conforme o padronizado pelo CLSI para antibiograma. Após aguardar 5 min para que a suspensão aderisse ao meio, disco de vancomicina próprio para antibiograma (controle positivo) e discos de papel de filtro estéreis embebidos com álcool etílico 70% (controle negativo), solução salina (controle negativo II) e com extrato de própolis a 5%, 11%, 30% e 50% foram dispostos sobre o meio. Após aguardar 5 min para que o material do disco começasse a se difundir, as placas foram vertidas e incubadas à 37 °C por 24h. Passado esse período, a atividade antibacteriana da própolis foi mensurada a partir da formação de halos de inibição.

3.5 Análise dos Dados

Os halos de inibição foram medidos com o uso do software Imagem Pro plus.

Para a avaliação da atividade antibacteriana do extrato de própolis comercial (MG) foi utilizado o teste exato de Fisher.

Para a quantificação da atividade antimicrobiana da própolis comercial, para a comparação da atividade antimicrobiana da própolis de diferentes regiões e para a verificação da atividade antimicrobiana da própolis em diferentes concentrações foram feitos intervalos de confiança de 95%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da atividade antibacteriana do extrato de própolis comercial (MG)

As placas com própolis tiveram crescimento reduzido das colônias de *S. aureus* em relação às placas com ágar-sangue puro e com álcool de cereais ($p<0,01$). O crescimento bacteriano se deu de maneira semelhante nas placas contendo ágar-sangue puro e ágar sangue acrescido de álcool de cereais, o que permite atribuir a atividade antimicrobiana à própolis e não ao álcool de cereais utilizado na confecção do seu extrato (Tabela 1). Este resultado está em concordância com o observado por Sinhorini *et al.* (2015), onde a concentração do álcool de cereais, utilizado na preparação de extrato de própolis, não apresentou atividade inibitória contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* e *Escherichia coli*.

Ao testarem as atividades antibacterianas das própolis de diferentes regiões de Cuba Monzote *et al.* (2012), do Quênia Muli e Maingi (2007) e da Síria Harfouch *et al.* (2016), respectivamente, e encontraram uma maior sensibilidade por parte da espécie *S. aureus* em comparação com outras espécies bacterianas tanto Gram positivas quanto Gram negativas. Tais resultados, se complementam aos obtidos neste e em diversos outros estudos (CABRAL *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2010; PROBST *et al.*, 2011; MONZOTE *et al.*, 2012), sugerindo que a própolis pode ser uma alternativa viável para o tratamento de infecções cuja gênese seja o *S. aureus*.

4.2 Quantificação da atividade antimicrobiana da própolis comercial

Na figura 1 observa-se que não houve inibição nos discos da solução salina (controle negativo), porém pode ser visualizado halos de inibição nas amostras de própolis e Vancomicina (controle positivo). A própolis ($1,81 \pm 1,12$; IC 95% 1,21- 2,42 mm) apresentou atividade antimicrobiana inibindo o crescimento de *S. aureus*, entretanto o halo de inibição foi inferior àquele apresentado pela Vancomicina ($4,30 \pm 1,24$; IC 95% 3,25- 5,34 mm) (Figura 2). Este resultado já era esperado, uma vez

que a vancomicina é um potente antibiótico, sendo uma das últimas alternativas terapêuticas para infecções por *Staphylococcus aureus* resistentes à Meticilina – MRSA (RAZERA *et al.*, 2009; GELATTI *et al.*, 2009).

Halos de inibição gerados nos tratamentos com própolis, geralmente são menores que àqueles produzidos pelos antibióticos comerciais (PORTILHO, 2013; APAYDIN *et al.*, 2018). Entretanto, para os antibióticos eritromicina, gentamicina e estreptomicina os halos formados foram semelhantes àqueles produzidos pela própolis (PORTILHO, 2013; APAYDIN *et al.*, 2018).

FIGURA 1 – Atividade antimicrobiana do *Staphylococcus aureus* frente à vancomicina (controle positivo), solução salina 0,9% (controle negativo) e a própolis em duplicata

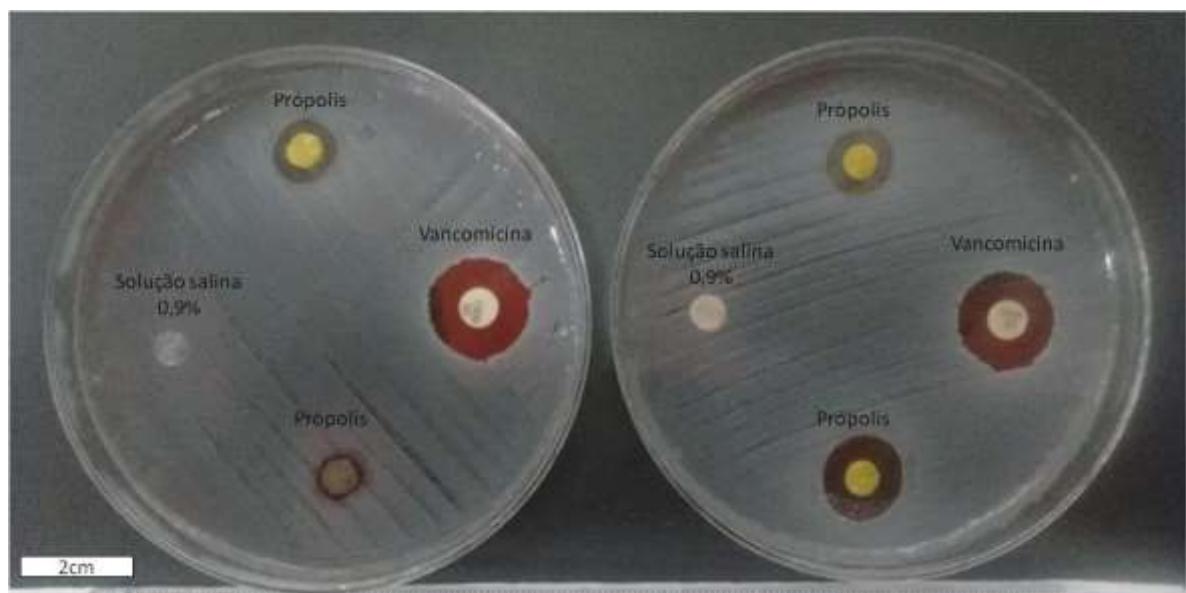
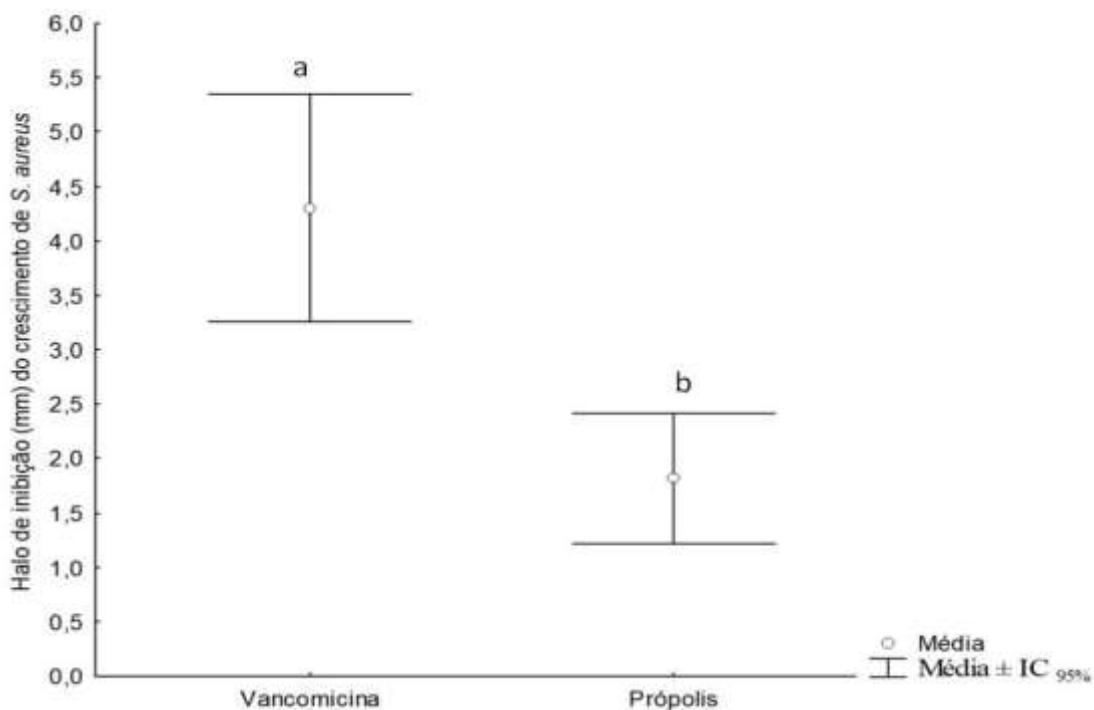


FIGURA 2 – Tamanho dos halos de inibição ao crescimento de *Staphylococcus aureus*. Tratamento com Vancomicina (controle positivo) e própolis comercial. Letras diferentes mostram diferenças estatísticas



Assim como observado neste experimento, diversos estudos relatam a atividade antimicrobiana da própolis frente a cepas de *S. aureus* (CABRAL *et al.*, 2009; PROBST *et al.*, 2011; MONZOTE *et al.*, 2012; BARBOSA, 2014). Estes resultados têm valor significativo, sobretudo devido à importância clínica do *S. aureus* na gênese de diversas infecções e à resistência bacteriana encontrada em diversas cepas da espécie (MORELL; BALKIN, 2010; CATÃO *et al.*, 2012) para as quais as opções terapêuticas vigentes tornam-se criticamente escassas (ARANTES *et al.*, 2013).

4.3 Atividade antimicrobiana da própolis comercial de duas regiões diferentes

A Vancomicina apresentou o maior halo de inibição ($4,46 \pm 0,63$; IC 95% 4,11-4,82 mm) em comparação com as amostras de própolis (Figura 3). Não verificada diferenças regionais na atividade antimicrobiana da própolis (Figura 4). Os halos gerados pelas amostras de própolis verde de procedência de Minas Gerais (1,47

$\pm 1,21$; IC 95% 0,79- 2,14 mm) e de procedência do Ceará ($1,00 \pm 0,53$; IC 95% 0,70- 1,29 mm) não foram estatisticamente diferentes.

Muitos dos constituintes químicos encontrados na própolis são também encontrados em sua fonte botânica (COSTA, 2009). As própolis utilizadas neste ensaio, embora oriundas de regiões diferentes, tinham sua origem na mesma espécie vegetal, *B. dracunculifolia*. Isto pode ser a razão pela qual não foram encontradas diferenças significativas na atividade antibacteriana das própolis do Ceará e de Minas Gerais, embora seja conhecido que as diferenças regionais possam condicionar diferenças nas atividades das própolis (PARK *et al.*, 2000). Quando forma analisadas as atividades antibacterianas dos 12 grupos de própolis brasileiras contra *S. aureus*, foi observando que os grupos do Nordeste apresentaram atividades distintas variando desde a ausência de formação de halos de inibição até halos com 6 mm. Já o grupo do sudeste, apresentou halo de inibição de 3 mm (PARK *et al.*, 2000).

FIGURA 3 – Atividade antimicrobiana do *Staphylococcus aureus* frente à vancomicina (controle positivo), à solução salina 0,9% (controle negativo) e própolis de duas regiões diferentes

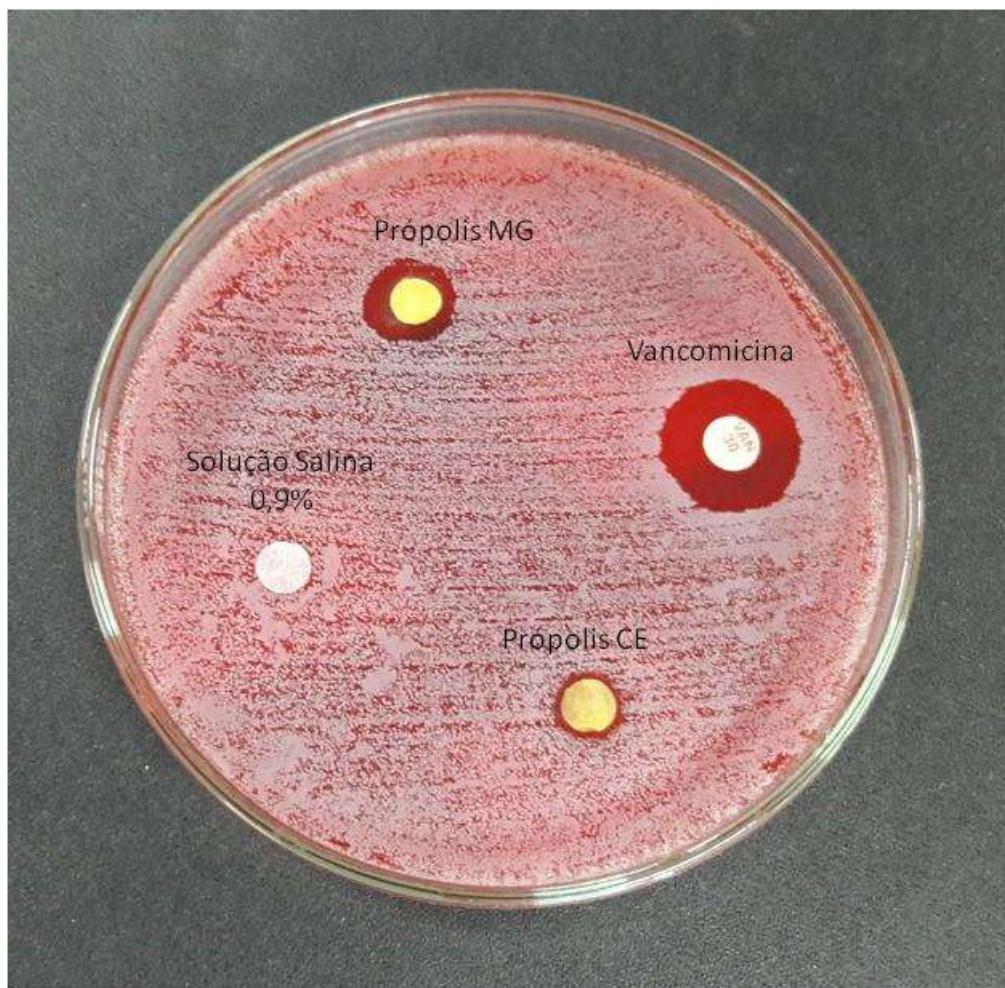
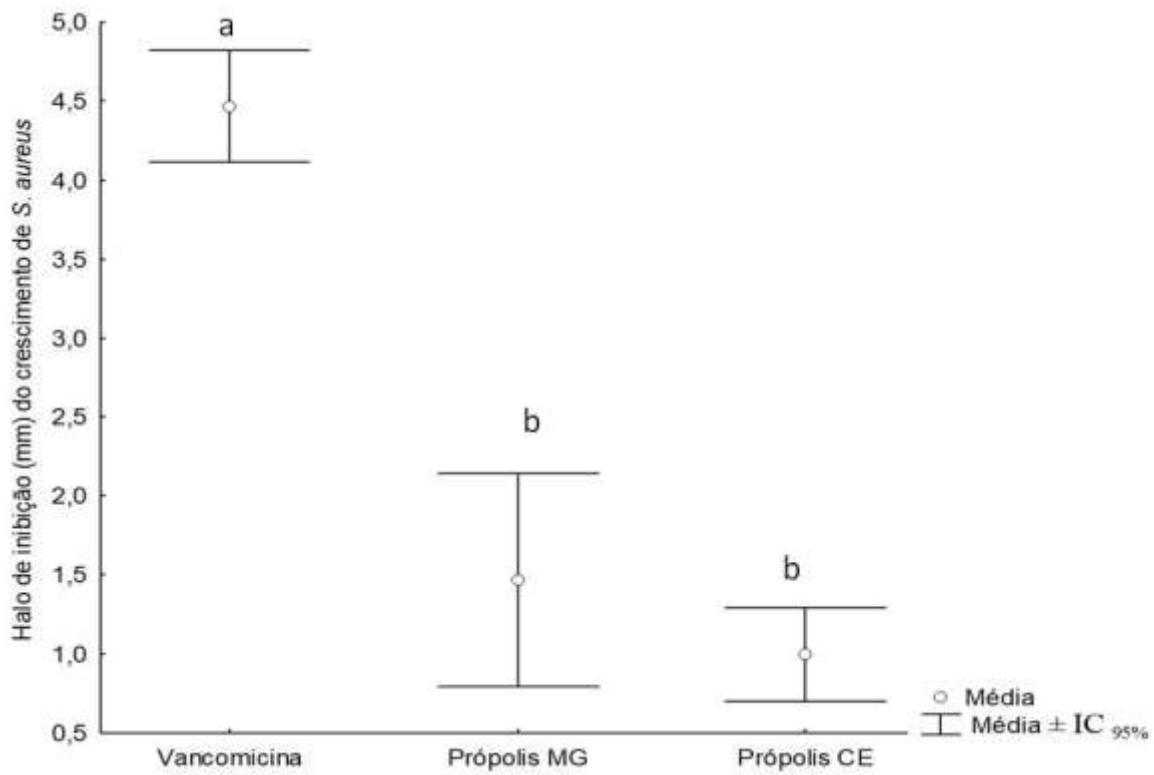


FIGURA 4 – Atividade antibacteriana dos extratos de própolis de duas regiões.

Letras diferentes mostram diferenças estatísticas



4.4 Atividade antimicrobiana da própolis em diferentes concentrações

Quando foram avaliadas as concentrações diferentes da própolis verde para inibição do crescimento de *S. aureus*, a Vancomicina apresentou o melhor halo de inibição ($5,22 \pm 0,66$; IC 95% 4,70- 5,73 mm). As concentrações de própolis a 5% ($0,89 \pm 0,41$; IC 95% 0,56- 1,21 mm), própolis a 11% ($1,11 \pm 0,86$; IC 95% 0,45- 1,77 mm), própolis a 30% ($1,0 \pm 0,85$; IC 95% 0,57- 1,42 mm), própolis a 50% ($1,61 \pm 0,54$; IC 95% 1,19- 2,03 mm) mostraram halos de inibição crescente, porém sem diferenças estatísticas significativas (Figura 6). Somente foram encontradas diferenças significativas nas atividades antimicrobianas das concentrações de própolis 5% em relação a própolis 50%. Os controles com solução salina 0,9% e álcool 70% não apresentaram halos de inibição em nenhum dos ensaios realizados. Esses achados demonstram que a atividade antibacteriana observada se deve à própolis e não ao álcool utilizado como solvente na preparação do seu extrato. Este

dados está em concordância ao publicado por Endler *et al.* (2003) onde a concentração do álcool etílico, utilizado na preparação de extrato de própolis, não apresentou atividade inibitória contra *Pseudomonas* spp e *Staphylococcus aureus*.

FIGURA 5 - Atividade antimicrobiana do *Staphylococcus aureus* frente à vancomicina (controle positivo), à solução salina 0,9% (controle negativo), ao álcool etílico 70% e a própolis em diferentes concentrações

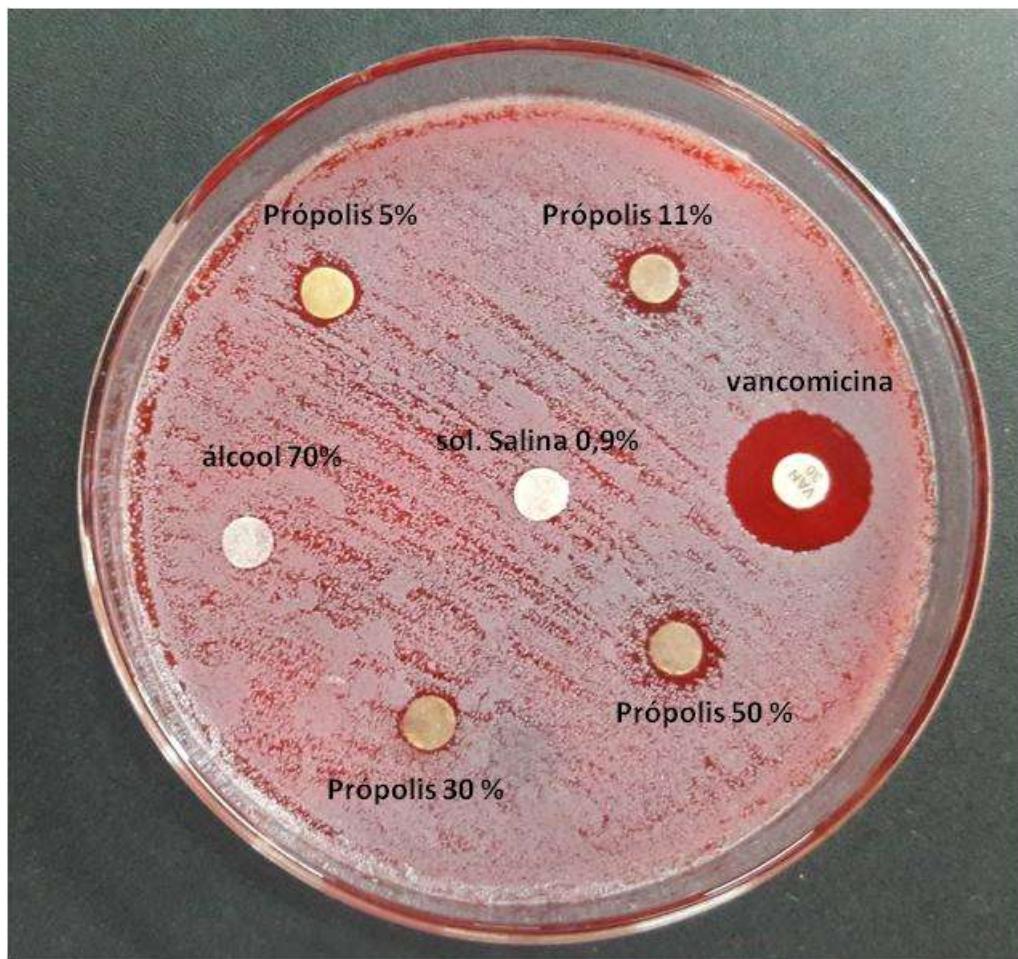
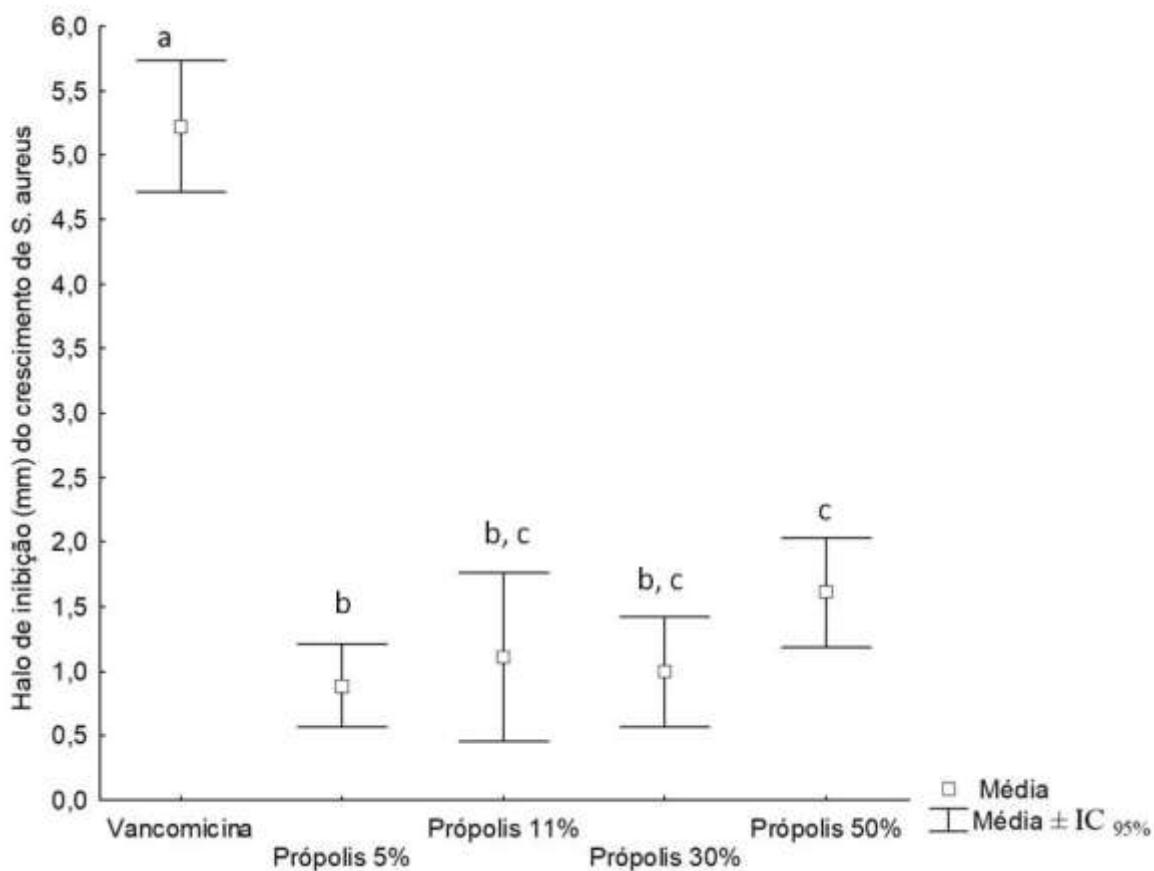


FIGURA 6 – Atividade antibacteriana de diferentes concentrações de extrato de própolis (5%, 11%, 30%, 50%). Letras diferentes mostram diferenças estatísticas



O tamanho do halo de inibição não esteve relacionado à concentração do extrato, apesar de o maior halo encontrado ter sido produzido pelo disco contendo a maior concentração testada (50%). Relação direta entre o tamanho do halo de inibição e a concentração da própolis foi observada em extrato de uma própolis brasileira, do Mato Grosso do Sul (BARBOSA *et al.* 2014).

Diante dos resultados, observa-se que o extrato de própolis apresenta atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, que extratos de própolis provenientes de regiões brasileiras diferentes apresentaram-se estatisticamente iguais quanto à atividade antimicrobiana, e que a atividade antimicrobiana não esteve relacionada à concentração de própolis.

Por fim, as variações na composição química da própolis de acordo com a região em que é coletada e com variabilidade genética das abelhas (MENEZES, 2005) a tornam potencialmente interessante no contexto da resistência bacteriana, uma vez que, como já mencionado, essas diferenças estruturais lhe conferem atividades antibacterianas distintas, dificultando o surgimento de mecanismos de resistência por parte das bactérias (WOJTYCZKA *et al.*, 2013).

5 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste ensaio mostram-se relevantes, uma vez que se trata de uma bactéria frequente em infecções graves e que tem apresentado crescente resistência aos antibióticos sintéticos convencionais. Assim, elucida-se o papel da própolis como uma possível alternativa terapêutica para infecções por esta espécie bacteriana, necessitando entretanto, que mais trabalhos acerca desta temática sejam realizados para que esta possa ser utilizada como opção terapêutica segura e eficaz.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELMAN J. Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/antioxidante [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, Mestrado em Ciência Farmacêutica; 2005.

ADOUI, M.; BOUKELOUA, A.; MESBAH, M. Propolis extract effect against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* MRSA. **JOURNAL OF NEW TECHNOLOGY AND MATERIALS**, v. 7, n. 2, p. 84-92, 2017.

APAYDIN, H.; GÜMÜŞ, T. Inhibitory Effect of Propolis (Bee Gum) Against *Staphylococcus aureus* Bacteria Isolated From Instant Soups 1. **Journal of Tekirdag Agricultural Faculty**, v. 15, n. 1, p. 67-75, 2018.

ARANTES, T.; PAIXÃO, G.O.D.; SILVA, M.D.; CASTRO, C.S.A. Avaliação da colonização e perfil de resistência de *Staphylococcus aureus* em amostras de secreção nasal de profissionais de enfermagem. **Rev Bras Farm**. V.94, n.1, p.30-34, 2013.

BANKOVA, V.; DE CASTRO, S.; MARCUCCI, M. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**. v. 31, p. 3-15, 2000.

BARBOSA, M. S. et al. Uso da propolis no controle in vitro da bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* causadora de mastite em vacas leiteiras. **Boletim de Indústria Animal**, v. 71, n. 2, p. 122-126, 2014.

BARROSO, P. R et al. Effect of propolis on mast cells in wound healing. **Inflammopharmacology**, v. 20, n. 5, p. 289-294, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. GMEFH/GGMED. Prêmio Inovação na Gestão Pública Federal, de 28 de setembro de 2009. Medicamentos fitoterápicos: Parte I – Registro e políticas, Brasília, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. In: CATEF: Câmara Técnica de Medicamentos Fitoterápicos. Nota Técnica sobre o Registro de Produtos Contendo Própolis. Brasília, 2005.

CABRAL, I.S.R.; OLDONI, T.L.C.; PRADO, A.; BEZERRA, R.M.N.; ALENCAR, S.M. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v.32, p.1523-1527, 2009.

CATÃO, R. M. R. et al. Avaliação da colonização nasal por *Staphylococcus aureus* em funcionários de um serviço de saúde em Campina Grande-PB. **BioFar**, v. 7, n. 1, p. 10-17, 2012.

COS, P. et al. Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. **Journal of ethnopharmacology**, v. 106, n. 3, p. 290-302, 2006.

COSTA, AGLC. **Estudo químico de Baccharis dracunculifolia DC. e sua correlação com a própolis de uma microregião de Campos Gerais do Paraná.** 2009. 74 f. 2009. Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2009.

DJEUSSI, D. E., et al . Antibacterial activities of selected edible plants extracts against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. **Altern. Med.** V. 13, p. 164, 2013.

DOS SANTOS, C. R.; ARCENIO, F.; CARVALHO, E. S.; LÚCIO, E. M. R. A.; ARAÚJO, G. L.; TEIXEIRA, L. A.; SHARAPIN, N.; ROCHA, L. Otimização do processo de extração de própolis através da verificação da atividade antimicrobiana. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** V. 13, p. 71-74, 2003.

ENDLER, A. L., et al. Teste de eficácia da própolis no combate a bactérias patogênicas das vias respiratórias (test of the efficiency of propolis in combating pathogenic bacteria of the respiratory system). **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 9, n. 2, 2003.

ENDO, M. M. et al. Antibacterial action of red and green propolis extract in infected root canal. **Revista Odonto Ciência**, v. 32, n. 2, p. 99-103, 2017.

FRANCA, J. R.; DE LUCA, M. P.; RIBEIRO, T. G.; CASTILHO, R. O.; MOREIRA, A. N.; SANTOS, V. R.; FARACO, A. A. G. Propolis - based chitosan varnish: drug delivery, controlled release and antimicrobial activity against oral pathogen bacteria. **83 BMC Complementary and Alternative Medicine**, p. 11, 2014.

FRANK, D. N. et al. The human nasal microbiota and *Staphylococcus aureus* carriage. **PLoS one**, v. 5, n. 5, p. e10598, 2010.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** V. 26, n.1, p. 171-178, 2006.

GARZA –GONZALEZ, E. et al . Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC *mec*) in methicillin -resistant coagulase -negative staphylococci. A review and the experience in a tertiary -care setting. **Epidemiol Infect.** V. 138, n. 5, p. 645 -54, 2010.

GELATTI, Luciane Cristina et al . *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 5, Oct. 2009.

HARFOUCH, R. M.; MOHAMMAD, R. ; SULIMAN, H. Antibacterial activity of syrian propolis extract against several strains of bacteria in vitro. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences.* V.6, p. 42-46, 2016.

HUANG, C. et al. Eradication of drug resistant *Staphylococcus aureus* by liposomal oleic acids. **Biomaterials**, v. 32, n. 1, p. 214-221, 2011.

KUEHNERT, M. J. et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001–2002. **Journal of Infectious Diseases**, v. 193, n. 2, p. 172-179, 2006.

KUMAZAWA, S.; YONEDA, M.; SHIBATA, I.; KANAEDA, J.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Direct evidence for the plant origin of Brazilian propolis by the observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 51, n. 6, p. 740-742, 2003.

LINS, A. S et al. Implantação das análises físicoquímicas da própolis no laboratório da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola. **Rev. Eletrônica Multidisciplinar Pindorama, Salvador**, n. 1, p. 1-20, 2010.

LONGHINI, R.; RAKSA, S. M.; OLIVEIRA, A. C. P.; SVIDZINSKI, T. I. E.; FRANCO, S. L. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 388-395, 2007.

LUSTOSA, Sarah R. et al. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 447, 2008.

MARCUCCI, M.C.; FERRERES, F.; GARCÍAVIGUERA, C.; BANKOVA, V.S.; DE CASTRO, S.L.; DANTAS, A.P.; VALENTE, P.H.M.; PAULINO, N. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal Ethnopharmacology**, v. 74, p. 105-112, 2001.

MATSUDA, A. H. **Caracterização e Controle de Qualidade de própolis proveniente de diversas regiões do Brasil**. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MENEZES ,H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivo do instituto biológico**. São Paulo, v.72, n.3, p.405-411, 2005.

MIGUEL, M., et al. Phenols and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis from Algarve, south Portugal. **Food Sci. Technol.** V. 34, p. 16-23, 2014.

MIGUEL, M.G., et al. Antioxidant activity of propolis from Algarve. **Adv. Environ. Biol.** V. 5, p. 345-350, 2011.

MIGUEL, M.G., et al. Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal. **Food Chem. Toxicol.** V.48, p.3418- 3423, 2010.

MONZOTE, L.; et al. In vitro antimicrobial assessment of Cuban propolis extracts. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. V.107, p.978-984, 2012.

MORELL, E.A.; BALKIN, D.M. Methicillin-resistant *Staphylo-coccus aureus*: a pervasive pathogen highlights the needfor new antimicrobial development. **Yale J Biomol Med.**V. 83, n. 4, p.223-233, 2010.

MULI, E.M.; MAINGI, J.M. Antibacterial activity of *Apis mellifera* L. propolis collected in three regions of Kenya. **Journal Venomous Animals Toxins including Tropical Diseases**. V.13, p.655-663, 2007.

NASCIMENTO, E. A et al. Um marcador químico de fácil detecção para a própolis de Alecrim-do-Campo (*Baccharisdracunculifolia*). **Revista Brasileira de farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 379-386, 2008.

NETO, F. R. de A.; SEIXAS, F. R. M. S.; PEREIRA, Alberto S. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Revista Química Nova**. v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

NOBUSHI, Y.; OIKAWA, N.; OKAZAKI, Y.; TSUTSUMI, S.; PARK, Y.K.; KUROKAWA, M.; YASUKAWA, K. Determination of Artepillin-C in Brazilian Propolis by HPLC with Photodiode Array Detector . **Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences**. 2, 127-131, 2012.

NUNES, Lívio César Cunha et al. Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em Artermia salina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2B, p. 524-529, 2009.

OLIVEIRA, A.P.; FRANÇA, H.S.; KUSTER, R.M.; TEIXEIRA, L.A.; ROCHA, L.M. Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis essential oil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**. V.16, p.121-130, 2010.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical Origin and Chemical Composition of Brazilian Propolis. **J. Agric. Food Chem.** V. 50, p. 2502-2506, 2002.

PARK, Yong Kun; IKEGAKI, Masaharu; ALENCAR, SM de. Classificação das própolis brasileiras a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. **Mensagem doce**, v. 58, n. 9, p. 3-7, 2000.

PINTO, M.S.; FARIA, J.E.; MESSAGE, D.; CASSINI, S. T.A.; PEREIRA, C.S.; GIOSO, M.M. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, p.278- 283, 2001.

PLATA, K. et al. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. **Acta Biochimica Polonica**, v. 56, n. 4, p. 597, 2009.

PORILHO, Débora Rosa et al. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DA PRÓPOLIS PRODUZIDA NO ESTADO DO TOCANTINS. **Revta Cient. ITPAC**, v. 6, p. 1-8, 2013.

PROBST, I.S.; SFORCIN, J.M.; RALL, V.L.M.; FERNANDES, A.A.H.; FERNANDES JR., A. Antimicrobial activity of propolis and essential oils and synergism between these natural product. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.17, p. 159-167, 2011.

RAZERA, F et al . CA-MRSA em furunculose: relato de caso do sul do Brasil. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 5, Oct. 2009.

RYBAK, M. J.; LAPLANTE, K. L. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a review. **Pharmacotherapy: The Journal of Human**

Pharmacology and Drug Therapy, v. 25, n. 1, p. 74-85, 2005.

SALATINO, A. et al. Propolis research and the chemistry of plant products. **Natural product reports**, v. 28, n. 5, p. 925-936, 2011.

SALATINO, A., et al. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, n. 1, p. 33-38, 2005.

SALGUEIRO, F. B et al. Caracterização da própolis verde brasileira: substâncias fenólicas, atividade biológica e análise quimiométrica. 2016.

SALGUEIRO, F.B.; CASTRO, R.N. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. Química Nova, 1-8, 2016.

SFORCIN, J.M.; BANKOVA, V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? **J. Ethnopharmacol.**, v. 133, p. 253-260, 2011.

SINHORINI, W. A et al. Atividade antibacteriana in vitro da própolis testadas em cepas bacterianas padrão. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 1, n. 2, p. 107-111, 2015.

STEPANOVIĆ, S., et al. In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. **Microbiological Research**, v. 158, n. 4, p. 353-357, 2003.

SUNG, S., et al. External use of propolis for oral, skin, and genital diseases: a systematic review and meta-analysis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, 2017.

SZLISZKA, E.; ZENON, P.A.M.; CZUBA, KRÓL, W. Inhibition of Inflammatory Response by Artepillin C in Activated RAW264.7 Macrophages. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 735176, 11, 2013.

TEIXEIRA, E.W., et al. Seasonal variation, chemical composition and antioxidant activity of Brazilian propolis samples. **Evid-Based Complement. Altern. Med.** V. 7, p. 307-315, 2010.

VARGAS, A. C.; LOGUERCIO, A. P.; WITT, N. M; COSTA, M. M; SILVA, M. S; VIANA, L. R. . Atividade antimicrobiana "invitro" de extrato alcóolico de própolis. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 159-163, 2004.

WERTHEIM, H.F.L et al. Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers. **The Lancet**, v. 364, n. 9435, p. 703-705, 2004.

WOJTYCZKA, R. D. et al. Susceptibility of *Staphylococcus aureus* clinical isolates to propolis extract alone or in combination with antimicrobial drugs. **Molecules**, v. 18, n. 8, p. 9623-9640, 2013.

YUSOP, S. A.T.W et al. Cytotoxicity and Antimicrobial Activity of Propolis from *Trigona itama* Stingless Bees against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 1, n. 1, p. 13-20, 2018.

ZEIGHAMPOUR, F et al. Antibacterial activity of propolis ethanol extract against antibiotic resistance bacteria isolated from burn wound infections. **Zahedan Journal of Research in Medical Sciences**, v. 16, n. 3, p. 25-30, 2014.