

## AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DA PRÓPOLIS CONTRA BACTÉRIAS POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS

Alane Torres de Araújo Lima<sup>1</sup>, Ríudo de Paiva Ferreira<sup>2</sup>, Daniele Maria Knupp Souza Sotte<sup>3</sup>, Maria Diana Cerqueira Sales<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Graduanda em Medicina, FACIG, alane\_torres@hotmail.com

<sup>2</sup> Doutor em Biologia Celular e Estrutural, FACIG, riudopaiva@gmail.com

<sup>3</sup> Doutoranda em Ciências biológicas, UFJF, daniknupp@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Doutora em biotecnologia, EMESCAM, dsdianasales@gmail.com

**Resumo-** A atividade antibacteriana da própolis torna-se substancialmente importante na atualidade, onde a emergência de bactérias multirresistentes tem limitado a efetividade dos antibacterianos usuais. Uma bactéria com altas taxas de resistência é o *Staphylococcus aureus*, responsável por infecções potencialmente letais. Dessa forma, este trabalho objetivou analisar a atividade antibacteriana da própolis frente o *S. aureus*. Foram realizados dois experimentos: no primeiro, uma linhagem de *S. aureus* ATCC foi estriada em placas contendo ágar sangue acrescido de extrato de própolis e incubada à 37 °C por 24 h. Os controles foram feitos com álcool de cereais e ágar-sangue puro. No segundo, discos de papel contendo própolis, salina estéril 0,9% e vancomicina foram dispostos sobre o meio previamente estriado com suspensão de *S. aureus* e as placas incubadas à 37 °C por 24h. Os resultados foram analisados usando teste exato de Fisher e intervalo de confiança de 95%. No primeiro experimento, 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 ( $p < 0,01$ ). No segundo experimento a própolis ( $1,8 \pm 0,28$  mm;  $IC_{95\%}$  1,26- 2,37 mm) mostrou atividade antimicrobiana contra *S. aureus*. Portanto, pode-se afirmar que a própolis apresenta uma atividade antimicrobiana contra *S aureus* podendo ser uma alternativa à terapêutica convencional.

**Palavras-chave:** Própolis; *Staphylococcus aureus*; Antimicrobianos.

**Área do Conhecimento:** Ciências Biológicas

### 1 INTRODUÇÃO

A própolis é formada pelas abelhas da espécie *Apis mellifera*, sendo responsável por manter baixos níveis de micro-organismos no interior das comeias (SALATINO, 2011; HARFOUCH et al., 2016). Na medicina popular há registros do seu uso desde a antiguidade, como agente anti-inflamatório e antimicrobiano (STEPANOVIĆ et al., 2003; SUNG, 2017).

Em geral, a própolis contém inúmeras substâncias em sua composição, dentre as quais, ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos, aldeídos aromáticos e álcoois. (SUNG, 2017). Apesar de sofrer algumas diferenças na composição química de acordo com a localidade geográfica em que foi produzida, a maioria das atividades biológicas atribuídas a própolis são as mesmas em todo o mundo (SELVARAJ et al., 2018). Em relação aos seus efeitos antibacterianos, estudos *in vitro* utilizando diferentes metodologias, mostram eficiente atividade bacteriostática e bactericida, sendo estas atribuídas principalmente aos compostos fenólicos, (MIGUEL et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2010; MIGUEL et al., 2011; SFORCIN; BANKOVA, 2011; MIGUEL et al., 2010; SINHORINI et al., 2014), que atuam causando disfunções metabólicas e estruturais na célula bacteriana (ENDO, 2017).

Baseando-se nos resultados obtidos em diferentes estudos (YU, 2015; CARDOSO, 2016; HARFOUCH et al., 2017) pode-se sugerir que a própolis tenha valor clínico no combate a infecções (SELVARAJ et al., 2018), propriedade substancialmente importante na atualidade, onde a emergência global de bactérias multirresistentes tem limitado consideravelmente a efetividade das drogas antibacterianas usuais, o que gera uma pressão para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos (DJEUSSI, 2013).

Dentre as bactérias com altas taxas de resistência antimicrobiana destaca-se o *Staphylococcus aureus*, habitante da microbiota natural humana que quando há quebra da barreira cutânea ou

deficiência imunológica, torna-se um importante agente causador de infecções oportunistas, sendo responsável por uma grande variedade de infecções potencialmente letais, que constituem em um grave problema de saúde mundial (ADELMAN, 2005; COS et al., 2006; GARZA-GONZÁLEZ, 2010).

Assim, a utilização de fitofármacos no combate de diversas patologias infecciosas representa uma importante ferramenta e neste contexto, diante de suas atividades biológicas, a própolis pode destacar-se como uma potencial alternativa aos antibióticos utilizados atualmente (MARCUCCI et al., 2001).

Desta forma, conhecimento das propriedades da própolis como potencial agente antimicrobiano e o reconhecimento da espécie *Staphylococcus aureus* como importante agente causador de infecções graves que acometem a população humana motivaram o presente trabalho, que teve como objetivo analisar a atividade antibacteriana de um extrato de própolis comercial frente a espécie *Staphylococcus aureus*.

## 2 METODOLOGIA

Amostras de *Staphylococcus aureus* ATCC cedidas da bacterioteca do Hospital Regional Joao Penido (HRJP) de Juiz de Fora, foram estriadas em meio ágar-sangue a fim de obter-se colônias puras e isoladas para o experimento. Após isso, foram realizados dois procedimentos: o primeiro foi a confecção de meio ágar-sangue acrescido de própolis (N=14), e neste meio foi estriada a linhagem de *S. aureus* e incubada à 37 °C por 18-24 h. Os controles foram feitos com álcool de cereais (N=8) e ágar-sangue puro (N=9). No segundo experimento, uma suspensão de *S. aureus* em salina estéril na escala 0,5 de Mc Farland foi estriada no ágar-sangue com *swab* estéril, conforme o padronizado pelo CLSI para antibiograma. Após aguardar 5 min para que a suspensão fosse aderida ao meio, discos de papel de filtro estéreis foram embebidos com a própolis, com salina estéril 0,9% (controle negativo) e disco de vancomicina próprio para antibiograma (controle positivo). Estes discos foram dispostos sobre o meio, sendo 2 discos de própolis, 1 de solução salina e 1 de vancomicina em cada placa, totalizando 8 placas de petri. Após aguardar 5 min para que o material do disco comece a difundir pelo meio, as placas foram vertidas e incubadas à 37 °C por 24h. Após este período, as placas foram fotografadas e os halos de inibição formados foram medidos. Os resultados foram analisados usando teste exato de Fisher e intervalo de confiança de 95%.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Primeiro experimento

No primeiro experimento, 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 dado 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*.

Tabela 1 – Crescimento bacteriano de acordo com o tratamento com própolis em concentração comercial, álcool de cereais ou ágar sangue puro (controle).

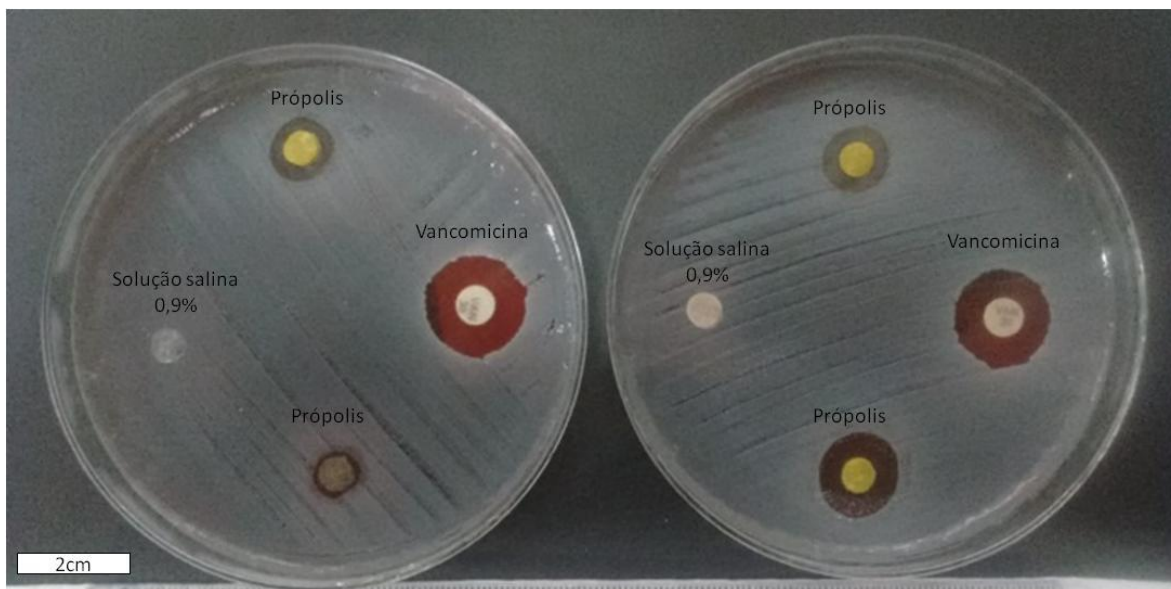
Tratamentos	Placas COM crescimento bacteriano	Placas SEM crescimento bacteriano	
Própolis	14	20	3.2
Álcool de Cereais	8	0	
Ágar Sangue	9	0	

### 3.2 Segundo experimento

No segundo experimento, não houve inibição nos discos da solução salina e a própolis ( $1,8 \pm 0,28$  mm;  $IC_{95\%}$  1,26- 2,37 mm) mostrou atividade antimicrobiana impedindo o crescimento de *S aureus*. O halo de inibição foi menor em relação à vancomicina ( $4,3 \pm 0,44$  mm;  $IC_{95\%}$  3,43- 5,16 mm) (Figura 1) (Tabela 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*

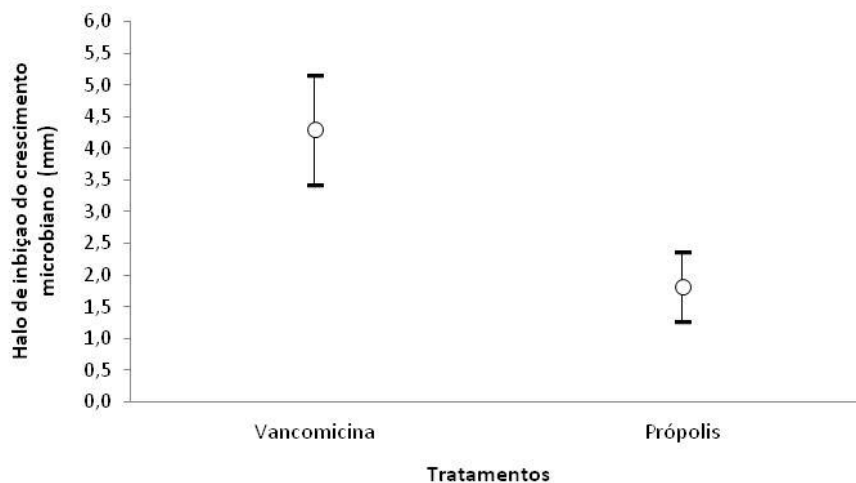
resistentes à Meticilina – MRSA (RAZERA et al., 2009; GELATTI et al., 2009). Em estudo com metodologia semelhante, Apaydin (2018) comparou as atividades inibitórias da própolis, tetraciclina, amoxicilina, ampicilina e estreptomicina frente bactérias da espécie *Staphylococcus aureus*. Em concordância com os resultados encontrados no presente trabalho, a própolis produziu atividade antibacteriana com halo de inibição menor que aquele formado ao redor dos antibióticos comerciais, porém bastante próximo ao da estreptomicina.

Figura 1 – Formação dos halos de inibição nos tratamentos com vancomicina (controle positivo), solução salina 0,9% (controle negativo) e a própolis em duplicada.



Fonte: Experimento realizado neste trabalho.

Figura 2- Halos de inibição ao crescimento de *Staphylococcus aureus*. Tratamento com Vancomicina (controle positivo), própolis comercial. A solução salina 0,9% (controle negativo) não inibiu o crescimento microbiano. Os resultados foram apresentados com Média e Intervalo de confiança de 95%.



Estão disponíveis na literatura diversos trabalhos relatando a atividade antimicrobiana da própolis frente cepas de *Staphylococcus aureus*, tendo estes, em semelhança aos encontrados neste

experimento, apresentam resultados positivos para inibição do crescimento bacteriano desta espécie (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 *Staphylococcus aureus* na gênese de diversas infecções e à resistência bacteriana encontrada em diversas cepas da espécie (MORELL, 2010; LE, 2012).

O surgimento de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes aos antibióticos data da década de 1960 (MOREIRA *et al.*, 1998) e tem como fator determinante o uso indiscriminado de antibióticos (ANVISA, 2004; ANDRADE *et al.*, 2006). A emergência crescente de cepas multirresistentes aos antibióticos usuais, para as quais as opções terapêuticas vigentes tornam-se criticamente escassas (ARANTES, 2013) tem tornado imperiosa a necessidade de que novos antibióticos sejam descobertos (SANTOS *et al.*, 2007) e se façam alternativa à terapêutica vigente na atualidade. Assim, o uso da própolis poderia ser uma alternativa bastante viável à terapia das infecções por *Staphylococcus aureus*.

Adicionalmente, por haver variações na composição química de acordo com a região em que é coletada e com variabilidade genética das abelhas-rainhas (MENEZES, 2005) a própolis torna-se potencialmente interessante no contexto da resistência bacteriana, uma vez que essas diferenças estruturais lhe conferem atividades antibacterianas distintas, dificultando o surgimento de mecanismos de resistência por parte das bactérias (WOJTYCZKA, 2013).

#### 4 CONCLUSÃO

Diante desses resultados, pode-se afirmar que a própolis comercial apresenta uma atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*. Tal resultado mostra-se relevante, uma vez que trata-se de uma bactéria frequente em infecções graves e que tem apresentado crescente resistência aos antibióticos convencionais. Assim, elucida-se o papel da própolis como uma possível alternativa terapêutica para infecções por esta espécie bacteriana, sendo, contudo necessárias investigações acerca de uma dosagem mínima de inibição.

#### 5 REFERÊNCIAS

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

ANDRADE, Denise de; LEOPOLDO, Vanessa Cristina; HAAS, Vanderlei José. Ocorrência de bactérias multiresistentes em um centro de Terapia Intensiva de Hospital brasileiro de emergências. *Rev. bras. ter. intensiva*, São Paulo, v. 18, n. 1, Mar. 2006 .

ANVISA. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde. Brasília: Ministério da Saúde. 2004.

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.

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.

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.

CARDOSO, J.G. Influence of a Brazilian wild green propolis on the enamel mineral loss and *Streptococcus mutans*' count in dental biofilm. *Arch Oral Biol*. V.65, p. 77-81, 2016.

COS, P.; VLIETINCK, A.J.; VANDEN, B.D. Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro 'proof -of concept'. **J Ethnopharmacol.** V.106, n.3, p. 290 – 302, 2006.

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.

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.

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 metilina: 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, 2017.

LE, F. A.F.C. Avaliação da colonização nasal por Staphylococcus aureusem funcionários de um serviço de saúde em Campina Grande-PB. **Rev Biol Farm.** V. 7, n.1, p.1983-4209, 2012.

MARCUCCI, M.C., et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, v.74, n.2, p.105-112, 2001.

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, 2004.

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.

MOREIRA, M. et al . Efeito da infecção hospitalar da corrente sanguínea por Staphylococcus aureus resistente à oxacilina sobre a letalidade e o tempo de hospitalização. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, São Paulo, v. 44, n. 4, Dec. 1998 .

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.

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, Fernanda 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

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.

SANTOS, André Luis dos et al . Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, Rio de Janeiro, v. 43, n. 6, Dec. 2007.

SELVARAJ, Rajini et al. Phytochemical profiling and antibacterial activity of propolis. **International journal of scientific research**, v. 7, n. 6, 2018.

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, Wellington Augusto 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.

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.

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.

YU, Q., et al. Effects of Yili dark bee propolis on oral cariogenic biofilm in vitro. **West China journal of stomatology**, v. 33, n. 4, p. 343-346, 2015.