

Actividad *in vitro* del Propóleo frente a Patógenos Bacterianos aislados de Infecciones Humanas

Milagros GARCIA BERNAL ^{1*}, Ricardo MEDINA MARRERO ¹,
Pedro I. HIDALGO YANES ¹, María S. DELGADO LASVAL ¹,
Emma TRUFFIN TRUFFIN ² & Rafael GOMEZ MARRERO ².

^{1*} Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central de las Villas.
Carretera a Camajuaní Km 5 1/2. Santa Clara. Villa Clara. Cuba.

² Laboratorio Provincial de Microbiología. Ministerio de Salud Pública. Santa Clara. Villa Clara. Cuba.

RESUMEN. Entre los productos que se pueden obtener de la colmena se encuentran la cera, la miel, la jalea real y el propóleo. Este último es una mezcla de composición química compleja que contiene bálsamos, aceites etéreos, polen, vitaminas, algunos minerales y proteínas, sustancias que le confieren una variedad de propiedades biológicas de gran interés para fines terapéuticos. Por esta razón en la presente investigación se estudió la efectividad antimicrobiana de dos extractos alcohólicos, uno procedente de la Cayería Norte de Caibarién y otro de Ciego de Avila; utilizando el método de dilución en agar. El estudio se realizó frente a aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* procedentes del Laboratorio Provincial de Microbiología de Santa Clara. La efectividad antimicrobiana de los extractos depende de la procedencia del propóleo y de la especie bacteriana evaluada, siendo el extracto procedente de la Cayería Norte de Caibarién el más efectivo. La especie bacteriana más sensible resultó ser *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*.

SUMMARY. "Evaluation of antimicrobial activity of propolis extracts for therapeutic purposes". Among the products that can be obtained from beehive there is wax, honey, royal, jelly and propolis. The last is a mixture of complex chemical composition that contains balsams, ethereal oils, pollen, vitamins, and some minerals and proteins, substances which give a variety of biological properties of great interest for therapeutic purposes. For this reason in the current investigation we studied the antimicrobial effectiveness of two alcoholic extracts, one from Ciego de Avila and other from northern Keys of Caibarién, using the agar dilution method. The study was made against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* from The Microbiology Provincial Laboratory of Santa Clara. The extracts antimicrobial effectiveness depends on the origin of propolis and the evaluated bacterial species, being the extract from the northern Keys of Caibarién more effective. The most sensible bacterial species was *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis*.

INTRODUCCION

El propóleo es una sustancia resinosa de árboles y arbustos silvestres, que las abejas extraen con el fin de taponar herméticamente su colmena e impedir que se forme dentro de ella cualquier tipo de infección. Esta es una sustancia compleja, constituida por una gran variedad de compuestos químicos, su composición no es estable y varía según la fuente de procedencia, se caracteriza por tener un 55% de resinas y bálsamos aromáticos, 30% de ceras, 10% de aceites esenciales y 5% de granos de polen ¹.

Una de las propiedades más importante del propóleo es su actividad antimicrobiana, la cual se le atribuye fundamentalmente a los flavonoides pinocembrina, galangina, pinobanksina, pinobanksina-3-acetato, éster bencil del ácido p-cumárico y mezclas de ésteres del ácido cafeico ².

Los extractos de propóleo se han evaluado frente a bacterias grampositivas, entre ellas *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, y gramnegativas como *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, teniendo sobre las bacte-

PALABRAS CLAVE: Propóleo, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

KEY WORDS: Propolis, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

* Autor a quien dirigir la correspondencia. E-mail: mrgarcia@uclv.edu.cu

rias grampositivas mayor efectividad ³. Dada la acción antimicrobiana de este producto natural, se hace necesario conocer las propiedades del propóleos de la región central para impulsar su aprovechamiento en la medicina humana y veterinaria. En este trabajo nos propusimos comparar la actividad antimicrobiana de dos extractos de la zona central frente a *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sustancia de ensayo

La sustancia de ensayo fueron dos extractos alcohólicos de propóleos al 70%, uno perteneciente a la zona costera de Villa Clara y otro a Ciego de Ávila.

Microorganismos de ensayo

Los ensayos se realizaron con 30 cepas de cada uno de los siguientes microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* procedentes de aislamientos clínicos del Laboratorio Provincial de Microbiología de Santa Clara; así como con cepas de referencia *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Las mismas habían sido previamente aisladas y caracterizadas según los métodos establecidos internacionalmente en los laboratorios microbiológicos y del Ministerio de Salud Pública de Cuba (MINSAP).

Medios de cultivo

Para realizar las pruebas de susceptibilidad

in vitro se utilizó caldo y agar Mueller-Hinton (BIOCEN) pH 7,3 ± 0,2.

Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

Para determinar la CIM se utilizó el método de dilución en agar ⁴. Las concentraciones de los extractos de propóleos ensayadas fueron de 0,05 %, 0,1 %, 0,2 %, 0,4 %, 0,8 %, 1 %, 4 %, 8 %, 10,5 % y 14 %. Cada prueba de susceptibilidad incluyó placas que contenían medio de cultivo más etanol, para estudiar el efecto del solvente. Después de la inoculación, las placas se incubaron a 37 °C por 24 h.

La CIM se definió como la menor concentración de la sustancia de ensayo que inhibió el crecimiento visible de los microorganismos y fue dada en términos de CIM₅₀ y CIM₉₀; calculadas mediante un programa para microcomputadora basado en el método de interpolación logarítmica ⁵.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las CIM₅₀ y CIM₉₀, así como el rango de CIM, es mostrado en la Tabla 1. En este trabajo nosotros pudimos verificar que las cepas de *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis* fueron susceptibles a muy bajas concentraciones de propóleos ⁶⁻⁸. Por otra parte, *Pseudomonas aeruginosa* fue inhibida solo a concentraciones elevadas de propóleos. El rango de CIM de propóleos frente a este microorganismo fue entre 8-10,5 µg/mL. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Grange *et al.* ⁹, quienes observaron una marcada acción del propóleos frente a las bacterias gram positivas y limitada activi-

Microorganismo	Extracto Caibarién			Extracto Ciego de Ávila		
	CIM50	CIM90	Rango	CIM50	CIM90	Rango
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
<i>Staphylococcus aureus</i> salvaje	0,1	0,1	0,1-0,2	0,2	0,2	0,1-0,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	8,0	8,0	8,0	10,5	10,5	10,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> salvaje	8,0	10,5	8,0-10,5	10,5	10,5	8,0-10,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> salvaje	0,1	0,2	0,1-0,2	0,2	0,2	0,1-0,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> salvaje	4,0	8,0	4,0-8,0	8,0	8,0	4,0-8,0
<i>Escherichia coli</i> ATCC	10,5	10,5	10,5	>10,5	>10,5	>10,5
<i>Escherichia coli</i> salvaje	10,5	>14,0	>10,5	>14,0	>14,0	>10,5

Tabla 1. Actividad antimicrobiana del Propóleos frente a bacterias gram positivas y bacterias gram negativas medida en términos de CIM₅₀ y CIM₉₀, expresadas en µg/mL.

dad frente a las bacterias gram negativas. Por otro lado Nieva *et al.*¹⁰ reportaron actividad frente a *Staphylococcus aureus* pero no frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

Una posible explicación de la variabilidad de los resultados es debido a que la composición del propóleo es variable dependiendo de la región, por la variedad de árboles y otras especies de plantas usadas para la colección y de la estación al cual es recolectado. Además, los compuestos activos pueden no estar presentes en cantidades suficientes. Sin embargo en un estudio reciente Sforcin *et al.*⁷ no encontraron efecto en la estación en la que se recolectó el propóleo sobre la actividad antimicrobiana del propóleo brasileño. En nuestra investigación el extracto de propóleo procedente de la zona de la Cayería norte de Caibarién fue el más efectivo frente a los microorganismos estudiados. En esta zona la vegetación consiste en Mangle Rojo.

Nuestros resultados confirman aquellos que en la literatura enfatizan la baja sensibilidad de las especies gram negativas comparadas con las gram positivas^{7,11,12}.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio sugieren que el extracto de propóleo procedente de la Cayería Norte de Caibarién puede ser utilizado en el tratamiento de heridas, quemaduras y úlceras estomacales. Las especies bacterianas más sensibles resultaron ser *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Kujumgiev, A., V. Bankova, A. Ignatova & S. Popov (1993) *Pharmazie* **48**: 785-86.
2. Castro, S.L. & K.O. Higashi (1995) *J. Ethnopharmacol.* **46**: 55-8.
3. Bankova, V., R. Christov, G. Stoev & S. Popov (1992) *J. Chromatogr.* **607**: 150-3.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (1997) *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility*. Test Document M7-A3. Villanova, Pennsylvania: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
5. Izada, D. & E.A. Silveira (1992) "Cálculo de la CIM y CBM 50 y 90% mediante interpolación logarítmica". Programa para microcomputadora. Universidad Central de Las Villas. Santa Clara.
6. Kujumgiev, A., I. Tsvetkova, Yu. Serkedjeva, V. Bankova, R. Christov & S. Popov (1999) *J. Ethnopharmacol.* **648**: 235-40
7. Sforcin, J.M., Jr. Fernandes, A. Lopes, C.A.M. Bankova, & V. Funari (2000) *J. Ethnopharmacol.* **73**: 243-9.
8. Drago, L., B. Mombelli, E. De Vecchi, M.C. Fasina, L. Tocall & M.R. Gismondo (2000) *J. Chemotherapy* **12**: 390-5.
9. Grange, J.M. & R.W. Davey (1990) *J. R. Soc. Med.* **83**: 159-60.
10. Nieva Moreno, M.I., M.I. Isla, N.G. Cudman, M.A. Vattuone, & A.R. Sampietro (1999) *J. Ethnopharmacol.* **68**: 97-102.
11. Ghisalberti, E.I (1979) *Bee world* **60**: 59-84.
12. Millar, A. & Lilenbaum W. (1988) *Cienc. Med.* **7**: 29-31.