

ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DE DIFERENTES TIPOS DE PROPOLEOS.

Teresa Giral Rivera *, Manuel Achong Ley **, Silvia Macola Olano **, Idalmis Viamonte López **, Miguel Ruíz Rodríguez *.

Estación Experimental Apícola. *
Hospital Docente “Calixto García” **

RESUMEN

En nuestro trabajo se estudiaron tres tipos de propóleos: amarillo, pardo y rojo para demostrar la acción antimicótica en dos tipos de hongos patógenos: *Cándida Albicans* dentro de los hongos levaduriformes y *Trichophyton rubrum* dentro de los filamentosos. Las concentraciones en forma de tintura utilizadas fueron al 0.5%, 0.25% obtenidas de la Estación Experimental Apícola del Ministerio de la Agricultura.

Se evaluaron de acuerdo a los siguientes métodos:

1. Siembras en placas umbradas con microorganismos.
2. Método de dilución en caldo.
3. Método de dilución en agar.
4. Pruebas de difusión con disco.

Se demostró que los diferentes propóleos poseen efecto antimicótico frente a los tipos de hongos estudiados, siendo el propóleos rojo el de mayor efectividad.

ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DE DIFERENTES TIPOS DE PROPOLEOS.

Teresa Giral Rivera *, Manuel Achong Ley **, Silvia Macola Olano **, Idalmis Viamonte López **, Miguel Ruíz Rodríguez *.

Estación Experimental Apícola. *
Hospital Docente “Calixto García” **

INTRODUCION

El propóleos, un valioso producto apícola, resulta de gran utilidad para el tratamiento de diferentes afecciones dermatológicas entre ellas las dermatitis (1,2) y como antimicótico (3) en forma de ungüentos, pomadas y tinturas. Además posee efecto bacteriostático demostrado y efecto anestésico local (4). La composición del propóleos es compleja y variable y depende del área donde se obtiene (5). Se ha señalado que las abejas lo obtienen de diferentes fuentes entre ellas las coníferas cuyo propóleos son de color claro y el del álamo tiene un color que tiende a rojo (6).

Teniendo en cuenta que este producto natural se puede obtener fácilmente en nuestro país, nos motivamos a realizar un estudio de su efecto antimicótico con tres tipos diferentes de propóleos, ya que su composición es diferente de acuerdo a las plantas donde fue obtenido y su acción antimicótica puede variar.

Como objetivo nos trazamos valorar la posible acción antimicótica del propóleo, determinar si las tres variedades (amarillo, pardo y rojo) inhiben el crecimiento de los hongos más representativos. Que afectan a nuestra población: la *Cándida albicans* y el *Trichopyton rubrum* y conocer las concentraciones inhibitorias mínimas del propóleo para estos hongos.

MATERIALES Y METODO

Se realizó el estudio en dos tipos de hongos patógenos representativos: La *Cándida Albicans* dentro del grupo de los hongos levaduriformes por ser uno de los agentes causales de lesiones cutáneas más frecuentes de este grupo y el *Trichopyton rubrum* perteneciente a los hongos filamentosos por ser de difícil curación las lesiones que produce, ambas cepas se tomaron del Laboratorio de Microbiología del Hospital “Gral. Calixto García”.

Los diferentes propóleos (amarillo, pardos y rojo) fueron obtenidos de la Estación Experimental Apícola del Ministerio de la Agricultura.

Las concentraciones estudiadas fueron 0,05%, 0,25% y 0.5%, en forma de extracto hidroalcohólico de propóleos preparadas con alcohol al 70% a una temperatura de 40° c durante 8 horas, según el método descrito por Giral y col. (7).

Para determinar la actividad antimicótica de los diferentes tipos de propóleos fueron utilizados los siguientes métodos:

1. Siembra en placa de Petri umbrada con microorganismos.

El medio de cultivo utilizado fue el de Sabouraud donde fueron disueltas las diferentes concentraciones de propóleos utilizadas y el grupo control con Nistatin 0.005%, Miconazol o Griseofulvina al 1%, de acuerdo al tipo de hongo estudiado.

La siembra se realizó utilizando corchetes de 3mm de diámetro obtenido de un cultivo de hongo en fase de crecimiento activo,

Luego se incubaron a temperatura ambiente, protegidos de la luz durante 7 días en el caso de la *Cándida Albicans* y durante 15 días el *Trichophyton rubrum* (8). La lectura se realizó según el diámetro mayor de crecimiento, expresado en mm.

2. Método de dilución en caldo.

El medio de cultivo utilizado fue el caldo caseína extracto levadura-glucosa (9) ajustado a pH 7.

El inóculo se preparó con cultivo de 24 horas incubados en Agar Sabouraud.

Las suspensiones para la siembra del microorganismo se prepararon en solución salina estéril y se ajustaron a una transmisión del 95% medida a 530 nm (fotocolorimetro Erma RDA).

Se escogieron 12 tubos de ensayos con 5ml del medio de cultivo cada uno, al 2do tubo se añadió 5 ml del propóleo y se tomaron alícuotas de 5 ml al tubo siguiente, así sucesivamente hasta el tubo Pt 12. Finalmente a cada tubo se inoculó 0.2 ml de la suspensión con el microorganismo.

El Miconazol (ámpulas de 200 mg) de producción nacional fue el medicamento utilizado como control. En el 1er tubo se añadió Miconazol al 0.5%. todos los tubos se incubaron a 37° C durante 24 horas. Para determinar la concentración inhibitoria mínima se realizó la siembra de las diferentes concentraciones en placas de Petri con medio Sabouraud, nuevamente se incubaron a 37 ° C durante 24 horas y se procedió a la lectura en el caso de la *Cándida albicans*. Este procedimiento se realizó con cada uno de los propóleos estudiados: amarillo, pardo y rojo.

De igual forma se prepararon otros 36 tubos para estudiar los tres propóleos con el otro tipo de hongo: *Trichopyton rubrum*. El control también fue el Miconazol. Se incubaron a 37° C durante los días y para determinar la concentración inhibitoria mínima se procedió de igual forma que con el hongo anterior, solo con la diferencia del tiempo de incubación que fue mayor.

3. Método de dilución en agar.

El medio utilizado fue el Kimming. Como aditivo se añadió 5ml de glicerina y se ajustó a pH 6,5 con HCl 0,1 N (9).

Se escogieron placas de Petri a las que se les suministró a cada uno 10 ml del medio Agar, 1 ml de cada uno de los propóleos y 0,2 ml de la suspensión preparada anteriormente con el hongo (*Cándida* o *Trichophyton*). Fueron estudiadas las diferentes concentraciones de propóleos (0.05%, 0.25% y 0.5%) y el tiempo de incubación fue el descrito anteriormente.

3. Prueba con disco de difusión.

Se prepararon los discos de celulosa los cuales fueron embebidos con un volumen de 0.2 ml Con las diferentes concentraciones de propóleos estudiados. Una vez más fueron sembrados en la placa con medio de Sabouraud los cuales ya tenían el microorganismo disuelto (0.2 ml de la suspensión para la siembra en 10 ml del medio) (9).

RESULTADOS Y DISCUSION

En nuestro trabajo se realizaron los diferentes métodos para demostrar la acción antimicótica del propóleo las cuales describimos a continuación:

1. Método de siembra umbrada con microorganismos.

Los resultados obtenidos demuestran que la siembra de *Cándida Albicans* con propóleos amarillo no se obtuvo crecimiento al 0.5%, sin embargo a las concentraciones menores de 0.25% y 0.05% sí se obtuvo crecimiento como se observan la Tabla No. 1.

Con el propóleo pardo también se obtuvo crecimiento a partir de las concentraciones de 0.05%. El propóleo rojo demostró ser más efectivo, pues se obtuvo crecimiento solo en la menor concentración (0.05%).

En el caso del *Trichophyton* a los 15 días mostró crecimiento en el propóleo amarillo en las concentraciones de 0.05% y 0.25% (Ver Tabla 2), en el propóleo pardo solo creció al 0.05% y en el propóleo rojo no se obtuvo crecimiento en ninguna concentración.

2. Método de dilución en caldo.

En el caso *Cándida Albicans*, el propóleo rojo fue el más eficaz ya que el crecimiento se observó a partir del tubo Pt 9, es decir, a una concentración de 0.019% en adelante (Gráfica # 1), no ocurrió de esta manera con los propóleos amarillo y pardo, en los cuales se obtuvo crecimiento a partir del tubo Pt 6 es decir, a una concentración de 0.078% en adelante.

Este método nos permitió cuantificar la concentración inhibitoria mínima de los diferentes propóleos, se demostró que el hongo estudiado creció en el propóleo rojo a concentraciones 4 veces inferiores a los de los otros tipos de propóleos.

Con el *Trichophyton* el propóleo rojo inhibió el crecimiento en todos, con el propóleo amarillo se obtuvo crecimiento a partir del tubo Pt * (0.039%) y con el propóleo pardo se observó crecimiento a partir del tubo Pt 10 (0.009%). Esto confirma el efecto antimicótico del propóleo rojo que se es superior al resto de los propóleos estudiados. (Gráfico # 2)

3. Método de difusión en agar.

Tanto en el caso de la *Cándida albicans* como con el *Trichophyton rubrum* no se obtuvo crecimiento en ninguno de los propóleos estudiados.

4. Método de difusión en disco.

En este método no se obtuvo ningún resultado ya que no se observó inhibición del crecimiento en los dos tipos de hongos estudiados con los diferentes propóleos. Se han señalado resultados similares por Giral y cols. (10) quienes sugieren que este método no es el más apropiado para el estudio del propóleo, quizás debido a la dificultad para la difusión de esta sustancia resinosa en los discos standard utilizados en esta técnica.

En general, nuestros resultados coinciden con los obtenidos y reportados por diferentes autores nacionales, (11), (12), (13) y autores extranjeros (14), quienes señalaron el efecto antifúngico del propóleo y su utilidad en diferentes micosis cutáneas.

Debido a la complejidad de la estructura química del propóleo y la diversidad de los compuestos que ella contiene es que ha sido difícil identificar el principio activo como antimicótico, no obstante, Fang Chu (15) planteó que la mayor actividad fungistática se debe a la presencia de flavonas y ácido cinámicos, aunque se necesitan nuevos estudios para obtener datos más concluyentes. Por otra parte, el extracto hidroalcohólico de propóleo es capaz de formar una película adherente protectora en la superficie de las lesiones descrita por Gafar y cols. (16). Esta acción unida a su efecto antiinflamatorio, antibiótico y anestésico pueden ayudar a su acción antimicótica y por tanto ser útil en las dermatomicosis.

Queda demostrado en nuestro estudio que existen diferentes tipos de propóleos. Cuya composición varía de uno a otro y como es de esperar sus efectos antimicóticos también se

modifican, de esta forma, el propóleo rojo resulta ser la mayor efectividad entre los propóleos estudiados.

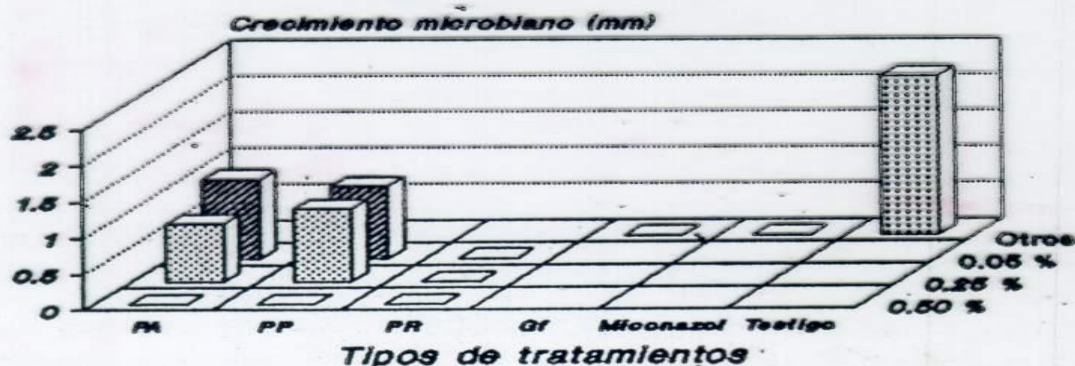
CONCLUSIONES

1. Los propóleos estudiados (amarillo, pardo y rojo) poseen efectos antimicótico frente a las cepas de *Cándida albicans* y *Trichophyton rubrum*, siendo el rojo el mayor actividad antifúngica.
2. Las concentraciones inhibitorias mínimas de los diferentes tipos de propóleos fueron: en caso de la *Cándida*, el propóleo amarillo y el pardo fue de 0.078 % y el rojo de un 0.019 %; en el *Tricophyton* el propóleo amarillo fue de un 0.029 %, el pardo 0.009 % y el rojo fue inferior a 0.002%.

RECOMENDACIONES

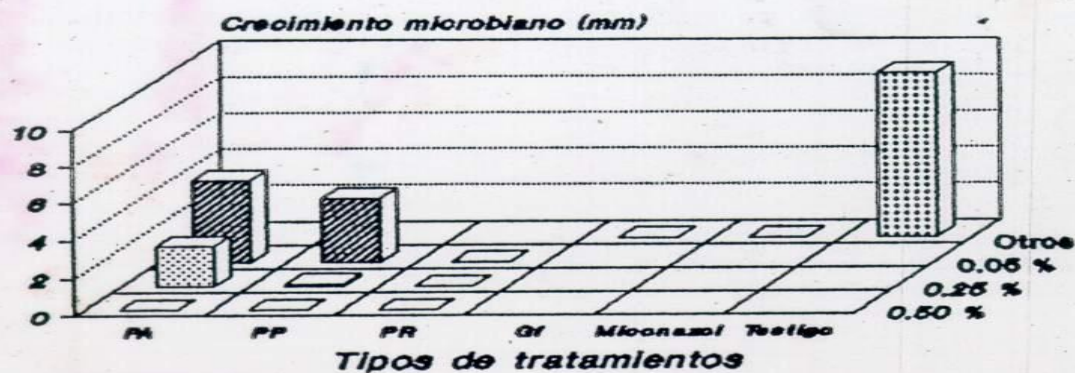
Debe valorarse el uso del propóleos según su procedencia ya que el efecto antimicótico varía en dependencia del tipo de propóleos utilizado. Por los excelentes resultados obtenidos en nuestro trabajo con el propóleo rojo recomendamos se profundice en su estudio para ser utilizado en preparados farmacéuticos como antimicóticos

**Resultados del Propóleos en la
Candida albicans.
Valores Promedios de 4 placas**



Propóleos:
PA: Amarillo; PP: Pardo; PR: Rojo
Gf: Griseofulvina

**Resultados del Propóleos en el
Trichophyton rubrum
Valores promedios de 4 placas**



Propóleos:
PA: Amarillo; PP: Pardo; PR: Rojo
Gf: Griseofulvina

BIBLIOGRAFIA

1. Danílov, L. N. Tratamiento con propóleos de algunas enfermedades de la piel. En: Propóleos. Ed. Apimondia, Bucarest. 1975. P. 125-35.
2. Orkin, V. K. S. I. Dovshonski. Propiedades curativas del Propóleos en dermatitis. En: Propóleos. Ed. Apimondia. Bucarest, 1975. P. 139-140.

3. Braileanu, C. A. Y cols. Investigaciones relativas y algunas formas farmacéuticas con propóleos. En: Propóleos. Ed. Apimondia. Bucarest. 1975. P. 149-157.
4. Frenkel, M. El propóleos como anestésico y adyuvante en el tratamiento de sinusitis y las afecciones de vías respiratorias superiores En: III Simposium Internacional D' Apiterapia. Yugoslavia. Ed. Apimondia. Bucarest. 1978. P. 32-38.
5. Asís, M. En: El propóleos: Un valioso producto Apícola. Ed. CIDA. C. Habana, 1979. P. 7-8.
6. Asís, M. Los productos de la colmena. Propóleos. Ed. CIDA. C. Habana, 1988. P. 45.
7. Giral, T., López L.; Ruíz M; Abreu C. Tratamiento con propóleos del asma bronquial. I Simposio sobre efectos del propóleos en la salud humana y animal. Matanzas. Libro de resúmenes. 1988. P. 31.
8. Cáster, G. R. En: Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and micology. 3ra Ed. Charles thomas. Publisher. Illionis, 1979. P. 303-305.
9. Shadany, S., a. Espinal. Prueba de susceptibilidad con agentes antifúngicas. Cap. 32. Manuel de Microbiología Clínica. 3ra Ed. Tomo II. C. Habana. 1982. p.776-784.
10. Giral, T. y Cols. Ensayo terapéutico del propóleos en las micosis superficiales y las úlceras de los miembros inferiores. I Simposio sobre los efectos del propóleos en la salud humana y animal. Matanzas. Libro de resúmenes. 1988. P. 32.
11. Rojas, N., G. Valdés, C. Morales. Ensayo preliminar de la acción de extractos de propóleos sobre *Cándida albicans*. XXXI Congreso de Apicultura. Polonia. 1987. Pag. 7-8.
12. Valdés, G.,N. Rojas C. Morales. Estudio comparativo de la acción antimicrobiana del propóleos con antibióticos y desinfectantes convencionales. Ciencia y Técnica de la Agricultura. Serie Apicultura V (1), CIDA. C. Habana. 1985.
13. Morales, C. Acción antimicrobiana de extractos de propóleos Tesis de Diploma. Facultad de Biología, Universidad de la Habana, 1984.
14. Vasilev, V. Y cols. Tratamiento con propóleos en la moniliasis. Ed. Apimondia, Bucarest. 1975. P. 144 –145.
15. Fang, Chu, A study of the Therapeutic effect of propolis *Apiacta* 1: 23-25, 1979.
16. Gafar, M y cols, Preparados farmacéuticos con extracto de propóleos empleados en el tratamiento de las paradontopatías marginales crónicas. Nuevas Investigaciones en la Apiterapia. Ed. Apimondia. Bucarest. 1976. P. 189-193.

ANTIMICOTIC ACTIVITY OF DIFFERENT TYPES OF PROPOLIS

Teresa Giral Rivera* , Manuel Achong Ley** , Silvia Macola Olano** , Idalmis Viamonte López ** , Miguel Ruíz Rodríguez* .

In our work was studied three types of propolis, yellow, brown and red, for evaluated the antimicrobial activity over two types of pathogenic fungi: *Cándida albicans* and *Trichophyton rubrum* .

The concentrations used were 0.05%, 0.25% and 0.5% obtained in Experimental Station of Apiculture of the Agriculture Ministry.

Was evaluated according to the following methods:

1. Added in dishes with microorganism.
2. Method of dilution in broth solution.
3. Method of dilution in agar.
4. Test of diffusion with disk.

The results showed that all the different types of propolis, have antimycotic effect over the two fungus studied red propolis showed more effectivity than the others.

* Hospital Docente "Calixto García".

** Estación Experimental Apícola.