

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE PROPÓLEOS CON FINES TERAPÉUTICOS.

Milagros García Bernal ^{[1]*}, Ricardo Medina Marrero ^[1], Pedro I. Hidalgo Yanes ^[1], María S. Delgado Lasval ^[1], Emma Truffin Truffin ^[2], Rafael Gómez Marrero ^[2].

^{[1]*} Centro de Bioactivos Químicos. Universidad Central de las Villas. Carretera a Camajuaní Km 5 ½. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. E-mail: mrgarcia@uclv.edu.cu

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

Introducción

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% 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*, *Staphylococcus epidermidis* y gramnegativas como *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, siendo las bacterias grampositivas las de mayor efectividad ^[3]. Dada la acción antimicrobiana de este producto natural, se hace necesario conocer las propiedades del propóleo de la región central para impulsar su aprovechamiento en la medicina humana y veterinaria. Por lo que en este trabajo nos propusimos, comparar la actividad antimicrobiana de dos extractos de la zona central frente a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus 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 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus 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 $7,3 \pm 0,2$.

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 de las placas se incubaron a 37 °C por 24h.

Lectura de los resultados

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 discusión

La CIM₅₀ y CIM₉₀, así como el rango de CIM es mostrado en la Tabla. En este trabajo nosotros pudimos verificar que las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* fueron susceptibles a muy bajas concentraciones de propóleo ^[6-8]. Por otra parte, *Pseudomonas aeruginosa* fue inhibida solo a concentraciones elevadas de propóleo (Tabla). El rango de CIM de propóleo frente a este microorganismo fue entre 8-10.5 µg/mL. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por ^[9] quienes observaron una marcada acción del propóleo frente a las bacterias gram positivas y limitada actividad frente a las bacterias gram negativas. Por otro lado ^[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, de 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 ^[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. La actividad del propóleo y la potencia de su acción dependen de la zona donde fue recolectado ya que sus principios activos provienen de las plantas que se encuentran en el lugar de recolección.

Una de las limitaciones del uso del propóleo es la variabilidad en la composición y en la acción como consecuencia de variaciones en la flora de la región donde es producido. Sin embargo ^[3] plantearon que la acción antimicrobiana siempre está presente porque el propóleo es de vital importancia como agente antimicrobiano para las abejas, independientemente de la región donde el propóleo es producido.

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

1. El extracto de propóleo procedente de la Cayería Norte de Caibarién fue el más efectivo.
2. 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. of Ethnopharmacol. 46: 55-58.
3. Bankova, V., R. Christov, G. Stoev & S. Popov (1992) J. Chromatogr. 607: 150-153.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test (NCCLS). Document M7-A3. Villanova, Pennsylvania: National Committee for Clinical Laboratory Standards, (1997).
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: 243-49.
8. Drago, L., B. Mombelli, E. De Vecchi, M.C. Fasina, L. Tocall & M.R. Gismondo (2000) J. Chemoterapy 12:390-395.
9. Grange, J.M. & R.W. Davey (1990) J.R. Soc. Med., 83(3): 159-160.
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.L (1979) Bee world 60: 59-84.
12. Millar, A. & Lilenbaum W. (1988) Cienc. Med. 7:29-31.

Tabla. Susceptibilidad antimicrobiana de bacterias gram positivas y bacterias gram negativas frente al Propóleo.

Microorganismos	Extracto Caibarién			Extracto Ciego de Avila		
	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	8	8	10.5	10.5	10.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> salvaje	8	10.5	8-10.5	10.5	10.5	8-10.5
<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	8	4-8	8	8	4-8
<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	>10.5	>14	>14	>10.5