

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PRÓPOLIS VERMELHA FRENTE AO *PROPIONIBACTERIUM ACNES*

Maria Natália Campos Luz¹ Edmir Geraldo de Siqueira Fraga²

¹Discente do Curso de Farmácia do Centro Universitário Católica de Quixadá; e-mail: nattymyle@hotmail.com

²Docente do Curso de Farmácia do Centro Universitário Católica de Quixadá; e-mail: edmirfraga@fcrs.edu.br

RESUMO

A acne é a mais comum das doenças crônicas do folículo pilosebáceo da pele humana, levando ao aparecimento de lesões polimorfos. Dentre os fatores desencadeantes, além do fator genético, o fator hormonal contribui para que ocorra a hipersecreção sebácea que leva a obstrução do folículo piloso e consequente proliferação de microrganismos, representados principalmente pelo *Propionibacterium acnes*, o que o torna um importante alvo terapêutico. A própolis vermelha possui atividade antimicrobiana evidente contra as bactérias gram-positivas. Objetiva-se neste trabalho, avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* da própolis vermelha em forma de extrato etanólico frente ao *Propionibacterium acnes*, com determinação das concentrações inibitórias mínimas (MIC₅₀ e MIC₉₀). Trata-se de um estudo quantitativo, descritivo e experimental, a ser realizado no laboratório de Controle de Qualidade da Farmácia Escola do Centro Universitário Católica de Quixadá, no período de setembro a dezembro de 2016. Será selecionada a cepa de *Propionibacterium acnes* ATCC®1969. Partindo-se da concentração de 64% de extrato etanólico de própolis vermelha, será realizada uma macrodiluição até a concentração de 0,03%, com posterior inoculação da bactéria, respeitando-se os períodos de incubação. Os tubos serão vedados com vaselina líquida estéril e os ensaios serão realizados em duplicata. As MICs serão determinadas mediante leitura visual dos tubos, considerando como a menor concentração de extrato de própolis vermelha onde não se visualizar crescimento microbiano. Para controle de qualidade será usado resazurina. Espera-se conhecer a ação da própolis vermelha em forma de extrato etanólico frente ao *Propionibacterium acnes*, tendo em vista que este patógeno apresenta características de suscetibilidade.

Palavras-chave: Ação Antimicrobiana. Acne. Própolis.

INTRODUÇÃO

A acne é a mais comum das doenças crônicas do folículo pilosebáceo da pele humana, levando ao aparecimento de vários tipos de lesões. Dentre os fatores desencadeantes, além do fator genético, o fator hormonal contribui para que ocorra a hipersecreção sebácea que leva a obstrução do folículo piloso e consequente proliferação de microrganismos, representados principalmente pelo *Propionibacterium acnes*. O *Propionibacterium acnes* pode atuar na fisiopatologia da acne liberando enzimas que contribuem com a ruptura da parede folicular e também estimulando a resposta inflamatória.

O uso de produtos naturais em dermatologia está se tornando cada vez mais comum. Substâncias como a própolis, coletada por abelhas, tem despertado o interesse de muitos

pesquisadores em decorrência de suas inúmeras propriedades terapêuticas, como: cicatrizantes, antimicrobianas, anestésicas, anti-inflamatórias, antioxidantes e anticancerígenas.

Frente a essa realidade, surgem os questionamentos: A própolis vermelha na forma de extrato etanólico possui atividade antibacteriana contra o *Propionibacterium acnes*? Qual concentração de própolis vermelha em forma de extrato etanólico apresenta melhor atividade antibacteriana? A busca por produtos de fontes naturais com atividades antibacterianas é constante, tendo em vista que geralmente apresentam menores chances de causar efeitos adversos e/ou induzir resistência bacteriana. Diante disso, estudar a atividade de compostos naturais com ação antimicrobiana, como a própolis vermelha, ganha cada vez mais importância.

Objetiva-se neste trabalho, avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* da própolis vermelha em forma de extrato etanólico frente ao *Propionibacterium acnes*, com determinação das concentrações inibitórias mínimas (MIC₅₀ e MIC₉₀).

REFERENCIAL TEÓRICO

A acne é uma afecção crônica, universal, multifatorial, inflamatória ou não inflamatória. Surge na puberdade e, quando não tratada, perdura por toda a adolescência ou até mesmo até a fase adulta. Localiza-se no folículo pilosebáceo, o qual é formado pela invaginação da epiderme que se estende até a derme, abrigando em seu interior a glândula sebácea e o pelo. Fatores genéticos e hormonais contribuem para que ocorra a hipersecreção sebácea que leva à obstrução do folículo e à proliferação de microrganismos.

Consideram-se quatro fatores fisiopatológicos primários para acne: Produção excessiva de sebo pelas glândulas sebáceas; Hiperqueratinização folicular; Colonização do folículo piloso por microorganismos, principalmente o *Propionibacterium acnes* e liberação de mediadores da inflamação no folículo e derme adjacente.

O *Propionibacterium acnes* desempenha papel dominante na segmentação dos queratinócitos e glândulas sebáceas do folículo pilosebáceo, contribuindo para o desenvolvimento de hiperseborreia e no desenvolvimento de comedões. A melhor compreensão do papel do *Propionibacterium acnes* abre novas perspectivas para o desenvolvimento de novos tratamentos.

As substâncias tópicas podem ser utilizadas de forma isolada, nos casos de acne mais leves ou combinadas a outros agentes, nos casos de acne moderada e grave. A terapia tópica envolve o uso de retinóides, peróxido de benzoíla, ácido azelaico, ácido salicílico, e antibióticos. O uso de contraceptivos orais e antiandrogênicos, isotretinóina e antibióticos orais representam uma alternativa, considerando ainda, terapia fotodinâmica, fontes de luz e lasers.

No Brasil existem 13 tipos de própolis, incluindo própolis verde, própolis vermelha, própolis marrom, própolis preta, própolis amarela e o geoprópolis. São diferenciadas pela cor, pelo odor e pela consistência. As características da própolis estão associadas à planta de origem e à espécie de abelha produtora.

As abelhas da espécie *Apis mellifera* recolhem os extratos resinosos vermelhos, para posterior produção da própolis vermelha, da superfície da planta *Dalbergia ecastophyllum*, popularmente conhecida como rabo-de-bugio, encontrada ao longo da praia e região do mangue do nordeste do Brasil, sendo esta considerada a origem botânica da própolis vermelha. Sua principal forma de utilização é como extrato alcoólico, sendo largamente utilizado para fins terapêuticos e farmacológicos em humanos. Contudo, ainda são necessárias mais pesquisas para esclarecer sua eficácia e de seus resíduos de extração.

A própolis vermelha apresenta ação antibacteriana mais evidente contra Gram-positivas o que está diretamente relacionado à sua composição química, com destaque aos ácidos fenólicos e flavonoides. A resistência apresentada pelas bactérias Gram-negativas

possivelmente está ligada a composição de suas membranas plasmáticas, com uma maior quantidade de lipídios e a presença de lipopolissacarídeo na parede celular, fator este determinante na patogênese, toxicidade e ainda capacidade antigênica desses microrganismos. Existe a possibilidade de os compostos fenólicos ativarem ou aumentarem a atividade da lisozima sérica, a qual desestabiliza a parede celular bacteriana, podendo haver uma variabilidade destas ações decorrente da sensibilidade de cada grupo de bactéria.

A própolis tem sido amplamente utilizada na medicina popular devido aos seus componentes químicos especiais, farmacologia forte, propriedades e baixa toxicidade. Este amplo espectro de efeitos terapêuticos torna a própolis um potente candidato a vários cenários clínicos.

A resistência microbiana vem aumentando em todo o mundo, essa questão levanta uma preocupação com a descoberta de novos agentes terapêuticos com consequente: melhor resposta farmacoterapêutica, diminuição de sua toxicidade e também dos custos, principalmente no tratamento de infecções comuns como por exemplo, causadas por *Propionibacterium acnes*.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo quantitativo, descritivo e experimental, a ser realizado no laboratório de Controle de Qualidade da Farmácia Escola do Centro Universitário Católica de Quixadá, no período de setembro a dezembro de 2016. Será selecionada para o estudo a cepa de *Propionibacterium acnes* ATCC®1969, a qual será ativada em caldo de tioglicolato e incubada em anaerobiose.

Partindo-se da concentração de 64% de extrato etanólico de própolis vermelha, será realizada uma macrodiluição até a concentração de 0,03% conforme padronizado pelo *Clinical Laboratory and Standards Institute* (CLSI), documento M11-A8, com posterior inoculação da bactéria, respeitando-se os períodos de incubação. Os tubos serão vedados com vaselina líquida estéril e os ensaios serão realizados em duplicata.

As MICs serão determinadas mediante leitura visual dos tubos, considerando como a menor concentração de extrato de própolis vermelha onde não se visualizar crescimento microbiano. Serão aceitos intervalos de MICs de ± 01 diluição por todas MICs, de modo a permitir critérios interpretativos entre as MICs de Própolis Vermelha e de antimicrobianos Benzilpenicilina e Vancomicina, estabelecidos pelo *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) documento 5.16b.

Para controle de qualidade será usado resazurina como indicador de óxido redução, os tubos que adquirirem uma coloração rosada indicam a reação química de óxido redução da resazurina em resorfurina, sendo interpretada como presença de células viáveis, enquanto que nas cavidades onde não há mudança na coloração do corante, interpreta-se como ausência de células viáveis, indicando inibição do crescimento celular pelo extrato.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho fornecerá evidências *in vitro* de modo a fundamentar o manejo clínico e real eficácia terapêutica da própolis vermelha no tratamento da acne, o que auxilia no desenvolvimento de formulações cosméticas acessíveis com melhor adesão pelos pacientes. A utilização de produtos naturais com ação antimicrobiana é uma alternativa considerável frente ao uso de antibióticos sintéticos com maiores riscos de induzir resistência microbiana e ainda de desenvolver reações adversas, ainda nessa perspectiva o uso de outros fármacos como a isotretinoína representa uma terapia complicada, o que envolve todo o contexto de vida do paciente, necessitando de maiores cuidados.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, Y. L. F.M. et al. Uso de biofilme de amido à base de própolis vermelha para a conservação de folhas de alface (*Lactuca sativa*). **Scientia Plena**, v. 8. n. 12. 2012.
- BELMIRO, M. S; OKI, Y; FERNANDES, G. W. O Presente das Abelhas Própolis. **Revista Planeta**. Ed. 463, 2011. Disponível em: <<http://www.revistaplaneta.com.br/o-presente-das-abelhas-propolis/>>. Acesso em: 19, abr. 2016.
- BEYLOT, C. et al. Propionibacterium acnes: an update on its role in the pathogenesis of acne. **European Academy of Dermatology and Venereology**. 2013.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI)**. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. Approved standard document M11-A8. 8. ed. Wayne, Pa, USA. CLSI, 2012.
- COSTA, C. S.; BAGATIN, E. Evidências sobre o tratamento da acne. **Diagn Tratamento**. 2013.
- DAUGSCH, A. et al. Brazilian Red Propolis- Chemical Composition and Botanical Origin. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**. 2008.
- DEUSCHLE, V. C. K. N. et al. Caracterização das lesões e tratamentos utilizados na acne. **Revista Interdisciplinar de Ensino, Pesquisa e Extensão**. v. 3. n. 1. 2015.
- EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (EUCAST)**. Antimicrobial wild type distributions of microorganisms. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Version 5.16b, Basel, SWZ, 2016. Disponível em: <http://mic.eucast.org/Eucast2/>.
- GOMES, R. K; DAMAZIO, M. G. **Cosmetologia: Descomplicando os princípios ativos**. 3. ed. – São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2009.
- JARDIM, D. M; OLIVEIRA, K. A. M; OLIVEIRA, G. V. Avaliação in Vitro da Atividade Antibacteriana de Diferentes Própolis. **Blucher Food Science Proceedings**. v. 1. n. 1. 2014.
- MURRAY, P. R; ROSENTHAL, K. S; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.
- SAMPAIO, S. A. P; RIVITTI, E. A. **Dermatologia**. 3. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2007.
- SANTOS, F. H. P. et al. Avaliação Antibacteriana dos extratos hexânico e metanólico de Própolis Vermelha encontrada no município Barra De Santo Antônio/Al. **Ciências Biológicas e da Saúde**, Maceió. v. 2. n. 3. 2015.
- SILVA, A. C.C. et al. Sensibilidade de Agentes Bacterianos Patogênicos Frente à Ação Antibacteriana da Própolis. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**. Pernambuco, v.5. n. 1. 2015.



SILVA, A. M.F; COSTA, F. P; MOREIRA, M. Acne vulgar: diagnóstico e manejo pelo médico de família e comunidade. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**. Rio de Janeiro, 2014.

TORETI, V. C. et al. Recent Progress of Propolis for Its Biological and Chemical Compositions and Its Botanical Origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2013.