

AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DA GEOPRÓPOLIS DE *Melipona quadrifasciata* (*Lepeletier*)

**Rita T. da COSTA¹; Wallace R. CORRÊA²; Marcos J. SALVADOR³; Bruno M. R.
MELO⁴; Sheila C. do PRADO⁵**

RESUMO

Geoprópolis é uma própolis especial de abelha sem ferrão (*Meliponinae*) que apresenta grande variedade de constituintes químicos, tais como os flavonóides e ácidos fenólicos em sua composição, responsáveis por suas atividades farmacológicas. Assim este trabalho teve por objetivo a avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico da geoprópolis da *Melipona quadrifasciata* (*Lepeletier*), frente a linhagens de bactérias Gram-positivo e Gram-negativo. Para a realização do trabalho utilizou-se o método de microdiluição em placas de 96 poços. O extrato etanólico mostrou uma excelente atividade antimicrobiana com concentração biocida mínima entre 1.0 e 0.125 mg/mL. Desta forma pode-se concluir que o extrato etanólico da geoprópolis de *Melipona quadrifasciata* (*Lepeletier*), apresenta atividade antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

Geoprópolis é um tipo especial de própolis, preparado por abelhas sem ferrão (*Meliponinae*) e amplamente encontradas na região tropical e áreas subtropicais em todo o mundo (KERR, 1987).

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, email: rita_tassianath@hotmail.com;

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia/ UNICAMP, Campinas/SP, email: crwallace@bol.com.br;

³ Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia/ UNICAMP, Campinas/SP, email: marcosjs@unicamp.br;

⁴ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, email: bruno.melo@ifsuldeminas.edu.br

⁵ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, email: she_crisprado@hotmail.com.

Possui uma grande variedade de constituintes químicos em sua composição, todavia destacam-se como componentes majoritários os compostos fenólicos, tais como os flavonóides, ácidos fenólicos e ésteres de ácidos fenólicos (ALVES DE SOUZA *et al.*, 2013; BANKOVA *et al.*, 1998). Estes compostos são responsáveis pelas atividades biológicas apresentadas pela geoprópolis. Em análises farmacológicas da geoprópolis destacam-se diversas atividades como, antimicrobiana (LIBERIO *et al.*, 2011), antioxidante (ALVES DE SOUZA *et al.*, 2013), atividade antinociceptiva (FRANCHIN *et al.*, 2012) anti-inflamatória (FRANCHIN *et al.*, 2012), e antitumoral (DA CUNHA *et al.*, 2013).

Os meliponíneos, abelhas nativas, sociais e sem ferrão, ocupam grande parte das regiões de clima tropical no planeta, especialmente na América do Sul. No Brasil são conhecidas mais de 400 espécies de abelhas nativas, as quais são responsáveis em 90% pela polinização de vegetais nativos (KERR, 1987). A *Melipona* é um importante polinizador no Nordeste do Brasil, pois ela é endêmica dessa região. Algo que tem prejudicado muito essa espécie é o desmatamento e extração de madeira no local. Muitas pesquisas e estudos estão sendo aplicados em torno dessa espécie, para que assim ela possa ser conservada. (VIANA, *et al.*, 2013)

Apesar do grande número de meliponíneos no Brasil, encontramos um número muito pequeno de trabalhos sobre o potencial biológico da geoprópolis, assim, este trabalho visa avaliar a atividade antimicrobiana do extrato da geoprópolis da *Melipona quadrifasciata*, uma vez que se sabe que, de maneira em geral, a utilização de produtos naturais como adjuvante terapêutico é uma prática bastante antiga, e até o momento não encontramos na literatura muitos trabalhos sobre as atividades biológicas da geoprópolis da *Melipona quadrifasciata*, o que viabiliza a realização deste trabalho.

Ainda podemos destacar que dentre as diferentes patologias humanas, as infecções constituem um sério problema de saúde pública e, na grande maioria dos casos, microrganismos, como por exemplo, vírus, bactérias, fungos e parasitas, participam do processo. Não obstante aos níveis de incidência de doenças microbianas e a problemas como o aparecimento de cepas resistentes, baixa potência dos medicamentos existentes comercialmente, baixa solubilidade, necessidade de tratamento de longa duração e presença de efeitos adversos, no campo terapêutico a disponibilidade de agentes quimioterápicos efetivos para o tratamento é limitada (SOARES & CURY, 2001; BISIGNANO *et al.*, 1999; PUJOL *et al.*, 1996). Logo, estudos para a descoberta de novos agentes antibacterianos

são necessários, o que estimula a busca de novos quimioterápicos nos produtos naturais.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparação do extrato

A geoprópolis *in natura* foi coletada no IFSULDEMINAS - Câmpus Inconfidentes, Inconfidentes/MG. O Material foi acondicionado em recipiente térmico e encaminhado ao Laboratório de Biociências do mesmo Câmpus.

Para a preparação do extrato etanólico, a geoprópolis foi pulverizada e submetida ao processo de maceração com solvente orgânico (Etanol), na proporção massa de pó/solvente 1:20 (massa/volume), obtendo-se assim, o extrato bruto em etanol.

Análise antimicrobiana

Para a avaliação da atividade antimicrobiana, o ensaio biológico *in vitro* frente a bactérias (gram-positivas e gram-negativas). A avaliação foi determinada pelo método de microdiluição seguindo a adequação e metodologia como descrita por (SALVADOR, 2005).

As bactérias foram cultivadas em meio Müller Hinton em placas de 20 x 150 mm, 24 horas antes da inoculação nas placas. Para a montagem das placas utilizou-se 50 µL de meio TSB (*Tryptone Soya Broth*) em todos os poços, 50 µL da droga teste preparadas em propilenoglicol (1:19) nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg/mL. Cada poço recebeu um inoculo de 10 µL de suspensão de microrganismos, numa concentração de (5.10^6 ufc/mL) . Como controle positivo foi utilizado bacitracina 2,7 mg/mL e como controle negativo propilenoglicol/TSB (1:19).

As placas-testes foram mantidas à temperatura ambiente por cerca de 2 horas e depois incubadas a 37° C por cerca de 24 horas. Decorrido o período de incubação, cada poço recebeu um inóculo de 20 µL de tetrazólio. Após um novo período de incubação a 37°C por cerca de 24 horas, a leitura foi realizada visualmente comparando as amostras com os controles. Os experimentos foram realizados em duplicata, para cada cepa indicadora utilizada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração biocida mínima (MBC), obtido pelo método de microdiluição para o extrato etanólico da geoprópolis de *Melipona quadrifasciata* (Lepeletier), confirma a atividade antimicrobiana do extrato (Tabela 1). Os resultados mais eficazes foram frente às cepas bacterianas: *Enterococcus faecalis* (ATCC 10100) e *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341) com CBM de (0,125 mg/mL).

Tabela 1- Atividade antibacteriana do extrato etanólico da geoprópolis de *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Mandaçaia) expressa em termos de concentração biocida mínima, CBM (mg/mL), determinada pela técnica de microdiluição.

MICRORGANISMOS	Extrato Etanólico da Geoprópolis
	CBM (mg/mL)
<i>Bacillus subtilis</i> (Bs) b	0,500
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 10100) a	0,125
<i>Kocuria. rhizophila</i> (ATCC 9341) a	0,125
<i>Micrococcus luteus</i>	0,250
<i>Proteus vulgaris</i> (Pv) b	1,000
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 14458) a	0,250
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538) a	0,250
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (6ep) b	0,250
<i>Staphylococcus 8-</i>	0,500

CBM: concentração biocida mínima (mg/ml).

Em comparação com os inúmeros trabalhos desenvolvidos para estudar as atividades biológicas da própolis produzida pela *Apis mellifera*, existem poucos trabalhos investigando as atividades farmacológicas da geoprópolis. Assim o resultado deste trabalho apresenta um potencial promissor para futuras prospecções com a geoprópolis, uma vez que diversos ensaios prévios demonstraram o potencial antimicrobiano (LIBERIO *et al.*, 2011; DUAİLIBE *et al.*, 2007), antioxidante (ALVES DE SOUZA *et al.*, 2013), antinociceptiva (FRANCHIN

et al., 2012), anti-inflamatória (FRANCHIN *et al.*, 2012) e antitumoral (DA CUNHA *et al.*, 2013; CINEGAGLIA *et al.*, 2013) da geoprópolis de diversos meliponídeos.

CONCLUSÕES

Através desse trabalho foi possível comprovar que o extrato bruto etanólico da geoprópolis da *Melipona quadrifasciata* (Lepeletier) apresenta uma excelente atividade antimicrobiana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES DE SOUZA, Silvana *et al.* Composition and Antioxidant Activity of Geopropolis Collected by *Melipona subnitida* (Jandaíra) Bees. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

BANKOVA, V. *et al.* Constituents of Brazilian geopropolis. **Zeitschrift für Naturforschung. C. A journal of biosciences**, v. 53, n. 5-6, p. 402-406, 1998.

BISIGNANO, Giuseppe *et al.* On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 51, n. 8, p. 971-974, 1999.

CINEGAGLIA, Naiara Costa *et al.* Anticancer Effects of Geopropolis Produced by Stingless Bees on Canine Osteosarcoma Cells In Vitro. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

DA CUNHA, Marcos Guilherme *et al.* Antimicrobial and antiproliferative activities of stingless bee *Melipona scutellaris* geopropolis. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 13, n. 1, p. 23, 2013.

DUALIBE, Silvana Alves de Carvalho; GONÇALVES, Azizedite Guedes; AHID, Fernando Jorge Mendes. Effect of a propolis extract on *Streptococcus mutans* counts in vivo. **Journal of Applied Oral Science**, v. 15, n. 5, p. 420-423, 2007.

FRANCHIN, Marcelo *et al.* Bioactive fraction of *Melipona scutellaris* geopropolis decreases neutrophils migration in inflammatory process: involvement of nitric oxide pathway. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.

KERR, W. E. Abelhas indígenas brasileiras (meliponíneos) na polinização e na produção de mel, pólen, geoprópolis e cera. **Informe Agropecuario**, v. 13, p. 15-22, 1987.

LIBERIO, Silvana A. *et al.* Antimicrobial activity against oral pathogens and immunomodulatory effects and toxicity of geopropolis produced by the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 11, n. 1, p. 108, 2011.

PUJOL, I. *et al.* Comparison study of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests for the filamentous fungi. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 40, n. 9, p. 2106-2110, 1996.

SALVADOR, M.J. Estudo químico, biológico e biotecnológico de *Alternanthera maritima* e *Alternanthera tenella* (Gomphreneae, Amaranthaceae). 2005. 410p. Doutorado (Doutorado em Ciências - Área Química), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SOARES, Maria Magali Stelato Rocha; CURY, Arlete Emily. In vitro activity of antifungal and antiseptic agents against dermatophyte isolates from patients with tinea pedis. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 32, n. 2, p. 130-134, 2001.

VIANA, J. L. *et al.* Genetic variability in *Melipona scutellaris* from Reconcavo, Bahia, Brazil. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 12, n. 3, p. 3444-3454, 2012.