

## OCORRÊNCIA DE SUBSTÂNCIAS ANTI-MICROBIANAS EM PRODUTOS DE ALGUNS INSETOS SOCIAIS

J. LÚCIO DE AZEVEDO — CARLOS H. W. FLECHTMANN

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Universidade de S. Paulo — Piracicaba

LUIZ GONZAGA DO PRADO FILHO

Instituto Zimotécnico, Universidade de S. Paulo, Piracicaba

### INTRODUÇÃO

Desde há muito tempo o própolis, bem como outros produtos da colméia, têm sido usados na medicina popular na cura de infecções da pele. Mais recentemente foram estudadas as propriedades biológicas de vários produtos das abelhas, entre os quais o própolis. LAVIE (1958) chamou a atenção para o fato de que a colônia de abelhas, onde há um frequente contato e uma distribuição de alimento entre os seus membros, oferece condições muito favoráveis ao desenvolvimento de infecções se não houvesse a presença de antibióticos. O autor isolou substâncias antibióticas de abelhas, cera (isenta de pólen, mel e cria), pólen, mel e geléia real. FEUEREISL & KRAUS (1958) chegaram à conclusão que o própolis de abelhas melíferas possui uma ou mais substâncias que inibem, *in vitro*, o crescimento de *Mycobacterium tuberculosis*. KIVALKINA (1959) verificou que própolis de diferentes regiões têm ação bactericida diversa. Ensaiou, *in vitro*, a ação do própolis sobre bactérias de desinteria, tuberculose e *Leptospirae*. SAVINA & ROMANOV (1956) prepararam pomadas à base de própolis para uso em abcessos da pele. MUKHAMEDIYAROV (1959) fez tratamentos de neurodermatites e streptodermatites com pomadas feitas com própolis. IOIRISCH (1959) usou pomadas de própolis em infecções causadas por *Bacillus necrophorus* que ataca o gado.

O presente trabalho teve a finalidade de verificar a ocorrência de substâncias antibióticas em própolis de *Apis mellifera* L., obtido nas nossas condições (Apidae, Hymenoptera). Ensaíamos também a ocorrência de ação antimicrobiana em produtos de *Trigona (Trigona) ruficus* Latr., *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latr. (Meliponidae, Hymenoptera) e *Cornitermes* sp. (Termitidae, Isoptera).

### MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado própolis de *Apis mellifera* L. de 3 regiões do Estado de São Paulo: Piracicaba, Rio Claro e Atibaia.

De *Trigona (T.) ruficus* Latr. foi usado o cerumen (favo sem cria) e o invólucro da cria. De *Trigona (S.) postica* Latr. usamos o cerumen (favo sem cria) e própolis, e de *Cornitermes* sp. usamos a parte interna, celulósica, do termiteiro, materiais estes todos provenientes da região de Piracicaba.

O método adotado de pesquisa de antimicrobianos não voláteis foi o de GONÇALVES DE LIMA & al. (1959), que consiste em por em maceração, durante 24 horas com agitação, o material triturado com um dos solventes: água, metanol e acetona, na relação 1:5 (pêso/volume), à temperatura ambiente e na obscuridade. O material assim tratado é, a seguir, filtrado e o extrato assim obtido é provado pelo método do disco de papel de filtro, sobre culturas de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium smegmatis* e *Candida albicans*. Os discos de papel utilizados medem 15 mm de diâmetro e embebem cerca de 0,14 ml. Os halos de inibição são expressos em milímetros, e a leitura é feita 24 horas após a incubação a 37°C.

### RESULTADOS

Quadro I — Halos de inibição obtidos de extratos de própolis de *A. mellifera* L. da região de Piracicaba; diâmetro em milímetros (resultados de 3 repetições)

	acetônico	metanólico	aquoso
<i>B. subtilis</i>	25 — 26 — 26	50 — 75 — 48	22 — 22 — 23
<i>E. coli</i>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<i>S. aureus</i>	24 — 22 — 23	30 — 27 — 26	21 — 21 — 19
<i>C. albicans</i>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<i>M. smegmatis</i>	22 — 24 — 25	55 — 37 — 28	22 — 21 — 20

Quadro II — Halos de inibição obtidos de extratos de própolis de *A. mellifera* L. da região de Rio Claro; diâmetro em milímetros (resultados de 3 repetições)

	acetônico	metanólico	aquoso
<i>B. subtilis</i>	22 — 22 — 23	27 — 27 — 26	16 — 17 — 16
<i>E. coli</i>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<i>S. aureus</i>	21 — 22 — 20	22 — 21 — 19	16 — 16 — 16
<i>C. albicans</i>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<i>M. smegmatis</i>	22 — 21 — 19	24 — 22 — 21	16 — 16 — 16

Quadro III — Halos de inibição obtidos de extratos de própolis de *A. mellifera* L. da região de Atibaia; diâmetro em milímetros (resultados de 3 repetições)

	acetônico	metanólico	aquoso
<i>B. subtilis</i>	35 — 25 — 35	40 — 35 — 55	16 — 16 — 16
<i>E. coli</i>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<i>S. aureus</i>	30 — 25 — 27	40 — 45 — 30	16 — 15 — 17
<i>C. albicans</i>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<i>M. smegmatis</i>	25 — 35 — 37	65 — 60 — 45	16 — 16 — 16

Quadro IV — Halos de inibição obtidos de extratos de invólucro da cria de *Trigona (T.) ruficus* Latr.; diâmetro em milímetros (resultados de 3 repetições)

	acetônico	metanólico	aquoso
<i>B. subtilis</i>	22 — 30 — 22	25 — 27 — 27	15 — 15 — 15
<i>E. coli</i>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<i>S. aureus</i>	20 — 23 — 21	20 — 23 — 22	15 — 15 — 15
<i>C. albicans</i>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<i>M. smegmatis</i>	26 — 27 — 25	26 — 34 — 28	15 — 15 — 15

Quadro V — Halos de inibição obtidos de extratos de cerumen de *Trigona (T.) ruficus* Latr.; diâmetro em milímetros (resultados de 3 repetições)

	acetônico	metanólico	aquoso
<i>B. subtilis</i>	16 — 16 — 16	24 — 20 — 23	15 — 15 — 15
<i>E. coli</i>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<i>S. aureus</i>	16 — 17 — 16	16 — 16 — 15	15 — 15 — 15
<i>C. albicans</i>	15 — 15 — 15	20 — 21 — 20	15 — 15 — 15
<i>M. smegmatis</i>	16 — 16 — 16	52 — 21 — 40	15 — 15 — 15

Quadro VI — Halos de inibição obtidos de extratos de própolis de *Trigona (S.) postica* Latr.; diâmetro em milímetros (resultados de 3 repetições)

	acetônico	metanólico	aquoso
<b>B. subtilis</b>	17 — 17 — 17	18 — 19 — 18	15 — 15 — 15
<b>E. coli</b>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<b>S. aureus</b>	20 — 21 — 21	26 — 24 — 23	15 — 15 — 15
<b>C. albicans</b>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<b>M. smegmatis</b>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15

Quadro VII — Halos de inibição obtidos de extratos de cerumen de *Trigona (S.) postica* Latr.; diâmetro em milímetros (resultados de 3 repetições)

	acetônico	metanólico	aquoso
<b>B. subtilis</b>	25 — 21 — 21	21 — 18 — 22	15 — 15 — 15
<b>E. coli</b>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<b>S. aureus</b>	16 — 15 — 15	17 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<b>C. albicans</b>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<b>M. smegmatis</b>	17 — 16 — 15	18 — 16 — 18	15 — 15 — 15

Quadro VIII — Halos de inibição obtidos de extratos de ninho de *Cornitermes* sp., diâmetro em milímetros (resultados de 3 repetições)

	acetônico	metanólico	aquoso
<b>B. subtilis</b>	16 — 16 — 16	17 — 17 — 21	15 — 15 — 15
<b>E. coli</b>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<b>S. aureus</b>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<b>C. albicans</b>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15
<b>M. smegmatis</b>	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15	15 — 15 — 15

INTERPRETAÇÃO E DISCUSSÃO DOS  
RESULTADOS E CONCLUSÕES

Pela observação dos quadros I, II e III, as nossas amostras de própolis de *Apis mellifera* L. também apresentam atividade antimicrobiana. Tal atividade parece variar de intensidade de acordo com a região de procedência do material, concordando, portanto, com a afirmação de KIVALKINA (1959). Nas 3 amostras estudadas verifica-se que o extrato metanólico apresenta maior atividade antimicrobiana, seguindo-se o extrato acetônico e, por último, o extrato aquoso. Todos os extratos inibiram *B. subtilis*, *M. smegmatis* e *S. aureus* (vide figuras 1, 2 e 3). Não houve, em nenhum dos casos, inibição de *E. coli* e *C. albicans*.

Dos quadros IV e V verifica-se que o invólucro e cerumen da *Trigona (T.) ruficus* Latr., também apresentam substâncias antimicrobianas. Também neste caso o extrato metanólico foi mais ativo do que o acetônico, enquanto que o extrato aquoso não apresentou atividade inibitória. Tanto os extratos do invólucro quanto os do cerumen inibiram o crescimento de *B. subtilis*, *M. smegmatis* e *S. aureus*, tendo-se observado ainda que o extrato metanólico do cerumen inibiu ainda o desenvolvimento de *C. albicans*. Estes resultados sugerem que possivelmente a substância antimicrobiana encontrada no cerumen de *Trigona (T.) ruficus* Latr., seja diferente daquela existente no invólucro.

Dos quadros VI e VII verifica-se que o própolis e o cerumen de *Trigona (S.) postica* Latr. apresentam igualmente substâncias antimicrobianas que foram, como no caso anterior, extraídas apenas por metanol e acetona. O extrato metanólico e acetônico apresentam atividade muito semelhante. Os extratos de própolis inibiram *B. subtilis* e *S. aureus*, e os extratos do cerumen inibiram, além das duas bactérias citadas, o *M. smegmatis* o que também sugere que a substância anti-microbiana do própolis seja diferente daquela contida no cerumen.

Finalmente, o quadro VIII mostra que a parte interna, celulósica do termiteiro de *Cornitermes* sp. apresenta uma substância antimicrobiana cujos extratos metanólico e acetônico inibem o crescimento de *B. subtilis*.

Convém chamar a atenção para o fato de que os extratos de própolis de *A. mellifera* L. apresentam halos de inibição superiores aos de todas as outras substâncias analisadas.

Como o método do disco de papel de filtro é usado apenas para provas qualitativas, dando uma idéia aproximada da quantidade de substância antimicrobiana, não foi feita a análise estatística dos nossos resultados.

### RESUMO

—Foi estudada a ocorrência de substância antimicrobiana em própolis de *Apis mellifera* L.; invólucro e cerumen de *Trigona (T.) ruficus* Latr.; própolis e cerumen de *Trigona (S.) postica* Latr.; e a parte interna, celulósica, de termiteiro de *Cornitermes* sp. Usou-se o método de extração de antimicrobianos não voláteis com os solventes: acetona, metanol e água. Estes extratos foram ensaiados sobre culturas de *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* e *M. smegmatis*. Em todos os materiais examinados constatou-se a presença de tais substâncias, revelando-se o metanol como o mais eficiente dos solventes usados na extração das mesmas. O extrato de própolis de *A. mellifera* L. foi o mais ativo nos microrganismos ensaiados.

### ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden die wachstumshemmenden Wirkungen von Bienenkittharz, von der Wabenhuelle und Wachs ("cerumen") der *Trigona (T.) ruficus* Latr. von Kittharz und Wachs ("cerumen") der *Trigona (S.) postica* Latr., und von dem inneren, zellulosischem, Teil des Nestes von *Cornitermes* sp. auf einige Microorganismen untersucht. Die nicht volatilen wachstumshemmenden Stoffe wurden mit Azeton, Metanol und Wasser extrahiert. Diese Extrakte wurden auf Kulturen von *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* und *M. smegmatis* geprueft. Aus den Versuchen schliessen wir das all die Produkte einen oder mehrere Stoffe enthalten die bakteriostatische Wirkung haben. Der metanolische Extrakt erwies sich, in allen Faellen, als der beste. Der Bienenkittharzextrakt ist bakteriostatisch am wirksamsten, und der von *Cornitermes* sp. am wenigsten.

## AGRADECIMENTO

Queremos agradecer ao Dr. F. A. M. MARICONI, pela determinação da espécie *Trigona (T.) ruficus* Latr..

Deixamos também nossos agradecimentos ao Dr. ERICO AMARAL, pelas valiosas sugestões apresentadas no decorrer do trabalho.

## LITERATURA CITADA

FEUEREISL, R. & P. KRAUS, 1958 — Die tuberkulostatischen Eigenschaften des Bienekittharzes. **XVII Int. beekkep. Congr.** 8 pp.

GONÇALVES DE LIMA, O., M. M. ALBUQUERQUE & M. H. MAIA, 1959 — Substâncias antimicrobianas em plantas superiores. Comunicação XIV. Ocorrência de antibióticos em madeiras de lei do Brasil. **Rev. do Inst. de Antibióticos da Univ. do Recife** 2 (1/2): 19-51.

IOIRISCH, N. P., 1959 — The use of propolis in medicine. **Pchelovodstvo** 36 (2): 56-57. (apud **Bee World** 42 (8): 221, 1961).

KIVALINKINA, V. P., 1959 — Bactericidal action of propolis. **Pchelovodstvo** 36 (10): 50-52 (apud **Bee World** 42 (8): 220, 1961).

LAVIE, P., 1958 — Antibiotiques dans l'abeille et les produits de la ruche. **XVII Int. beekkep. Congr.** (apud **Bee World** 39 (12): 323, 1958).

MUKHAMEDIYAROV, G. Z., 1959 — Treatment of some skin diseases by propolis. **Pchelovodstvo** 36 (10): 52-53 (apud **Bee World** 42 (8): 220, 1961).

SAVINA, K. A. & F. T. ROMANOV, 1956 — Propolis as a medicinal remedy. **Pchelovodstvo** 33 (8): 59-60 (apud **Bee World** 39 (4): 105, 1958).

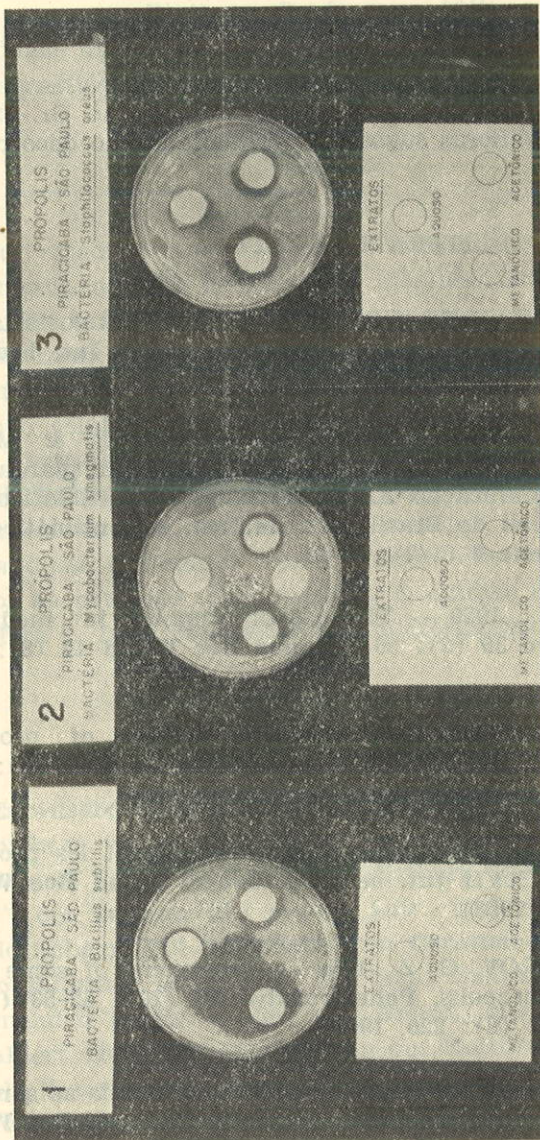


Fig. 1 - Halos de inibição. Placa com *B. subtilis*; fig. 2 - halos de inibição. Placa com *M. smegmatis*. O disco sem halo ao redor representa o controle (só solventes); fig. 3 - halos de inibição. Placa com *S. aureus*.