

Sensibilidade de Agentes Bacterianos Patogênicos Frente à Ação Antibacteriana da Própolis

Agents sensitivity Bacterial Pathogens Front Antibacterial Action of Propolis

Ana Cláudia Cavalcante Silva¹, Fernando da Silva Ricarte², Antônio Vitor Machado³,
Rubenia de Oliveira Costa⁴.

RESUMO – As propriedades biológicas da própolis são amplamente relatadas sendo comuns variações nas mesmas em função da região onde foram produzidas. A ação antimicrobiana de própolis tem sido investigada sobre linhagens isoladas de infecções clínicas humanas, a exemplo dos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus sp*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. Os resultados mostram maior sensibilidade das bactérias Gram positivas e levedura em relação às Gram negativas. É possível concluir que, para os microrganismos estudados e amostras de própolis testadas em diferentes estudos, há diferenças na atividade antimicrobiana em função do local de produção e que isso se explica pela diferença de composição química da própolis.

Palavras-chave: Antimicrobiana, Infecções, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT - The biological properties of própolis is widely reported common variations in the same depending on the region where they were produced. The antimicrobial activity of própolis has been investigated on isolated strains from human clinical infections, like the *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus spp*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. The results show a greater sensitivity of Gram positive bacteria and yeast in respect of Gram negative bacteria. It was concluded that, for microorganisms studied and própolis samples tested in different studies, there are differences in antimicrobial activity according to the place of production and that this is explained by the difference in chemical composition of própolis.

Keywords: Antimicrobial , Infections , *Staphylococcus aureus*.

*Autor para correspondência

Recebido em 11/06/2015 e aceito em 14/07/2015.

¹* Mestranda em Sistemas Agroindustriais – UFCG – Universidade Federal de Campina Grande – Campus Pombal. E-mail: anaclaudia-enf@hotmail.com.

² Mestrando em Sistemas Agroindustriais – UFCG – Universidade Federal de Campina Grande – Campus Pombal. E-mail: femandoricarte@hotmail.com.

³ Dr. Sc., Professor Adjunto da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró-RN. E-mail: machadoav@ufersa.edu.br

⁴ Mestranda em Sistemas Agroindustriais – UFCG – Universidade Federal de Campina Grande – Campus Pombal. E-mail: rubeniaadm@gmail.com

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem-se verificado um crescente interesse pela medicina popular com a utilização de produtos naturais, tanto de origem vegetal como animal, são utilizados e preferencialmente escolhidos pelo homem para fins medicinais. Entre estes produtos, a própolis, proveniente das abelhas da espécie *Apis mellifera*, apresenta grande aceitação devido a suas propriedades terapêuticas.

Citada desde a antiguidade, a própolis já era utilizada e considerada por alguns povos como medicamento para moléstias cutâneas. No final do século XIX, foi empregada como cicatrizante, sendo posteriormente utilizada na Segunda Guerra Mundial em diversas clínicas soviéticas (PARK, 1998).

A própolis é um material resinoso complexo composto por substâncias gomosas e balsâmicas, colhidas por abelhas melíferas de brotos, flores e exsudados de plantas ou de outras partes do tecido vegetal, as quais são transportadas até a colmeia para terem sua composição modificada, por meio do acréscimo de secreções salivares das abelhas, ceras, pólen para obtenção do produto final (BRASIL, 2001; GHISALBERTI, 1979; PINTO *et al.*, 2001).

Ao longo dos anos, a literatura científica vem relatando as propriedades farmacológicas da própolis de interesse médico e farmacêuticas, podendo se destacar as atividades bacteriostática e bactericida, fungistática e fungicida, virustática e virucida, antioxidante, antitumoral, cicatrizante, reparadora tissular, anestésica, contra parasitas intestinais e sanguíneos, antimutagênica e contra doenças cardiovasculares e respiratórias (FONTANA *et al.*, 2004; GARCIA *et al.*, 2004; POTIN *et al.*, 2008).

As propriedades biológicas deste produto estão diretamente ligadas à sua composição química, sendo esta bastante complexa e variada, e este, possivelmente se mostra como principal entrava para sua aplicação na terapêutica, tendo em vista que sua composição química, propriedades físicas e biológicas variam com a biodiversidade da flora de cada região visitada pelas abelhas, com o período de coleta da resina e com a variabilidade genética das abelhas (PARK *et al.*, 2002).

Os estudos sobre as propriedades antibióticas da própolis têm sido conduzidas sobre tudo nas áreas médicas e veterinária, nas quais o produto tem demonstrado uma eficiente atividade em relação aos diversos tipos de bactérias, sendo as gram-positivas mais sensíveis aos extratos de própolis que as gram-negativas (PINTO *et al.*, 2001).

Diante do exposto, este trabalho objetivou-se em evidenciar a partir de uma revisão literária as principais bactérias de importância médica sensíveis à ação da própolis.

CARACTERIZAÇÃO DA PRÓPOLIS E SEUS PRINCIPAIS CONSTITUINTES TERAPÊUTICOS

A palavra própolis é derivada do grego *pro-*, em defesa, e *polis-*, cidade ou comunidade, isto é, em

defesa da comunidade (PEREIRA *et al.*, 2002). A própolis é produzida pelas abelhas para as mais diversas funções na colmeia, como: preenchimento de frestas, diminuição de aberturas de entrada e saída da colmeia, mumificação de cadáveres de insetos, impedimento de sua decomposição e putrefação.

É utilizada ainda, para cobrir as paredes internas da colmeia e interior das células para defendê-las dos microrganismos, além de reparar os favos estragados e consolidar os favos móveis (GHISALBERTI, 1979).

A própolis apresenta cor variável: amarelada, esverdeada clara ou parda escura de acordo com a origem botânica, sabor de suave balsâmico a forte, amargo e picante e sua consistência varia do maleável a ligeiramente rígida, quando em temperatura ambiente e rígida em temperaturas abaixo de 20°C (PINTO *et al.*, 2001).

Sua composição química e as atividades biológicas dependem dos aspectos ambientais como, por exemplo, pluviosidade, variações de temperatura e pasto apícola. A alteração do pasto apícola, bem como as mudanças climáticas que ocorrem durante o ano, pode modificar o produto natural em sua composição química, dificultando a padronização do mesmo para comercialização. Com relação à variação sazonal, a diminuição em alguns componentes biologicamente ativos pode ser acompanhada pelo aumento de outros (NUNES *et al.*, 2009).

Estudos que abordam o efeito da sazonalidade são muito importantes para a caracterização da matéria-prima de uma determinada região, uma vez que questões climáticas também se diferenciam em função da região onde o produto natural é obtido (SIMOES-AMBROSIO *et al.*, 2010).

De acordo com a região geográfica de origem, as propriedades biológicas e a vegetação de onde foi extraída, a própolis brasileira foi classificada em diferentes tipos. Dentre estas, está à própolis verde que é considerada a mais valorizada em todo o mundo e a própolis vermelha descoberta recentemente em colmeias localizadas ao longo do mar e costas de rios no nordeste brasileiro, considerada uma nova variedade (SOUSA, 2007; DAUGSCH *et al.*, 2007). A própolis vermelha possui composição química distinta da própolis verde e das outras própolis estudadas até o momento.

De acordo com Simões *et al.*, (2004), a própolis verde brasileira, produzida em São Paulo e Minas Gerais são constituídas principalmente de derivados prenizados do ácido *p*-cumárico e possui grande quantidade de flavonóides, muitos dos quais não estão presentes em própolis da Europa, América do Norte e Ásia.

Estudos afirmam que foi encontrada uma própolis vermelha em colmeias localizadas ao longo do mar e costas de rios no nordeste brasileiro a qual foi classificada como própolis do grupo 13 (DAUGSCH *et al.*, 2006). Foi observado que as abelhas coletavam o exudato vermelho da superfície da *Dalbergia ecastophyllum* (L) Taub. (DONNELLY *et al.*, 1973; MATOS *et al.*, 1975), sugerindo que essa é a origem botânica da própolis vermelha.(art 9).

A composição química da própolis inclui flavonóides (como a galangina, quercetina, inoembrina e kaempferol), ácidos aromáticos e ésteres, aldeídos e cetonas, terpenóides e fenilpropanóides (como os ácidos caféico e clorogênico), esteróides, aminoácidos, polissacarídeos, hidrocarbonetos,

ácidos graxos e vários outros compostos em pequenas quantidades. Há também na sua constituição elementos inorgânicos como o cobre, manganês, ferro, cálcio, alumínio, vanádio e silício (MARCUCCI, 1996).

O mesmo autor afirma ainda, que de todos esses grupos de compostos, certamente o que vem chamando mais atenção dos pesquisadores é o dos flavonóides. A eles, bem como aos ácidos fenólicos, são atribuídas às propriedades antibacteriana, antiviral e antioxidante.

Muitos pesquisadores relataram que o potencial biológico da própolis se deve a um sinergismo que ocorre entre os muitos constituintes, observou-se esse sinergismo que ocorre no estudo de várias frações de um extrato etanólico de própolis (EEP). Estes resultados indicam que o potencial antibacteriano da própolis não é devido à presença de uma substância em particular, mas, resultante de uma ação complexa de vários compostos (KROL *et al.*, 1993).

Um grande problema desta, bem como os outros produtos originários das abelhas (mel, geleia real e cera) a composição é variável de acordo com a flora e as condições sazonais de uma dada área, o tempo da coleta e contaminantes. Sendo ainda considerado um entrave, definir qual o tipo de própolis indicada para uso medicinal, pois a qualidade do produto varia grandemente. Embora a padronização seja possível, em princípio, testes químicos exatos ainda não foram aplicados na prática como controle de qualidade. O problema do controle de qualidade foi comprovado em países onde produtos à base de própolis são comercializados (MARCUCCI, 1996).

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA PRÓPOLIS

Dentre as funções terapêuticas da própolis, a atividade antimicrobiana tem se destacado, em relação às demais propriedades biológicas, embora, seja consenso entre os autores a atividade limitada da própolis contra bactérias gram negativas, sendo esta mais ativa contra bactérias gram positivas (GARCIA *et al.*, 2004a).

Uzel *et al.*, (2005), pesquisando a composição química e atividade antimicrobiana de quatro diferentes amostras de própolis, observaram uma provável inibição da enzima RNA polimerase bacteriana, acionada pelo ácido caféico.

Scazzocchio *et al.*, (2006), também corroboram com a ideia de que o ácido caféico alterem a estrutura da célula bacteriana, além de outros como ácido benzóico e ácido cinâmico. O efeito da própolis para determinados gêneros de bactérias tem se revelado altamente inibitório, contra bactérias gram positivas como, por exemplo, *S. aureus*, *Streptococcus faecalis*. Esta é parcialmente efetiva ou inativa em relação a grupos gram negativos como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (GRANGE & DAVEY, 1990; MARCUCCI *et al.*, 2001).

Goulart (1995), em seu estudo, testou um extrato etanólico de própolis do Estado da Bahia, frente a bactérias isoladas de processos infecciosos de animais, observando a sensibilidade em *Corynebacterium pyogenes* e *S. aureus* (gram-positivas), e resistência em

P. aeruginosa e *Proteus mirabilis* (gram-negativas). Embora se tenha conhecimento da complexidade química, menor rigidez e maior teor lipídico da parede celular de bactérias gram-negativas, mas ainda não se sabe com certeza o porquê da menor atividade dos extratos de própolis contra estas bactérias (VARGAS *et al.*, 2004).

SENSIBILIDADE DOS MICROORGANISMOS DIANTE DA AÇÃO DA PRÓPOLIS

O uso indiscriminado e prolongado de antimicrobianos químicos sintéticos tem levado à seleção de microrganismos patogênicos mutantes resistentes a esses compostos, tornando o uso de antimicrobianos de origem natural uma alternativa eficaz e econômica (CRISAN *et al.*, 1995). O problema da resistência microbiana é crescente e a perspectiva de uso de drogas antimicrobianas no futuro é incerta. Portanto, devem ser tomadas atitudes que possam reduzir este problema como, por exemplo, controlar o uso de antibióticos, desenvolver pesquisas para melhor compreensão dos mecanismos genéticos de resistência e continuar o estudo de desenvolvimento de novas drogas, tanto sintéticas como naturais (NASCIMENTO *et al.*, 2000).

As universidades, juntamente com as principais indústrias farmacêuticas, têm concentrado esforços em isolar e identificar novos compostos com propriedades antimicrobianas, como uma emergência da resposta à resistência bacteriana (TAYLOR *et al.*, 2002). Os produtos naturais são fontes valiosas para o desenvolvimento de novos compostos medicinais (NEWMAN *et al.*, 2000).

Os flavonóides provenientes de produtos naturais, originais ou com suas estruturas alteradas, apresenta-se como uma das principais classes de compostos que podem ser utilizados como agentes terapêuticos (CUSHINE e LAMB, 2005). Estes compostos permitem a descoberta de agentes naturais para tratar imunodeficiências, doenças infecciosas, câncer entre outras (CLARDY e WALSH, 2004). De acordo com Pereira *et al.*, (2002), os flavonóides dentre outros, constituem a própolis.

A própolis por sua vez, é uma importante alternativa terapêutica do ponto de vista econômico e eficácia farmacológica por ser de fácil obtenção e apresentar inúmeras propriedades farmacêuticas. (SOARES *et al.*, 2006; TAVARES *et al.*, 2006).

Dentre estas, está comprovada a ação antimicrobiana frente a vários agentes etiológicos, por exemplo, bactérias Gram positivas como *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* e Gram negativas *Escherichia coli* (PACKER; LUZ, 2007) e leveduras, sobretudo *Candida albicans* (FERNANDES *et al.*, 1995; DE CASTRO, 2001, OLIVEIRA *et al.*, 2006). Atualmente, há estudos sobre a própolis nas mais diversas áreas, desde a caracterização da droga (FRANCO *et al.*, 2000; BRUSCHI *et al.*, 2003) e otimização dos processos de extração (FRANCO; BUENO, 1999) até controle de qualidade (SOUSA *et al.*, 2007).

Em estudo realizado por Mirzoeva *et al.*, (1997), verificaram que a própolis apresentou atividade antimicrobiana contra isolado de bactéria gram-negativa, relatando que a atividade da própolis depende de cada espécie de bactéria, possivelmente devido a variações na composição de porinas e lipopolissacarídeos, constituintes da membrana externa. O equilíbrio do potencial de membrana é

essencial para as bactérias, pois é através dela que ocorre o transporte de nutrientes entre o meio externo e o interno, a síntese de ATP e a motilidade. Neste mesmo trabalho, os constituintes da própolis como o Éster Fenil do Ácido Caféico (CAPE) foram examinados separadamente sendo constatado como o inibidor de motilidade mais potente na concentração de 20µM, seguido por quercentina, naringerina e ácido caféico. A motilidade é um importante fator de virulência, por guiar as bactérias aos seus sítios de aderência e invasão no hospedeiro, podendo assim a ação dos componentes da própolis, inibir a patogenicidade bacteriana, e o desenvolvimento de infecções.

Orsi *et al.*, (2005) estudaram os extratos alcoólicos de própolis de duas regiões brasileiras, Mossoró-RN e Urubici-SC, frente a isolados de *Salmonella* spp. e verificaram ação antimicrobiana após 24 horas de incubação para os dois tipos de extratos. Concluíram que a melhor ação foi do extrato de Mossoró-RN e que a própolis, dependendo de sua região geográfica, possui atividade contra bactérias gram-negativas. Dois anos depois em novo estudo, Orsi, *et al.*, (2007), demonstraram ação antimicrobiana para todos os sorovares testados de *Salmonella* spp., utilizando extrato alcoólico de própolis brasileira e búlgara. Observaram ações similares entre as própolis dos dois países e uma maior sensibilidade da *S. enteritidis* isolada de alimentos, do que da *S. typhimurium*, isoladas de infecção humana.

De acordo com Takaisi-Kikuni & Schilcher (1994), estudando a ação da própolis sobre *Streptococcus agalactiae*, através de micro-calometria e microscopia eletrônica concluíram que há uma complexidade da ação da própolis sobre a bactéria. A mesma causou a divisão celular, através da lise, desorganizou a parede, a membrana citoplasmática e o citoplasma da célula, inibindo assim a síntese protéica, consequentemente o desenvolvimento bacteriano.

Vargas *et al.*, (2004), trabalhando com a própolis de apiários comerciais da cidade de Santa Maria-RS, encontraram 100% de sensibilidade com o isolado de *Nocardia asteroides*, 97,83% para *Staphylococcus* spp., 80,95% para *Streptococcus* spp., 80% para *Rhodococcus equi* e 72,41% para *P. aeruginosa*, sendo esse o maior percentual entre as bactérias gram-negativas testadas.

Langoni *et al.*, (1996), por sua vez, estudando o efeito antimicrobiano *in vitro* de própolis, observaram uma sensibilidade de 100% para os isolados de *S. aureus*, *Corynebacterium* spp., *C. albicans*, *Enterobacter aerogenes*, além de 91% para *E. coli*, 90% *S. agalactiae*, 87,5% para *Klebsiella pneumoniae*, 85,7% *P. aeruginosa* e 81,3% para *Salmonella* spp.

Sforcin *et al.*, (2005) avaliaram o efeito de um extrato etanólico de própolis, coletada no estado de São Paulo, de acordo com a estação do ano em que ocorreu a coleta. Avaliou-se a ação antimicrobiana contra 15 cepas de *S. aureus*, cinco cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, cinco de *E. coli* e cinco de *Salmonella typhimurium*. As amostras de própolis de cada estação ao ano foram testadas nas concentrações que variaram

de 0,4 a 14,0%. As cepas de *S. aureus* foram suscetíveis às concentrações mais baixas do extrato, obtendo-se 90% de inibição do crescimento em uma concentração de 0,6% do extrato etanólico de própolis. As bactérias Gram-negativas (*P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. typhimurium*) foram mais resistentes ao extrato, havendo inibição de 90% do crescimento em concentrações acima de 5%. E não houve diferença estatística na concentração inibitória mínima dos extratos etanólicos das amostras de própolis coletadas em diferentes estações do ano.

Loguercio *et al.*, (2006), avaliando a atividade *in vitro* do extrato de própolis contra agentes bacterianos da mastite bovina concluíram que 94,4% dos *Staphylococcus* spp. e 85,2% dos *Streptococcus* spp. estudados foram susceptíveis ao extrato alcoólico de própolis.

As amostras de própolis testadas frente a *S. aureus*, *B. subtilis* e *E. coli* por Bonvehi *et al.*, (1994), que ao estudarem os componentes ativos e a atividade bacteriostática de própolis, obtiveram uma maior Concentração Inibitória Mínima (CIM) do que a tetraciclina.

Shub *et al.*, (1981) pesquisaram combinações dos antibióticos, benzilpenicilina, tetraciclina e eritromicina com própolis sobre cepas de *Staphylococcus* spp.. Estes autores concluíram que as bactérias foram resistentes aos antibióticos e sensíveis à própolis, e que não houve efeito sinérgico entre própolis e as drogas antimicrobianas.

Vargas *et al.*, (2004) avaliaram a ação antibacteriana *in vitro* da própolis, obtida de apiários comerciais da região de Santa Maria, no estado do Rio Grande do Sul, em solução alcoólica a 50% sobre 161 isolados bacterianos, 81 Gram-positivos (46 de *Staphylococcus* spp., 21 de *Streptococcus* spp., cinco de *Rhodococcus equi* e nove de *Nocardia asteroides*) e 80 Gram-negativos (29 de *Pseudomonas aeruginosa*, nove de *Proteus mirabilis*, 22 de *Salmonella* spp. e 20 de *E. coli*). Do total de amostras analisadas, 109 foram sensíveis ao extrato de própolis, sendo 75 Gram-positivas e 34 Gram-negativas. Dentre as amostras Gram-positivas, a *N. asteroides* apresentou 100% de sensibilidade, seguida por *Staphylococcus* spp. (97,83%), *Streptococcus* spp. (80,95%) e *R. equi* (80%). As bactérias Gram-negativas testadas mostraram-se mais resistentes ao extrato de própolis do que as Gram-positivas. *P. aeruginosa* foi a Gram-negativa que apresentou maior sensibilidade ao extrato (72,41%), seguida por *P. mirabilis* (33,30%), *E. coli* (25%) e *Salmonella* spp. (22,72%).

Vargas *et al.*, (2004), observaram ainda resultados positivos em 100% das infecções por *Cândida albicans*, 85% por *Escherichia coli*, 91% por *Staphylococcus* sp. e 84,3% por *Streptococcus* sp. Concluíram que a própolis foi eficaz em casos clínicos que apresentavam resistência a antimicrobianos comerciais.

A atividade antibacteriana da própolis frente a bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* e *Enterococcus faecalis*) é maior quando comparada a gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*) (MARCUCCI *et al.*, 2001; LU *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2006; PACKER e LUZ, 2007). A própolis foi efetiva frente a várias linhagens de bactérias gram positivas: *Bacillus brevis*, *B. cereus*, *B. megatherium*, *B. polymyxa*, *B. pumilus*, *B. sphaericus*, *B. subtilis*, *Cellulomas funi*, *Nocardia globerula*, *Leuconostoe mesenteroides*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Sarcina lútea*; e gram negativas:

Aerobacter aerogenes, *Alcaligenes sp.*, *Bordetella bronchiseptica*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, e *Serratia marcescens* (ADELMANN, 2005). Os extratos etanólicos da própolis vermelha (grupo 13) inibiram *S. aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus mutans* (DAUGSCH, 2007).

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho trata-se de uma pesquisa bibliográfica realizado em livros, revistas impressas e eletrônicas e artigos, que abordassem a sensibilidade de agentes bacterianos patogênicos frente à ação antibacteriana da própolis.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, pode-se concluir que, com base nos estudos analisados, o uso terapêutico da própolis tem resultados promissores, devido a sua eficácia. Entretanto, acredita-se que uma padronização sobre locais de coleta e as formas e solventes utilizados em sua extração possam contribuir positivamente para assegurar melhores resultados.

A eficácia antimicrobiana dos extratos de própolis, quando testados frente a bactérias gram positivas e gram negativas é diferente. Podendo estas ações estarem relacionadas principalmente a sua composição química, como os ácidos fenólicos e flavonóides. É possível que os compostos fenólicos ativem ou aumentem a atividade da lisozima sérica, a qual desestabiliza a parede celular bacteriana. Estas ações podem variar devido a sensibilidade de cada grupo de bactéria.

O uso dos extratos de própolis como uma alternativa terapêutica poderá impulsionar a melhoria da saúde humana, uma vez que drogas antimicrobianas sintéticas, que ainda são largamente utilizadas, têm levado à resistência antimicrobiana e poderiam ser substituídas pela própolis.

Neste sentido, é de fundamental importância o estudo da atividade antimicrobiana das diferentes própolis brasileiras, visto que, Somente através de estudos detalhados será possível chegar a uma certificação da própolis. Porém, mesmo com origens nas mais variadas floras, será possível identificar os compostos químicos que promovam as melhores ações farmacológicas.

Após a padronização da própolis será possível substituir o uso de antimicrobianos sintéticos por produtos naturais, alcançando melhores resultados e sem prejudicar a saúde humana. Sugere-se a continuidade dos estudos acerca dos tipos de própolis como alternativa terapêutica, a fim de ampliar as evidências científicas, e assim subsidiar novas alternativas de tratamento, proporcionando um cuidado seguro e de qualidade.

REFERÊNCIAS

- ADELMANN, J. **Própolis variabilidade composicional correlação com a flora e a bioatividade antimicrobiana/antioxidante.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Setor de Ciências da Saúde. Paraná: Universidade Federal do Paraná. 2005.
- BONVEHI, J.S. et al. The composition, active components and bacteriostatic activity of propolis in dietetics. **Journal of American Oil Chemists Society**, v. 71, n. 5, p. 529-532, 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Pecuária e do Abastecimento. **Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001.** Aprova os regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geleia Real, Geleia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Brasília, 2001.
- BRUSCHI, ML; FRANCO, SL; GREMIÃO, MPD; 2003. Applications of a HPLC method in analysis of propolis extract. **J Liq Chromatogr Relat Technol**, 26: 14, 2381-2391.
- CLARDY, J.; WALSH, C. Lessons from natural molecules. **Nature Publishing Groups**, Paris, v. 432, p. 829-837, 2004.
- CRISAN, I.; ZAHARIA, C.N.; POPOVICI, F.; JUCU, V.; BELU, O.; DASCALU, C.; MUTIU, A.; PETRESCU, A. Natural propolis extract NIVCRISOL in the treatment of acute and chronic rhinopharyngitis in children. **Romanian Journal of Virology**, Bucareste, v. 46, n. 3-4, p. 115-133, 1995.
- CUSHINE, T.P.T.; LAMB, A.J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 26, n. 1, p. 343-356, 2005.
- DAUGSCH, A. **A própolis vermelha do nordeste do Brasil e suas características químicas e biológicas.** Tese de doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP. 2007.
- DAUGSCH, A.; MORAES, C.S.; FORT, P.; PACHECO, E.; LIMA, E.B.; ABREU, J.A.; PARK, Y.K. Propolis vermelha e sua origem botânica. **Mensagem Doce**. 2006. 89, 2-8.
- DAUGSCH, A.; MORAES, C.S.; FORT, P.; PARK, Y.K. Brazilian Red Propolis – Chemical Composition and Botanical Origin. **eCAM**. 2007. 5(4), 435-441.
- DE CASTRO, SL 2001. Propolis: biological and pharmacological activities. **Arbs Ann Rev Biomed Sci**, 3: 49-83.
- FERNANDES Jr, A; SUGIZAKI, MF; FOGO, ML; FUNARI, SRC; LOPES, CAM; 1995. *In vitro* activity of propolis against bacterial and yeast pathogens isolated from human infections. **J Venom Anim Toxins**, 1: 63-69.
- ADELMANN, J. **Própolis variabilidade**

- FONTANA, JD; ADELMAN, J; PASSOS, M; MARASCHIM, M; LACERDA, CA; LANÇAS, FM. Própolis: chemical microheterogeneity and bioactivity: therapeutic uses of this bee-product. In: Spencer JFT, Ragout De Spencer AL. **Environmental microbiology: methods and protocols**. Totowa: Humana Press; 2004. p. 203-218a. (Methods in Biotechnology, 16).
- FRANCO, SL; BRUSCHI, ML; MOURA, LPP; BUENO, JH, 2000. Caracterização farmacognóstica da própolis da região de Maringá. **Rev Bras Farmacogn**, 9/10: 1-10b.
- FRANCO, SL; BUENO, JHF; 1999. Otimização de processo extrativo de própolis. **Infarma**, 11: 48-51.
- GARCIA, R.C. et al. Efeito do extrato alcoólico de própolis sobre a *Pasteurella multocida in vitro* e em coelhos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 26, no. 1, p. 69-77, 2004a.
- GARCIA, R.C. et al. Efeito do extrato alcoólico de própolis sobre o perfil bioquímico e o desempenho de coelhas jovens. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 26, n. 1, p. 57-67, 2004b.
- GHISALBERTI, E. L. Propolis: a review. **Bee World**, Bucks, v. 60, p. 59-84, 1979.
- GOULART, C.S. **Estudos preliminares sobre atividade "in vitro" do extrato etanólico de própolis (EEP) no combate a bactérias isoladas de processos infecciosos de animais**. 1995. 18f. Monografia - Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Salvador.
- GRANGE, J.M.; DAVEY, R. W. Antibacterial properties of propolis. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 83, p. 159-160, 1990.
- KROL, W.; SCHELLER, S.; SHANI, J.; PIETZS, G.; CZUBA, Z. Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of *Staphylococcus aureus*. **Arzneimittel Forschung**, v.43, n.5, p.607-609, 1993.
- LANGONI, H. et al. Efeito antimicrobiano *in vitro* da própolis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 48, n. 2, p. 227, 1996.
- LOGUERCIO, A. P. et al. Atividade in vitro do extrato de própolis contra agentes bacterianos da mastite bovina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 2, p. 347-349, 2006.
- LU, L.; CHEN, Y.; CHOU, C. Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. **Int J Food Microbiol**, 2005. 102, 213-220.
- MARCUCCI, M.C. et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 105-112, 2001.
- MARCUCCI, M.C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, 1996. 19, 529-535.
- MIRZOEVA, O.K. et al. Antimicrobial action of própolis and some of its components: the effects on growth, membrane potencial and motility of bacteria. **Microbiology Research**, v. 152, n. 3, p. 239-246, 1997.
- NASCIMENTO, G.G.F. et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Braz J Microbiol**, São Paulo, v.31, n.2, p.247-256, 2000.
- NEWMAN, D.J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. The influence of natural products upon drug discovery. **Natural Products Report**, Cambridge, v. 17, n. 1, p. 215-234, 2000.
- NUNES, L.C.C.; GALINDO, A. B.; DEUS, A.S.O.; RUFINO, D.A.; RANDAU, K. P.; XAVIER, H.S.; CITÓ, A.M.G.L.; ROLIM NETO, P.J. Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artemia salina*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 2009. 19(2B), 524-529.
- OLIVEIRA, ACP; SHINOBU, CS; LONGHINI, R; FRANCO, SL; SVIDIZINSKI, TIE; 2006. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions. **Mem I Oswaldo Cruz**, 101: 493-497.
- OLIVEIRA, F.P.; LIMA, E.O.; SIQUEIRA JÚNIOR, J.P.; SOUZA, E.L.; SANTOS, B.H.C.; BARRETO, H.M. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. **Rev Bras Farmacogn**. 2006. 16, 510-516.
- ORSI R. O. et al. Effects of propolis from Brazil and Bulgaria on *Salmonella* serovars **Journal of Venomous Animals and Toxins incl. Trop. Dis**. v. 13, n. 4, p. 748-757, 2007.
- ORSI R. O. et al. Susceptibility profile of *salmonella* against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins incl. Trop. Dis**. v. 11, n. 2, p. 109-116, 2005.
- PACKER, J.F.; LUZ, M.M.S. da.. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Rev. Bras. Farmacogn**.2007. 17(1), 102-107.
- PARK, YK; IKEGAKI, M; ABREU, JAS; ALCICI, NMF. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciênc Tecnol Aliment**. 1998;18(3):313-8.

- PEREIRA, A.S. et al. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova** v. 25 n. 2, p. 321-326, 2002.
- PINTO M.S. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. **SciELO**, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95962001000600006&lng=pt>. Acesso em: 01 jul. 2015.
- PINTO, M. S.; FARIA, J. E.; MESSAGE, D.; CASSINI, S. T. A.; PEREIRA, C. S.; GIOSSO, M. M. Efeito de extrato de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, p. 278-283, 2001.
- PONTIN, K; SILVA FILHO, AA; SANTOS, FF; SILVA, MLA; CUNHA, WR; NANAYAKKARA, NPD; BASTOS, JK; ALBUQUERQUE, S. In vitro and in vivo antileishmanial activities of a Brazilian green propolis extract. **Parasitology Research**. 2008; 103(2):487-492.
- SCAZZOCCHIO, F. et al. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. **Microbiology Research**, v. 4, p. 327-333, 2006.
- SFORCIN, J.M. et al. Effect of propolis, some isolated compounds and its source plant on antibody production. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, n. 3, p. 301-305, 2005.
- SHUB, T.A.; KAGRAMANOVA, K.A.; VOROPEAVA S.D.; KIVMAN, G.Y.; **Antibiotiki** 1981, 26, 268.
- SIMÕES-AMBROSIO, L.M.C.; GREGÓRIO, L.E.; SOUSA, J.P.B.; FIGUEIREDO-RINHEL, A.S.G.; AZZOLINI, A.E.C.S.; BASTOS, J.K.; LUCISANO-VALIM, Y.M. The role of seasonality on the inhibitory effect of Brazilian green propolis on the oxidative metabolism of neutrophils. **Fitoterapia**. 2010. 81, 1102-1108.
- SOARES, AKA; CARMO, GC; QUENTAL, DP; NASCIMENTO, DF; BEZERRA, FAF; MORAES, MO; MORAES, MEA; 2006. Avaliação da segurança clínica de um fitoterápico contendo *Mikania glomerata*, *Grindelia robusta*, *Copaifera officinalis*, *Myroxylon toluifera*, *Nasturtium officinale*, própolis e mel em voluntários saudáveis. **Rev Bras Farmacogn**, 16: 447-454.
- SOUSA, J.P.B.; FURTADO, N.A.J.C.; JORGE, R.; SOARES, A.E.E.; BASTOS, J.K. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Rev Bras Farmacogn**, 2007. 17, 85-93.
- TAKAISI-KIKUNI, N. B.; SCHILCHER, H. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. **Planta médica**, Stuttgart, v.60, p.222-227, 1994.
- TAVARES, JP; MARTINS, IL; VIEIRA, AS; LIMA, FAV; BEZERRA, FAF; MORAES, MO; MORAES, MEA; 2006. Estudo de toxicologia clínica de um fitoterápico a base de associações de plantas, mel e própolis. **Rev Bras Farmacogn**, 16: 350-356.
- TAYLOR, P.W.; STAPLETON, P.D.; PAUL, L.J. New ways to treat bacterial infections. **Drug Discovery Today**, New York, v. 7, n. 1, p. 1086-1091, 2002.
- UZEL, A. et al. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiology Research**, v. 160, p. 189-195, 2005.
- VARGAS, A.C. et al. Atividade antimicrobiana "in vitro" de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural**, v. 34, p. 159-163, 2004.