

Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana do extrato de própolis verde contra bactérias patogênicas

In vitro evaluation of the antimicrobial activity of green propolis extract against pathogenic bacteria

Victória Alves Tereza¹

Victória de Oliveira Apolinario Moreira²

Alessandra Marques Cardoso³

Resumo

Esse estudo objetivou avaliar a atividade antimicrobiana de seis amostras comerciais de extrato de própolis verde frente a quatro cepas bacterianas da *American Type Culture Collection* (ATCC), sendo elas *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Os microrganismos foram cultivados em ágar MacConkey e Manitol-sal, e incubados a 36°C por 24 horas. Após o crescimento, foram transferidos para tubos contendo solução fisiológica estéril (NaCl a 0,85%) até atingir turbidez equivalente a 0,5 da escala de McFarland e semeados em ágar Mueller-Hinton. A atividade antimicrobiana foi avaliada pela técnica de difusão em ágar, utilizando-se seis poços preenchidos com as amostras de própolis verde e o controle negativo, além do controle positivo realizado com disco de amoxicilina-ácido clavulânico. Os experimentos foram realizados em duplicata e a atividade antimicrobiana determinada pela medição dos halos de inibição. Os resultados revelaram que as amostras de própolis verde inibiram o crescimento de *S. aureus*, enquanto que os microrganismos Gram-negativos não tiveram seu crescimento inibido. Todas as amostras testadas demonstraram atividade frente a *S. aureus*, com halos variando entre 19 mm e 28 mm, destacando-se a amostra N°3 de extrato alcoólico, que apresentou os maiores halos de inibição (28 mm). Os extratos alcoólicos demonstraram halos ligeiramente maiores em comparação aos aquosos, o controle negativo não apresentou atividade, enquanto o controle positivo inibiu 100% das cepas testadas. Em conclusão, os achados evidenciam o potencial antimicrobiano da própolis verde contra *S. aureus*, reforçando a importância de produtos naturais e da sua valorização sinalizando a necessidade de estudos futuros para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas complementares.

Palavras-chave: Própolis; Ação Antimicrobiana; *Apis mellifera*.

¹ Graduação em Biomedicina. Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás).

² Graduação em Biomedicina. Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás).

³ Doutora e Mestre em Medicina Tropical e Saúde Pública, Professora da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás), Biomédica da Secretaria de Estado da Saúde de Goiás (SES-GO).

Abstract

This study aimed to evaluate the antimicrobial activity of six commercial samples of green propolis extract against four bacterial strains from the American Type Culture Collection (ATCC): *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), and *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). The microorganisms were cultivated on MacConkey agar and Mannitol Salt agar and incubated at 36°C for 24 hours. After growth, they were transferred to tubes containing sterile physiological solution (0.85% NaCl) until turbidity reached the 0.5 McFarland standard and then inoculated onto Mueller-Hinton agar. Antimicrobial activity was evaluated using the agar diffusion technique, employing seven wells filled with green propolis samples and the negative control, in addition to a positive control performed with an amoxicillin-clavulanic acid disk. The experiments were carried out in duplicate, and antimicrobial activity was determined by measuring the diameters of the inhibition zones. The results demonstrated that only the Gram-positive bacterium (*S. aureus*) had its growth inhibited by the green propolis samples, whereas the Gram-negative isolates showed no halo formation. All tested samples demonstrated activity against *S. aureus*, with inhibition zones ranging from 19 mm to 28 mm, highlighting sample number 3 of the alcoholic extract, which presented the largest inhibition zones (28 mm). Alcoholic extracts demonstrated slightly larger inhibition zones compared to aqueous extracts. The negative control showed no activity, whereas the positive control inhibited 100% of the tested strains. In conclusion, the findings demonstrate the antimicrobial potential of green propolis against *S. aureus*, reinforcing the importance of valuing natural products and indicating the need for future studies aimed at the development of complementary therapeutic alternatives.

Keywords: Propolis; Anti-Infective Agents; *Apis mellifera*.

INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana tem se tornado uma das maiores ameaças à saúde global na atualidade, comprometendo a eficácia de medicamentos essenciais no tratamento de infecções comuns em humanos, animais e plantas. Bactérias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* vêm apresentando níveis alarmantes de resistência a vários antibióticos utilizados rotineiramente. Esse fenômeno, impulsionado principalmente pelo uso excessivo e inadequado de antimicrobianos, dificulta o tratamento de infecções, aumenta o tempo de hospitalização e eleva os custos dos sistemas de saúde e a taxa de mortalidade, o que acende um alerta para a busca de novas alternativas terapêuticas¹.

Entre essas alternativas, substâncias naturais com propriedades antimicrobianas têm despertado interesse de pesquisadores, tais como, a própolis verde, uma substância resinosa produzida por abelhas *Apis mellifera* a partir de exsudatos vegetais da planta *Baccharis dracunculifolia*, popularmente conhecida como alecrim-do-campo, tradicionalmente utilizada na medicina popular por suas propriedades farmacológicas, incluindo ação antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória^{2,3}.

O termo "própolis" tem origem grega – pro (defesa) e polis (cidade) – e remete à sua função de proteção da colmeia. Essa substância apresenta composição variável, rica em flavonoides e outros compostos fenólicos, como o artepelin C, que influenciam diretamente sua atividade



biológica. Diversos estudos têm demonstrado que o extrato de própolis verde apresenta importante atividade antimicrobiana, atribuída principalmente à ação desses compostos bioativos^{4,5}.

Entre os microrganismos de relevância clínica destaca-se *S. aureus*, uma bactéria Gram-positiva responsável por uma ampla variedade de infecções em humanos, que variam desde infecções cutâneas superficiais até doenças mais graves, como pneumonia, sepse e endocardite. Esse microrganismo pode colonizar a pele e as mucosas de indivíduos saudáveis, especialmente nas narinas, atuando como parte da microbiota humana. No entanto, sua elevada capacidade de adaptação, associada à produção de diversos fatores de virulência e ao aumento da resistência a antimicrobianos, tem tornado *S. aureus* um importante desafio para a saúde pública mundial⁶.

Diante disso, e considerando esse potencial terapêutico, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana da própolis verde de diferentes marcas comerciais frente a cepas bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*.

MÉTODOS

A metodologia adotada neste estudo foi baseada no protocolo previamente descrito por Faro et al. (2025), com adaptações para avaliação da atividade antimicrobiana de amostras comerciais de própolis verde. Entre as modificações realizadas, destacam-se a inclusão de diferentes extratos comerciais de própolis verde, a utilização de quatro cepas bacterianas ATCC, bem como a implementação de controle positivo com disco de amoxicilina-ácido clavulânico e controle negativo com solução fisiológica estéril, visando garantir maior confiabilidade aos resultados obtidos⁷.

Amostras bacterianas e preparo do inóculo

Foram semeados quatro isolados bacterianos da *American Type Culture Collection* (ATCC), sendo elas *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) em ágar MacConkey (para as Gram-negativas) e ágar Manitol-sal (para a Gram-positiva), e incubadas a 36°C por 24 horas.

Após o crescimento, as colônias de cada patógeno foram transferidas para tubos contendo 4,0 mL de solução fisiológica estéril (NaCl a 0,85%), até que se atingisse turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Em seguida, as suspensões bacterianas foram semeadas na superfície de placas de Petri contendo Ágar Mueller-Hinton, com o auxílio de swabs estéreis.



Avaliação da atividade antimicrobiana da própolis verde

Foi avaliada a atividade antimicrobiana de seis amostras comerciais de própolis verde por meio da técnica de difusão em ágar. Após a semeadura das suspensões bacterianas, foram realizados sete orifícios de aproximadamente seis milímetros em cada placa, utilizando-se a extremidade de uma ponteira azul estéril. Os poços formados foram preenchidos com 100µL de cada amostra de própolis verde, com auxílio de pipeta semiautomática. Para fins de controle de validade do ensaio, utilizou-se solução fisiológica estéril (NaCl a 0,85%) como controle negativo, adicionado em um dos poços (100µL). O controle positivo foi realizado com um disco de amoxicilina-ácido clavulânico, posicionado sobre a superfície do ágar. Todos os experimentos foram conduzidos em duplicata, dentro de cabine de segurança biológica classe II, seguindo rigorosamente os critérios de biossegurança.

As placas foram incubadas a 36°C por 24 horas em estufa bacteriológica. Após esse período, os diâmetros dos halos de inibição foram medidos com o auxílio de uma régua, em milímetros.

Foram empregadas seis amostras de própolis verde, sendo quatro extratos alcoólicos e dois aquosos, em diferentes concentrações. As amostras foram adquiridas comercialmente e utilizadas dentro do prazo de validade.

Aspectos éticos

Este estudo dispensou submissão a um Comitê de Ética, conforme a Resolução CNS nº 466/2012, do Conselho Nacional de Saúde, uma vez que não envolveu seres humanos ou animais.

Informação sobre uso de Inteligência Artificial

Durante a elaboração deste trabalho, foram utilizadas ferramentas de inteligência artificial (IA), como o ChatGPT, como suporte para revisão textual, organização do conteúdo e estruturação das ideias, contribuindo para maior clareza, coesão e adequação da escrita acadêmica. Ressalta-se, entretanto, que toda a análise, interpretação das informações e desenvolvimento do conteúdo científico foram realizados pelos autores, garantindo a autoria intelectual e a responsabilidade acadêmica do estudo.

RESULTADOS

A leitura dos resultados foi realizada após 24 horas de incubação, por meio da medição dos halos de inibição em milímetros, utilizando régua milimetrada. A observação das colônias



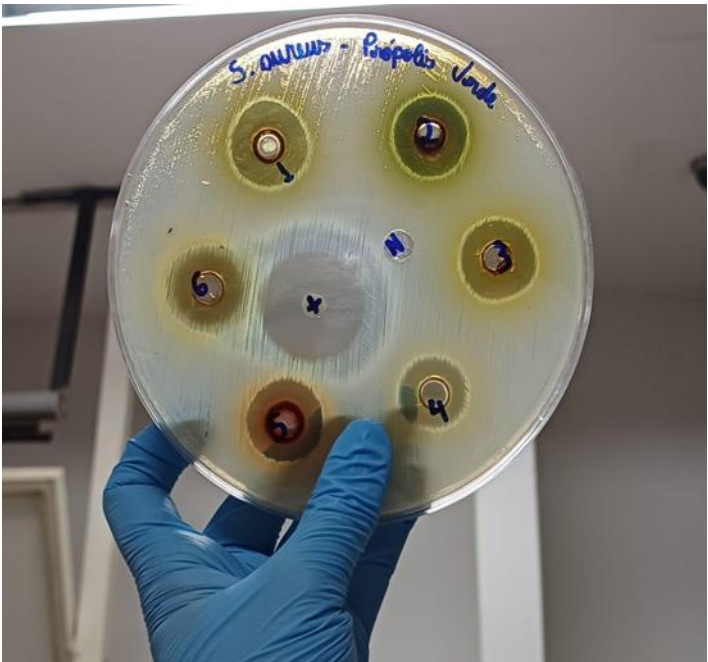
bacterianas visíveis a olho nu permitiu avaliar a sensibilidade dos microrganismos frente às amostras de extrato de própolis verde. O quadro 1 e a figura 1 ilustram os resultados obtidos.

Quadro 1. Diâmetros dos halos de inibição (mm) do crescimento de *S. aureus* frente às amostras de própolis verde.

<i>Staphylococcus aureus</i>				
Amostras	Tipo de extrato	Concentração do extrato (%)	Halo 1 de inibição (mm)	Halo 2 de inibição (mm)
1	Alcoólico	70%	± 25 mm	± 25 mm
2	Alcoólico	30%	± 26 mm	± 27 mm
3	Alcoólico	15%	± 28 mm	± 28 mm
4	Alcoólico	11%	± 20 mm	± 21 mm
5	Aquoso	11%	± 24 mm	± 25 mm
6	Aquoso	11%	± 19 mm	± 20 mm

Fonte: Próprias autoras

Figura 1. Halos de inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* frente às amostras de própolis verde, o “X” sendo o controle positivo e o “N” o controle negativo.



Fonte: Próprias autoras

Entre os quatro microrganismos avaliados, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, observou-se que *S. aureus* teve seu crescimento *in vitro* inibido pelas amostras de própolis verde. Para os três isolados Gram-negativos não foram observados halos de inibição em nenhuma das amostras testadas. Como esperado, no controle negativo (NaCl a 0,85%) não foi observado halo de inibição do crescimento dos microrganismos avaliados, enquanto que no controle positivo (amoxicilina-ácido clavulânico) foi observado halo de inibição do crescimento bacteriano em *S. aureus* e *E. coli*.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que o extrato de própolis verde apresentou atividade antimicrobiana exclusivamente frente ao *S. aureus*, não sendo observada inibição do crescimento das bactérias Gram-negativas testadas. Estudos experimentais anteriores já relataram que extratos de própolis verde apresentam maior efeito antimicrobiano frente a bactérias Gram-positivas, enquanto a ação sobre as Gram-negativas tende a ser menos evidente. Essa diferença pode ser atribuída à maior complexidade estrutural da parede celular das bactérias Gram-negativas, que possuem uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos, dificultando a penetração de compostos bioativos⁸⁻¹⁰.

Sendo assim, essa característica na estrutura da parede celular bacteriana diminui sua permeabilidade e, conseqüentemente, limita a ação de substâncias antimicrobianas de origem natural, como é o exemplo dos flavonoides e ácidos fenólicos presentes como principais componentes ativos da própolis verde^{11,12}.

Contudo, todas as amostras comerciais adquiridas e testadas da própolis verde demonstraram ação antibacteriana satisfatória frente a cepa de *S. aureus*, evidenciada pela formação dos halos de inibição do crescimento. Embora tenham sido observadas pequenas variações nos diâmetros dos halos, os resultados se mostraram consistentes, revelando reprodutibilidade dos resultados. Tais variações podem estar associadas a diferenças na composição química, concentração dos compostos e método de extração do extrato de própolis verde utilizado por cada fabricante. Nossos achados corroboram com estudos anteriores que relatam maior sensibilidade das bactérias Gram-positivas frente à própolis verde, o que é atribuído à ausência de membrana externa nesses microrganismos, facilitando assim a interação dos compostos fenólicos com a parede celular e a membrana citoplasmática bacteriana^{4,13}.

O potencial antimicrobiano observado frente ao *S. aureus* pode estar associado à presença de compostos bioativos característicos da própolis verde, como flavonoides, ácidos fenólicos e o artepelin C. Segundo a literatura, o artepelin C apresenta ação bactericida por interferir na integridade da membrana celular bacteriana e por afetar processos metabólicos essenciais, o que



pode levar à morte celular. Os flavonoides também desempenham papel importante, atuando na desnaturação de proteínas, na inibição de enzimas bacterianas e na alteração da permeabilidade da membrana, contribuindo para o efeito antimicrobiano observado^{2,3,14}.

Os resultados desse estudo evidenciaram que tanto os extratos alcoólicos quanto os aquosos apresentaram ação antimicrobiana frente ao *S. aureus*, embora com alguma variação no tamanho dos diâmetros dos halos de inibição. Essa diferença pode estar relacionada à maior capacidade do etanol em extrair compostos fenólicos e flavonoides, apontados na literatura como os principais responsáveis pelo efeito antimicrobiano da própolis verde. Dessa forma, os extratos alcoólicos tendem a apresentar maior concentração dessas substâncias em comparação aos extratos aquosos, o que pode explicar a formação de halos de inibição maiores em algumas amostras. Ainda assim, a atividade observada nos extratos aquosos sugere que moléculas hidrossolúveis da própolis verde também contribuem para esse efeito, mesmo quando presentes em menores concentrações^{15,16}.

Como limitação deste estudo pode-se destacar o uso da técnica de difusão em ágar que, apesar de ser amplamente empregada, pode apresentar variações relacionadas à difusão de substâncias com diferentes polaridades no meio sólido. Além disso, a falta de padronização nas concentrações das amostras comerciais avaliadas dificulta a comparação entre os resultados obtidos. Contudo, é válido ressaltar que a abordagem adotada teve caráter qualitativo, permitindo avaliara capacidade dos extratos de própolis verde em inibir ou não o crescimento bacteriano das cepas avaliadas. Assim, considerando que este estudo não objetivou realizar determinações quantitativas, como por exemplo a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), sugere-se que pesquisas futuras possam incluir análises quantitativas, bem como avaliações químicas dos compostos dos extratos de própolis verde, de forma a contribuir para uma maior compreensão do seu potencial antimicrobiano.

CONCLUSÃO

Em conclusão, observou-se que, dentre os quatro microrganismos avaliados, *S. aureus* apresentou sensibilidade frente ao extrato de própolis verde, enquanto *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* não tiveram o crescimento inibido nos experimentos realizados *in vitro*. Quanto às amostras avaliadas, tanto os extratos alcoólicos quanto os aquosos demonstraram ação antibacteriana frente ao *S. aureus*, com formação de halos de inibição ligeiramente maiores nos extratos alcoólicos.

Os resultados obtidos evidenciam o potencial da própolis verde como agente antimicrobiano frente ao *S. aureus* e reforçam a importância da valorização de produtos naturais com propriedades biológicas comprovadas. Esses achados contribuem para o avanço do conhecimento científico



acerca da própolis verde e destacam a necessidade de pesquisas futuras que aprofundem sua aplicação no desenvolvimento de alternativas terapêuticas complementares no controle de infecções bacterianas.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Antimicrobial resistance [Internet]. Geneva: WHO; 2022 [citado em 29 maio 2025]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
2. Salatino A, Teixeira EW, Negri G, Message D. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. Evid Based Complement Alternat Med. 2005;2(1):33-8.
3. Veiga RS, De Mendonça S, Mendes PB, Paulino N, Mimica MJ, Lagareiro Netto AA, et al. Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. J Appl Microbiol. 2017;122(4):911-20.
4. Toreti VC, Sato HH, Pastore GM, Park YK. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. Evid Based Complement Alternat Med. 2013;2013:697390.
5. Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial properties of propolis. Molecules. 2019;24(11):2047.
6. Silva-Santana G. *Staphylococcus aureus*: dynamics of pathogenicity and antimicrobial-resistance in hospital and community environments -comprehensive overview. Res Microbiol. 2025;176(3-4):104267.
7. Faro AF, Silva FM, Oliveira MS, Cardoso AM. Avaliação da atividade antimicrobiana de amostras de mel frente à *Escherichia coli* e ao *Staphylococcus aureus*. Rev Estudos Rev Cienc Ambient Saude. 2025;52(1):1-6.
8. Paranhos RO da S, Oliveira LS de. Os benefícios medicinais da própolis verde (*Baccharis dracunculifolia* DC) utilizada popularmente através de suas propriedades anti-inflamatória e antibacteriana. REASE. 2021;7(10):1208-21.
9. Bankova V. Recent trends and important developments in propolis research. Evid Based Complement Alternat Med. 2005;2(1):29-32.
10. Santos PBDR, Ávila DDS, Ramos LP, Yu AR, Santos CER, Berretta AA, et al. Effects of Brazilian green propolis extract on planktonic cells and biofilms of multidrug-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. Biofouling. 2020;36(7):834-45.
11. Cushnie TP, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. Int J Antimicrob Agents. 2005;26(5):343-56.
12. Baptista NUF. Estudo da composição físico-química e antibacteriana de diferentes própolis e avaliação em cultura de células eucarióticas [dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto; 2016.
13. Costa MC, Mafra JF, Serra LP, Ferreira MA, Bispo ASR, Evangelista-Barreto NS, et al. Atividade antimicrobiana da própolis verde frente a bactérias resistentes a antimicrobianos comerciais. In: Qualidade de Produtos de Origem Animal. Atena Editora; 2019.



14. Vasconcelos HG, Rodrigues FOS, Busatti HGNO. Avaliação da eficácia antibacteriana do extrato de própolis verde em bactérias causadoras de infecções nas vias aéreas. REAC. 2019;3:e1840.
15. Aldana-Mejía JA, Ribeiro VP, Katragunta K, Avula B, Tatapudi KK, Bastos JK, et al. Chemical characterization and antimicrobial activity of green propolis from the Brazilian Caatinga biome. Plants. 2024;13(24):3576.
16. Gonsales GZ, Orsi RO, Fernandes Júnior A, Rodrigues P, Funari SRC. Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2006;12(2):276-84.

Contato para correspondência:

Alessandra Marques Cardoso

E-mail:

alemarquespuc@gmail.com

Conflito de interesse: Não

Financiamento: Recursos Próprios

