



# **ACTIVIDAD BACTERIOSTÁTICA DEL PROPÓLEO VERDE DEL ESTADO DE MINAS GERAIS (BRASIL) CONTRA ESPORAS DE *PAENIBACILLUS LARVAE***

Esther Margarida Alves Ferreira Bastos<sup>1</sup>; Moreira, A.C.P.<sup>1</sup>;  
Scoaris, D.O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fundacao Ezequiel Dias – 30.510-010 – 55 31 33144795 - 55 31  
33144790 – Belo Horizonte, MG, Brazil

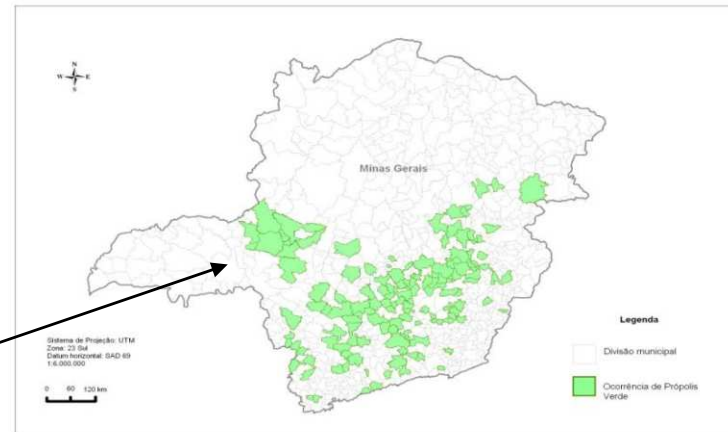
[embastos@funed.mg.gov.br](mailto:embastos@funed.mg.gov.br)

# INTRODUCCIÓN

- Las abejas están constantemente expuestas a varios microorganismos. Entre los patógenos, se destaca la bacteria esporulada *Paenibacillus larvae*, causadora de la Cria Pútrida Americana “Loque americana-foulbrood”, uno de los problemas más serios para la apicultura mundial.
- La actividad antimicrobiana del própoleo producido en diversos Estados brasileños y del própoleo del Estado de Minnessota (USA), fue estudiada por el intermedio de los halos de inibicion, demostrando la actividad antimicrobiana de estas contra el *P. larvae*.
- El própoleo verde obtenido en el Estado de Minas Gerais de *Baccharis dracunculifolia*, demostró halos de inibição entre 17.50 y 20.20mm, y una correlacion directa entre la concentración de sólidos solubles y los halos de inibicion, o sea, mientras más concentrada la muestra de própoleo, mayor su actividad antimicrobiana (BASTOS et all, 2008).



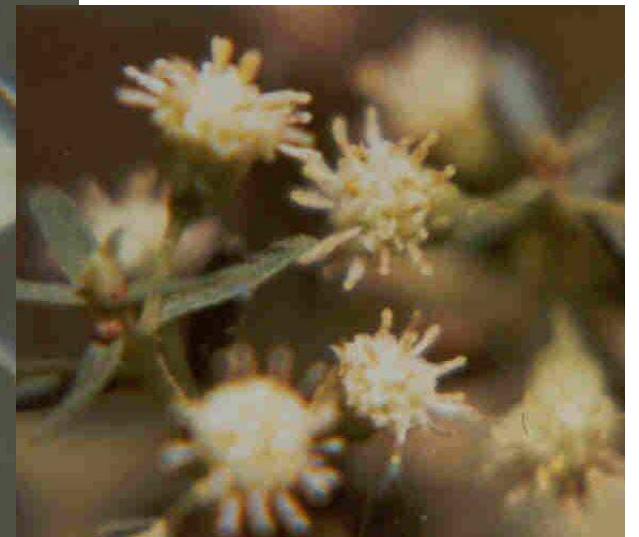
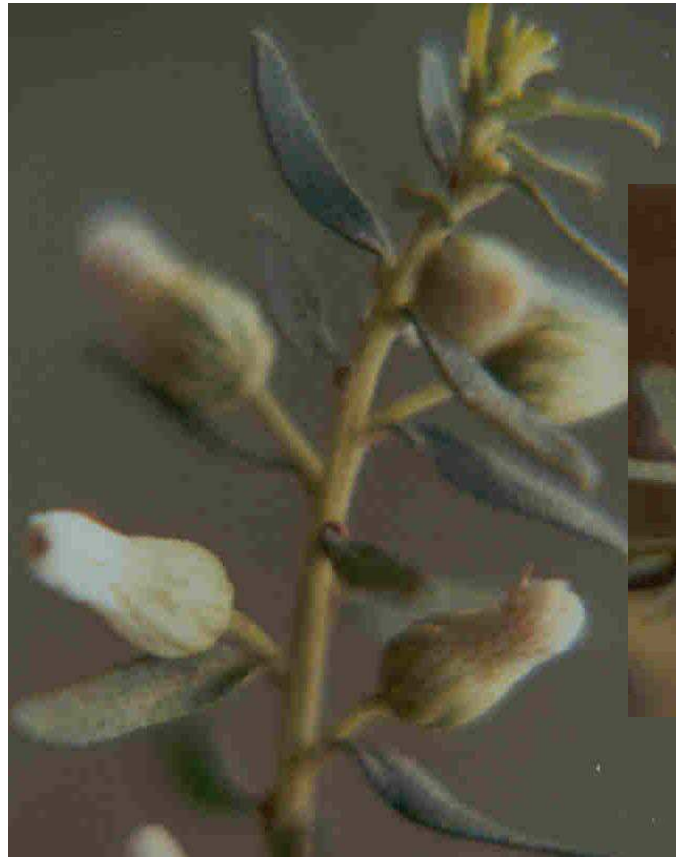
### OCORRÊNCIA DE PRÓPOLIS VERDE NO ESTADO DE MINAS GERAIS



Origen botânica del propoleo verde de Minas Gerais

***Asteraceae- Baccharis dracunculifolia***

***alecrim do campo***





Brasil es uno de los pocos países donde la enfermedad “loque americana” no se desarrolla, y un posible mecanismo natural de resistencia a la enfermedades es el propoleo brasileño, que es resinoso, verde, un producto con gran actividad antimicrobiana.



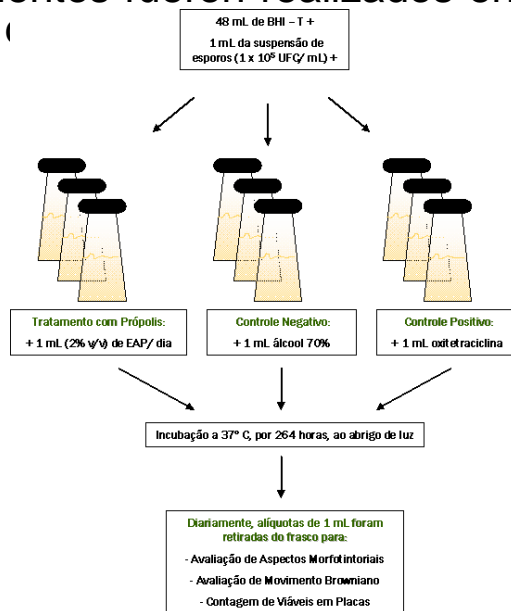
# OBJETIVO



El objetivo de este estudio fue evaluar la viabilidad in vitro de esporas de *Paenibacillus larvae* CCT 4443 expuestos a dosis sucesivas de Extracto Etanólico de Própolis (EEP) verde, a través de técnicas de observación micro y macroscópicas, en la tentativa de esclarecer el mecanismo de acción del própolis.

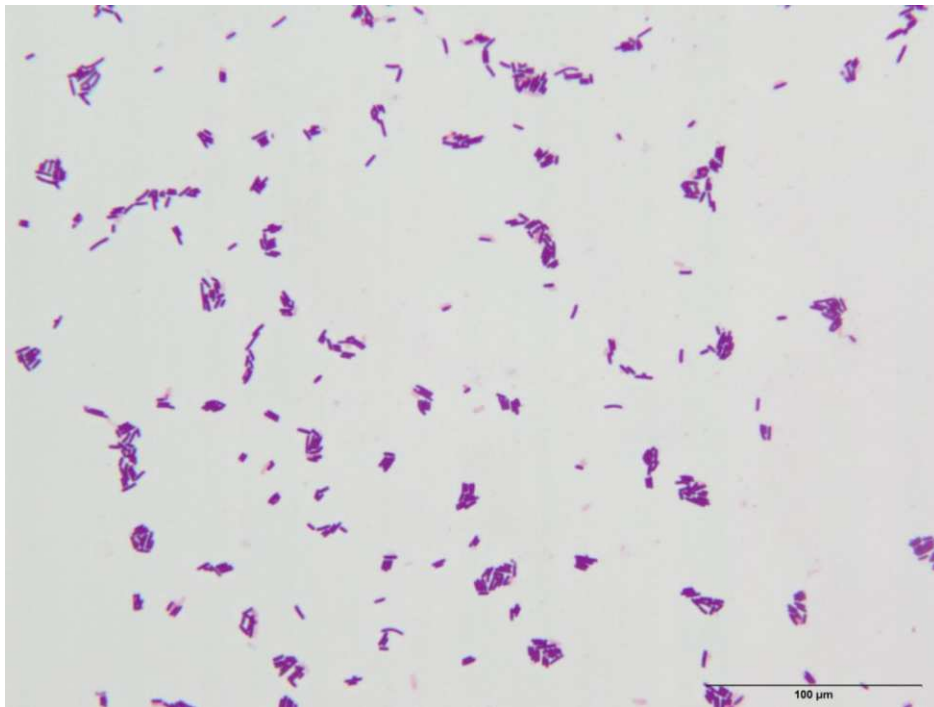
# METODOLOGIA

- Para estudiar la viabilidad de las esporas de *P. larvae* expuestas a dosis crecientes de extracto de própolis verde fue montado el siguiente protocolo:
- Fue preparada una batería de 9 erlenmeyers, 3 conteniendo 48 ml de caldo BHI-T, 1 ml de la suspensión de esporas de *P. larvae* a  $1 \times 10^5$  UFC/ ml y 1 ml (2% v/v) de EEP. Cada 24 horas, fueron adicionados a estos 1 ml de EEP y 1 ml de BHI-T.
- Fueron utilizados 2 grupos control, con 3 erlenmeyers/ grupo, conteniendo 48 ml de caldo BHI-T 1 ml de la suspensión de esporas. Al control positivo, fue adicionado 1 ml de oxitetraciclina (5 mg/ ml) y al control negativo, 1 ml de alcohol 70%. Todos los tratamientos fueron realizados en triplicado, incubados a 37° C, durante 11 días y al abrigo (





- Diariamente fueron retiradas alíquotas de 1 ml, para evaluación de los aspectos morfotinturiais, presencia de movimiento browniano y observación de células viábiles en placas.
- Para observación de la presencia de bacilos en el cultivo fueron colocados en laminas para microscopia usándo el método de la coloracion de Gram.
- Para la observación de la presencia de movimiento browniano fueron montadas lâminas de estos por la técnica de la gota pendiente y adicionado a lâmina 1 gota de carbol-fucsina para coloracion de las esporas.



La observación microscópica a través de técnica de coloracion gram.

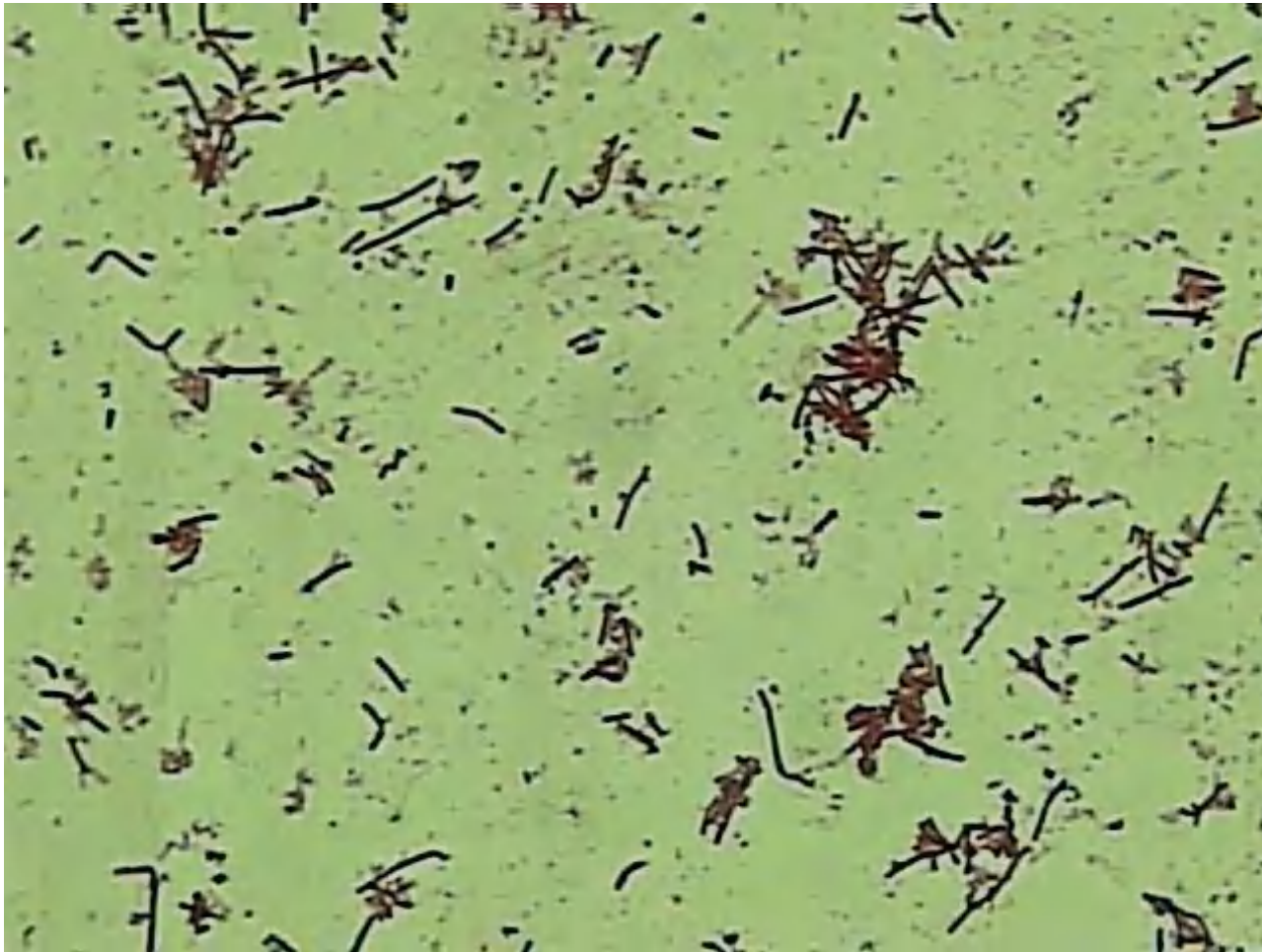


La observación del crecimiento microbiano.

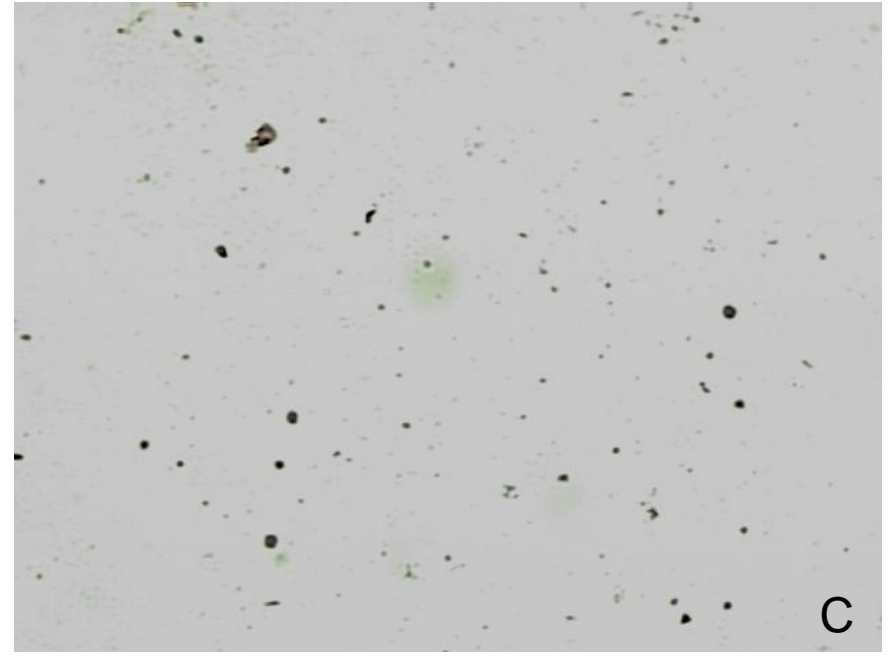
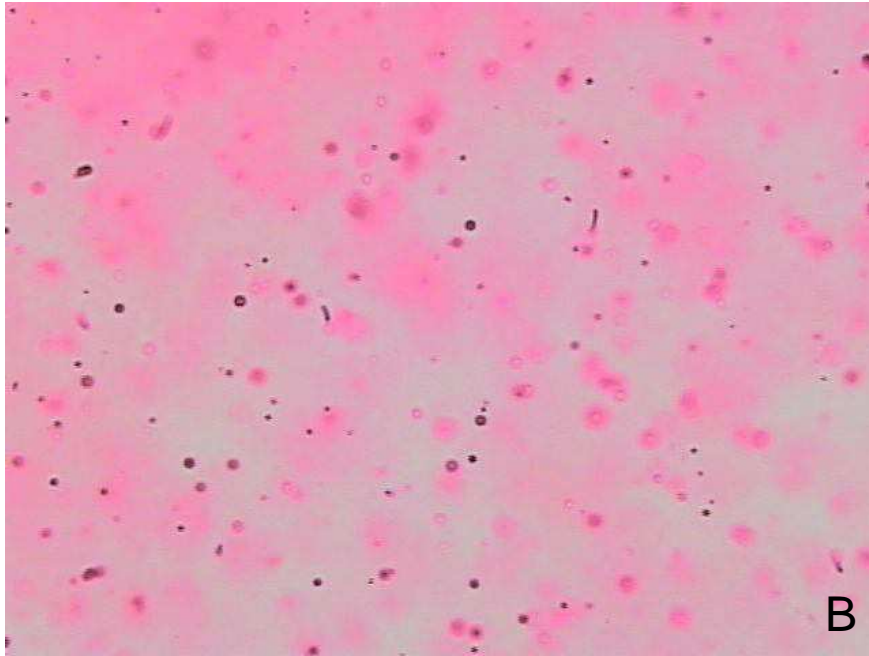
# Resultados y Discusión

En el análisis de lâminas preparadas por la técnica de coloracion de Gram fue observada completa ausencia de bacilos (forma vegetativa de la *P. larvae*) en todos los periodos de exposici3n y dosis utilizadas de pr3p3leo.

Fúe demostrado que, en condiciones de cultivo con extracto de pr3p3leo verde, las esporas no son capaces de germinar, y cuando germina son susceptibles al pr3p3leo.



Observación microscópica a través de la técnica de coloración Gram. La coloración positiva de los bacilos (Grupo control negativo/ alcohol);



(B) Ausencia de la forma bacilar (Grupo control positivo/ oxitetraciclina)

(C) Ausencia de la forma bacilar (Grupo sometido la exposición al própoleo).

## Periodo de Exposición (horas) / Dosis sucesiva de Extracto de Própolis verde (%)

Tratamientos	Período de Incubación (horas) / Concentración del Extracto de Propóleo (%)																		
	24h/ 2%			48h/ 4%			72h/ 6%			96h/ 8%			120h/ 10%			144h/ 12%			
	MB	Gram	UFC	MB	Gram	UFC	MB	Gram	UFC	MB	Gram	UFC	MB	Gram	UFC	MB	Gram	UFC	
<b>EAP</b>	+	-	3,6	+	-	8	+	+	3	+	-	7	+	+	1,3	+	-	1,3	
C+	+	-	0	+	-	0	+	+	0	+	-	0	+	-	0	+	+	0	
<b>Controles</b>	C-	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.
CC	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.	

### Leyenda

MB: Movimiento Browniano

Gram: Coloración de Gram de formas bacilares

UFC: Unidad Formadora de colonias

EAP: Extracto etanolico de propóleo

C+: Oxitetraciclina (50 mg/mL)

C-: Alcohol

CC: Control del crecimiento microbiano (forma vegetativa)

Inc.: Sinnúmero

+: presencia

-: ausencia

Tratamientos	Período de Incubación (horas) / Concentración del Extracto de Propóleo (%)															
	168h/ 14%			192h/ 16%			216h/ 18%			240h/ 20%			264h/ 22%			
	MB	Gram	UFC	MB	Gram	UFC	MB	Gram	UFC	MB	Gram	UFC	MB	Gram	UFC	
<b>EAP</b>	+	+	0	+	-	0	+	-	0	+	-	0	+	-	0	
C+	+	-	0	+	-	0	+	-	0	+	-	0	+	-	0	
<b>Controles</b>	C-	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.
	CC	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.	+	+	Inc.

### Leyenda

MB: Movimiento Browniano

Gram: Coloração de Gram de formas bacilares

UFC: Unidade Formadora de colônias

EAP: Extracto alcohólico de propóleo

C+: Oxitetraciclina (50 mg/mL)

C-: Alcool

CC: Control del crecimiento microbiano (forma vegetativa)

Inc.: Sinnúmero

+: presencia

-: ausencia

- El número de colonias viables en placas se mantuvo en 30 UFC/mL, en media en diferentes concentraciones y tiempos evaluados, demostrando que las esporas mantienen latentes cuando son expuestas al própoleo y vuelven a germinar en condiciones normales de cultivo.
- El movimiento Browniano de las esporas fue positivo en todos los tratamientos con própoleo, demostrando más una vez que las esporas se mantienen latentes cuando están en contacto con própoleo verde, en las concentraciones desde 2 hasta 22% por periodos de 24 a 264 horas de exposición.

## Observación del movimiento Browniano de los esporos de *P. larvae* (gota pendiente)



El movimiento Browniano fue observado durante todo el experimento, con espesamiento gradual del pared de la espora descubierto después del quinto día de la exposición.



# CONCLUSIÓN

Estos resultados sugieren que el efecto bacteriostático del própoleo frente a las formas esporuladas de *P. larvae* es semejante al obtenido para la oxitetraciclina.

El própoleo verde mostró efecto bacteriostático frente a las formas bacilares de la *P. larvae*.

La indicación que el propoleo verde brasileño podría ser aplicado en el tratamiento de la loque americana.

Hay necesidad de estudios para el desarrollo de un medicamento para el uso en apicultura.

# MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCIÓN

<sup>1</sup>Fundacao Ezequiel Dias – 30.510-010 – 55 31 33144795 -  
55 31 33144790 – Belo Horizonte, MG, Brazil  
[embastos@funed.mg.gov.br](mailto:embastos@funed.mg.gov.br)