

Actividad antimicrobiana del Propol-5, un extracto etanólico de propóleos cubano

Antimicrobial activity of Propol-5, an ethanolic extract of Cuban propolis

Elizabeth Fuentes Feria^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-3409-1436>

Gilda Teresa Toraño Peraza² <https://orcid.org/0000-0002-2797-8549>

Rosario Esperanza Velar Martínez² <https://orcid.org/0000-0001-9507-0578>

Luis Enrique Rodríguez Rodríguez³ <https://orcid.org/0000-0003-1528-3448>

Brenda Barreto Núñez² <https://orcid.org/0000-0002-8160-9832>

Alberto Baly Gil² <https://orcid.org/0000-0001-7999-1801>

¹Hospital General Universitario “Vladimir Ilich Lenin”, Laboratorio de Biología Molecular. Holguín, Cuba.

²Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. La Habana, Cuba.

³Centro de Inmunología y Biopreparados de Holguín. Cuba.

*Autor para la correspondencia: eliff@nauta.cu; efuentesf1989@gmail.com

RESUMEN

Introducción: Se considera que aún no es suficiente la información que se tiene sobre las propiedades antimicrobianas del Propol-5, extracto etanólico de propóleos al 5 % producido en el Centro de Inmunología y Biopreparados, Holguín, Cuba.

Objetivo: Demostrar *in vitro* la actividad antimicrobiana del Propol-5 (CIBHO®).

Métodos: Se realizó una investigación experimental que incluyó cuatro lotes de Propol-5 para la determinación de la concentración mínima inhibitoria por el método de microdilución en caldo frente a cepas de referencia y aislados clínicos multirresistentes. Para la comparación de los resultados se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis.

Resultados: Se demostró actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (CMI = 3,12-25 mg/mL); *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (CMI = 12,5 mg/mL); *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (CMI = 6,25-12,5 mg/mL y CMI = 6,25-25 mg/mL, respectivamente); *Candida albicans* ATCC 90028 (CMI=1,56-6,25 mg/mL) y *Candida krusei* ATCC 6258 (CMI = 3,12-12,5 mg/mL). La CMI frente a aislados clínicos de *S. aureus* osciló entre 3,12-12,5 mg/mL; para *P. aeruginosa* y *Candida* spp. fue inferior, 3,12-6,25 mg/mL y 1,56-6,25 mg/mL, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas entre estos valores ($p > 0,05$).

Conclusiones: La demostración de la efectividad del Propol-5 (CIBHO®) para inhibir el crecimiento de levaduras y de bacterias grampositivas y gramnegativas confirma la actividad antimicrobiana que se dedujo para él a partir de la caracterización de otros extractos etanólicos de propóleos. El hecho de haber ratificado su actividad ante cepas clínicas multirresistentes permite, ante infecciones producidas por estas cepas, proponerlo como una alternativa terapéutica a considerar.

Palabras clave: propóleos; actividad antimicrobiana; actividad antibacteriana; actividad antifúngica.

ABSTRACT

Introduction: It is considered that the information on the antimicrobial properties of Propol-5, ethanolic extract of 5% propolis produced at the Center for Immunology and Biopreparates, Holguín, Cuba, is not yet sufficient.

Objective: Demonstrate *in vitro* the antimicrobial activity of Propol-5 (CIBHO®).

Methods: An experimental research was carried out that included four batches of Propol-5 to determine the minimum inhibitory concentration by the method of microdilution in broth against reference strains and multi-resistant clinical isolates. For the comparison of the results, the Kruskal-Wallis test was used.

Results: Antimicrobial activity was demonstrated against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (CMI = 3.12-25 mg/mL); *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (CMI = 12.5 mg/mL); *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (CMI = 6.25-12.5 mg/mL and CMI = 6.25-25 mg/mL, respectively); *Candida albicans* ATCC 90028 (CMI = 1.56-6.25 mg/mL) and *Candida krusei* ATCC 6258 (CMI = 3.12-12.5 mg/mL). CMI versus clinical isolates of *S. aureus* ranged from 3.12-12.5 mg/mL; for *P. aeruginosa* and *Candida* spp. was lower, 3.12-6.25 mg/mL and 1.56-6.25 mg/mL, respectively. No significant differences were found between these values ($p > 0.05$).

Conclusions: The demonstration of the effectiveness of Propol-5 (CIBHO®) to inhibit the growth of yeasts and gram-positive and gram-negative bacteria confirms the antimicrobial activity that was deduced for it from the characterization of other ethanolic extracts of propolis. The fact of having ratified its activity against multi-resistant clinical strains allows, in the face of infections produced by these strains, to propose it as a therapeutic alternative to consider.

Keywords: Propolis; antimicrobial activity; antibacterial activity; antifungal activity.

Recibido: 03/05/2021

Aceptado: 18/09/2021

Introducción

El propóleo es producido por las abejas a través de la mezcla de sus secreciones con los exudados de brotes y la savia de las plantas. Su fracción resinosa la integran compuestos fenólicos y flavonoides que actúan de manera sinérgica para conferirle actividad antibacteriana, antifúngica, antiviral, antioxidante e inmunomoduladora. También a los triterpenos pentacíclicos presentes en propóleo de los países tropicales se vincula su actividad antiinflamatoria, anticancerígena y antiviral. Su composición química es muy compleja y varía según la vegetación de donde las abejas recolectan la resina, la ubicación geográfica del apiario, el clima y la época de su cosecha.⁽¹⁾

En Cuba, los primeros estudios sobre las propiedades antimicrobianas de extractos de propóleo autóctonos demuestran la actividad *in vitro* de estos frente a cepas de referencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* y aislados de estreptococos β -hemolíticos del grupo A.^(2,3) También se ha confirmado para los propóleos rojos cubanos actividad antipsoriásica, antiinflamatoria y analgésica; y en ratas se comprueba que estos previenen las alteraciones de los hepatocitos provocadas por el efecto de la galactosamina.^(4,5) Estas observaciones atraen la atención sobre su potencial farmacológico para la prevención y tratamiento de diversas enfermedades.

El Centro de Inmunología y Biopreparados de Holguín (CIBHO), en el oriente de Cuba, se ocupa de la investigación, producción y comercialización de biopreparados de origen natural y cuenta entre sus elaboraciones con la tintura de propóleo al 5 %, el cual se comienza a producir en el 2011 y en el 2014 se logra su registro en el Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología del Ministerio de Salud Pública (Minsap), bajo el nombre Propol-5. Este se indica,

profilácticamente o como coadyuvante, en individuos con desorden del sistema inmune, dada su posible acción antibacteriana, antiparasitaria, antiinflamatoria, analgésica y cicatrizante, demostrada para otros propóleos a nivel internacional. Se utiliza, tanto en niños como en adultos, por vía tópica, oral o como colutorio.⁽⁶⁾ Sin embargo, aún es insuficiente la información sobre sus propiedades antimicrobianas específicas.

El presente estudio tiene el objetivo de demostrar *in vitro* la actividad antimicrobiana del Propol-5 (CIBHO®).

Métodos

Entre julio de 2019 y febrero de 2020 se llevó a cabo un estudio experimental para la evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* del Propol-5 en el Departamento de Bacteriología - Micología, Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK). Se evaluó una muestra de cuatro lotes diferentes de Propol-5 producidos a partir de una misma entrega al CIBHO de propóleos rojizo por parte de la empresa APICUBA. Dos de los lotes se liberaron en el 2018 (X180007 y X180008) y los otros en el 2019 (X190001 y X190002), su actividad antimicrobiana se determinó frente a las cepas de referencia: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 90028 y *Candida krusei* ATCC 6258. Se evaluó además su efecto sobre aislados clínicos de: *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *Candida* spp., siete en cada caso, con fenotipos conocidos de resistencia a antimicrobianos y conservados en las colecciones microbianas de los laboratorios del departamento de Bacteriología - Micología del IPK.

Se empleó el método de microdilución en caldo, siguiendo los protocolos M100 y M27-A3 del CLSI para determinar la actividad antibacteriana y antifúngica, y se tomaron en cuenta las recomendaciones de Cos y otros para demostrar el potencial antiinfectivo de productos naturales.^(7,8,9) La actividad antimicrobiana se informó en función de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del Propol-5, expresada en mg/mL, que inhibió el crecimiento en cada caso.

Para la evaluación de la actividad antibacteriana se utilizó el caldo Müller Hinton ajustado con cationes (CMHAC) (BioCen, Cuba) y placas de microdilución estériles de 96 pocillos de fondo U (Nunc™). Para la evaluación de la actividad antifúngica se empleó el medio sintético RPMI 1640 (por sus siglas en inglés, *Roswell Park Memorial Institute*) con glutamina y sin bicarbonato sódico (Sigma-Aldrich, EE. UU.) y placas de fondo plano (CELLSTAR®).^(7,9) De cada lote de Propol-5 se seleccionó un frasco al azar, a partir de los cuales se recubrieron las placas

necesarias para la evaluación de la actividad antibacteriana y antifúngica. En una misma placa se evaluó la actividad antimicrobiana de los cuatro lotes frente a una misma cepa de referencia. Para cada una de ellas la prueba se repitió 15 veces; de modo que para conseguir 30 réplicas de cada lote (120 determinaciones) se prepararon 15 placas de microdilución por cepa.

Para determinar la actividad antimicrobiana del Propol-5 frente a las cepas clínicas de *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *Candida* spp. se eligió un lote de este al azar. Se prepararon tres placas de microdilución; dos para la evaluación de la actividad antibacteriana del Propol-5 y una para la evaluación de su actividad antifúngica, recubriendo cada placa con las diferentes diluciones del lote de propóleos seleccionado. Durante el procedimiento de recubrimiento se realizaron controles de esterilidad a los cuatro lotes de Propol-5 y a los de medios de cultivo utilizados.

Los inóculos de las cuatro cepas bacterianas de referencia se prepararon en solución salina estéril a partir de cultivos de 18 - 24 horas en placas de agar sangre, hasta lograr una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de Mc Farland. De forma paralela se prepararon cuatro tubos (uno por cepa) con 4,95 mL de CMHAC y a cada uno se transfirieron 50 μ L de la suspensión correspondiente (dilución 1/100).^(8,9) Los inóculos de las dos cepas de referencia de especies de *Candida* se prepararon en solución salina estéril a partir de cultivos de 24 horas de crecimiento en placa de agar glucosado de Sabouraud. La concentración de la suspensión se ajustó a una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de Mc Farland. De forma paralela se prepararon dos tubos (uno por cepa) con 10 mL de medio RPMI 1640 y a cada uno se transfirieron 10 μ L de la suspensión correspondiente (dilución 1/1000).^(7,8)

Para la inoculación de las placas de microdilución se vertió en una tapa de placa de Petri estéril el contenido del tubo que contenía el inóculo preparado en el paso anterior. Con una pipeta multicanal se transfirieron entonces 50 μ L a cada uno de los pocillos de las microplacas para la evaluación de la actividad antibacteriana y 100 μ L en el caso de la antifúngica. La concentración final en los pozos fue de 5×10^5 UFC/mL y de $0,5 - 2,5 \times 10^3$ UFC/mL, respectivamente.

En las placas en que se determinó la actividad antibacteriana se empleó como control positivo de inhibición del crecimiento una suspensión de ofloxacina a 16 μ g/mL, ya que todas las cepas de referencia incluidas en la evaluación resultan inhibidas por concentraciones de ofloxacina $\leq 8 \mu$ g/mL.⁽⁹⁾ En las placas en las que se determinó la actividad antifúngica se empleó una suspensión de anfotericina B a 8 μ g/mL, teniendo en cuenta que el crecimiento de ambas cepas de referencia de *Candida* spp. se inhibe a concentraciones de anfotericina B $\leq 4 \mu$ g/mL.⁽¹⁰⁾

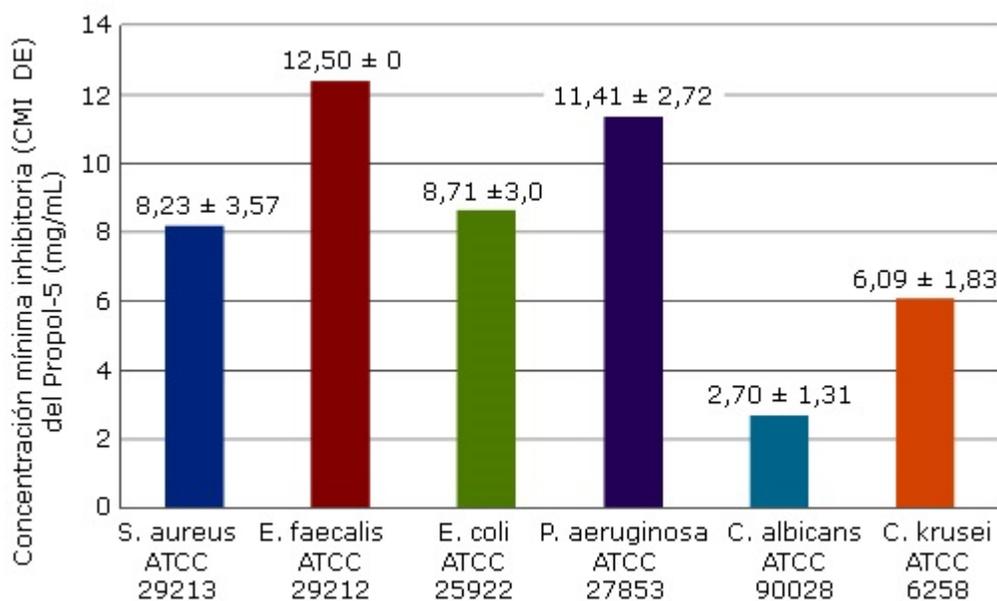
Para descartar el efecto del etanol sobre la actividad antibacteriana y antifúngica del Propol-5 se recubrieron cinco placas de microdilución, tres de fondo U y dos de fondo plano, respectivamente, con diluciones dobles de etanol al 96 %.⁽⁸⁾ Una placa de fondo U se utilizó para descartar el efecto del etanol sobre las cepas de referencia, la segunda frente a las cepas clínicas de *S. aureus* y la tercera frente a las de *P. aeruginosa*. Una placa de fondo plano se destinó a descartar el efecto del etanol sobre las cepas de referencia de levaduras y la otra frente a los aislados clínicos.

Los valores de CMI obtenidos al evaluar la actividad antimicrobiana de los cuatro lotes de Propol-5 frente a una misma cepa de referencia se compararon a través de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, declarando el contraste como estadísticamente significativo cuando la probabilidad asociada a la prueba fuera $p < 0,05$. Se calcularon además las medias de las CMI de los cuatro lotes de Propol-5 frente a cada una de las cepas de referencia para comparar descriptivamente la efectividad del Propol-5 sobre ellas. Estos análisis se realizaron con el programa estadístico IBM SPSS Statistics, versión 21.

Resultados

Actividad antimicrobiana del Propol-5 frente a cepas de referencia

S. aureus ATCC 29213 resultó la cepa de referencia de bacterias grampositivas más susceptible, mientras que *E. coli* ATCC 25922 fue la especie gramnegativa con mayor inhibición del crecimiento. Se constató una efectividad superior frente a *C. albicans* ATCC 90028 en comparación a *C. krusei* ATCC 6258. De manera general, *E. faecalis* ATCC 29212 se reveló como el microorganismo menos inhibido por el Propol-5, mientras que *C. albicans* ATCC 90028 fue el más susceptible; para el primero la media de la CMI fue de 12,5 mg/mL y para el segundo fue de 2,7 mg/mL (Fig.). Se descartó el efecto del etanol sobre la actividad antimicrobiana del Propol-5. El análisis estadístico de la comparación de las CMI de los diferentes lotes frente a una misma cepa no arrojó diferencias significativas ($p > 0,05$; 95 % de confiabilidad).



DE: desviación estándar.

Fig. - Medias de la concentración mínima inhibitoria del Propol-5 frente a cepas de referencia de especies de levaduras y bacterias grampositivas y gramnegativas, IPK 2020.

Actividad antimicrobiana del Propol-5 frente a cepas clínicas

El lote X180007 del Propol-5, elegido al azar para esta evaluación, inhibió el crecimiento de los aislados clínicos y se descartó el efecto del etanol sobre este resultado. El crecimiento de todas las cepas se inhibió también ante los antibióticos utilizados como controles de referencia.

Los siete aislados clínicos de *S. aureus* y los siete de *P. aeruginosa* resultaron sensibles a una concentración de 8 µg/mL de ofloxacina. Asimismo, los siete de *Candida* spp. fueron inhibidos a una concentración de 4 µg/mL de anfotericina B. Los valores de CMI del Propol-5 frente a los siete aislados de *S. aureus* oscilaron entre 3,12 a 12,50 mg/mL y para *P. aeruginosa* y *Candida* spp. fluctuaron entre 3,12 a 6,25 mg/mL y 1,56 a 6,25 mg/mL, respectivamente (Tabla).

Tabla - Valores de concentración mínima inhibitoria del Propol-5 frente a las cepas clínicas sobre las que se evaluó su actividad antimicrobiana, IPK 2020.

Aislado clínico	Concentración mínima inhibitoria (mg/mL)		
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Candida</i> spp.
1	6,25	6,25	6,25
2	12,5	6,25	6,25
3	3,12	6,25	1,56
4	3,12	6,25	1,56
5	6,25	6,25	6,25
6	3,12	3,12	3,12
7	3,12	6,25	1,56

De manera general se registraron intervalos de CMI contenidos en los informados para las cepas de referencia; solo para el aislado clínico No. 2 de *S. aureus* fue necesaria una CMI de 12,5 mg/mL, no obstante, esta fue inferior a la CMI más alta que se registró para la cepa *S. aureus* ATCC 29213 (25 mg/mL). Para los aislados de *Candida* spp. se observó una diferencia equivalente a una dilución del Propol-5, se consideraron para el análisis también los resultados, para la cepa de referencia

Para los aislados No. 1, 2 y 5 de esta especie se informaron los valores de CMI más altos (6,25 mg/mL); no obstante, estos coincidieron con la CMI máxima para *C. albicans* ATCC 90028, pero, fueron inferiores a la máxima CMI para *C. krusei* ATCC 6258 (12,5 mg/mL). Por otro lado, el único aislado de *C. krusei* incluido en la evaluación (No. 7) resultó ser sensible al Propol-5 a una CMI incluso inferior al rango de CMI registrado para la cepa de referencia homóloga (3,12 a 12,5 mg/mL). Finalmente, para seis de los aislados de *P. aeruginosa* se observó una CMI de 6,25 mg/mL, valor que coincide con el límite inferior del rango registrado para la cepa de referencia; para uno de ellos (No. 6) se demostró que el Propol-5 inhibió el crecimiento a una CMI, incluso menor.

Discusión

La actividad antibacteriana del propóleo depende en mayor medida del sinergismo entre los flavonoides y los ácidos fenólicos. Su acción bacteriostática y bactericida responde a mecanismos que conducen: i) a desorganizar la pared celular bacteriana y la membrana citoplasmática, ii) a la inhibición de la síntesis de proteínas y de los ácidos nucleicos o, iii) a la disminución de la motilidad bacteriana. Todo lo anterior puede potenciar la acción de los antibióticos y contribuir a que las bacterias queden vulnerables al ataque del sistema inmunológico. Por otro lado, la actividad antifúngica, atribuida fundamentalmente al ácido cafeico, al coumarato de bencilo, la pinocambрина, la pinobanksina y a los ésteres fenólicos, también se supedita a los mecanismos antes mencionados, los que en última instancia conducen a la inhibición del crecimiento y a cambios en la morfología del hongo.⁽¹¹⁾

En el CIBHO a partir de la caracterización química del Propol-5 se comprobó de forma cualitativa, previamente a este estudio, la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides del tipo antocianidinas, lactonas y coumarinas, quinonas, triterpenos y resinas (datos no publicados). Esto confirmó que su composición no difiere de la de otros propóleos rojos y amarillos colectados en diferentes zonas del país y estimuló los esfuerzos por confirmar su actividad antimicrobiana.

El hecho de que *S. aureus* ATCC 29213 resultara la cepa más susceptible de todas las incluidas en la evaluación de la actividad antimicrobiana del Propol-5, aunque el análisis estadístico de la comparación de las CMI no arroja diferencias significativas, se apega a lo descrito por otros autores, como *Lozano-Guzmán* y otros en México, aunque ellos evalúan concentraciones superiores del producto (20 %, CMI: $9,33 \pm 3,16$ mg/mL y 30 %, CMI: $7,1 \pm 5,86$ mg/mL).⁽¹²⁾ El hecho que *E. faecalis* ATCC 29212 se revelara como la menos susceptible a la acción del Propol-5 se ajusta también a lo descrito por otros estudios. Por ejemplo, en un trabajo en el que se compara el efecto antibacteriano de un extracto hidroalcohólico de propóleos al 30 % con el del hidróxido de calcio sobre esta misma cepa se demuestra un mayor efecto de este último en la inhibición del crecimiento bacteriano.⁽¹³⁾

El efecto del Propol-5 puesto de manifiesto sobre *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 27853 constituye un resultado a destacar pues algunas evaluaciones de tinturas de propóleos concuerdan con que estos son solo efectivos contra bacterias grampositivas.⁽¹⁴⁾ No obstante, múltiples estudios reconocen la actividad antibacteriana de los propóleos sobre las bacterias gramnegativas. Este es el caso de *Boufadi* y otros, quienes lo comprueban para seis extractos de propóleos argelinos sobre cepas de referencia de bacterias enteropatógenas (*Shigella dysenteriae* CECT 524, *Shigella sonnei* CECT 584 y *E. coli* ATCC 25922).⁽¹⁵⁾

En este mismo orden de ideas se impone comentar que el efecto revelado para el Propol-5 sobre las dos cepas ATCC de levaduras incluidas en la presente evaluación armoniza con lo que comunican otros estudios. Por ejemplo, en Oxapampa, Perú, se demostró mayor susceptibilidad de *C. albicans* ATCC 90028 ante extractos de propóleos entre el 10 % y el 30 % (CMI = 12 mg/mL), respecto a *C. glabrata* ATCC 90030 y *C. krusei* ATCC 6258 mediante el método de difusión en agar.⁽¹⁶⁾ También, García y otros informaron una efectividad del propóleos superior sobre *C. albicans* en comparación con *C. guilliermondii* y sugieren que en estas diferencias pudiera influir el contenido de alcohol en cada uno de los extractos etanólicos.⁽¹⁷⁾ Sin embargo, en el presente estudio el efecto del etanol sobre la actividad antimicrobiana del Propol-5 quedó descartado, pues por sí solo no provocó inhibición del crecimiento microbiano en ningún caso. El etanol funcionó solo como solvente del extracto crudo de propóleos para la preparación de la tintura al 5 %.

Ota y otros también demuestran una clara actividad fungicida para estos productos naturales en el siguiente orden de sensibilidad para las diferentes especies: *C. albicans* > *C. tropicalis* > *C. krusei* > *C. guilliermondii*.⁽¹⁸⁾ En cambio, de Fátima Dantas y otros corroboran la acción antimicótica de tinturas de propóleos brasileños a una concentración de 200 mg/mL sobre *C. krusei* ATCC 6538 y *C. tropicalis* ATCC 13803 pero no sobre *C. albicans* ATCC 76618; y adjudicaron este resultado a las diferencias fenotípicas entre las especies y a la expresión de diferentes factores de virulencia.⁽¹⁹⁾ A pesar de estas divergencias entre especies la mayoría de los estudios indican que el propóleos tiene una actividad significativamente mejor respecto a los antifúngicos disponibles para el tratamiento, frente a levaduras recuperadas de cultivos de sangre. Este es el caso de aislados de *C. glabrata* resistentes o sensibles dependientes de las dosis para el fluconazol y el itraconazol.⁽²⁰⁾

Ratificar, frente a los aislados clínicos de *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *Candida* spp. la actividad antimicrobiana que se observó para el Propol-5 ante las cepas de referencia correspondientes, constituye, sin dudas, el colofón del presente estudio. En este punto, es perentorio retomar el dato de que se demostró la actividad antibacteriana del lote X180007 de Propol-5 frente a los siete aislados de *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM). La vancomicina es el antibiótico de elección para el tratamiento de las infecciones causadas por este patógeno. Ante la aparición de susceptibilidad disminuida o de aislados resistentes a ella, se prescriben los fármacos de última línea: linezolid, daptomicina, tigeciclina y las cefalosporinas de quinta generación.⁽²¹⁾ En este contexto contar con alternativas terapéuticas como el propóleos plantea nuevas posibilidades a tomar en consideración.

Frente al fenotipo SARM se proponen varios mecanismos de acción para el propóleo. Entre ellos se destaca el que plantea que la formación de enlaces de hidrógeno entre el anillo B de los flavonoides del propóleo y los ácidos nucleicos de la bacteria inhiben su síntesis. Se citan además otros como la actividad lipofílica de la galangina que conduce a la pérdida de potasio y a la consiguiente degradación de la membrana celular bacteriana; y la sustitución en las posiciones 6 y 8 con una larga cadena de grupos alifáticos tales como el lavandulilo (5-metil-2-isopropenil-hex-4-enil) o el geranil (trans-3,7-dimetil-2,6-octadienil), a los que se les atribuye actividad antibacteriana.⁽²²⁾

La demostración de la actividad antibacteriana del lote X180007 frente a los siete aislados clínicos de *P. aeruginosa* es también un resultado sugestivo. Entre ellos quedaron contenidos aislados resistentes a meropenem e incluso uno resistente a colistina, últimas alternativas disponibles para el tratamiento de infecciones que produce esta especie, pues esta es resistente intrínsecamente a la mayoría de las penicilinas, cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación (excepto ceftazidima), tetraciclinas, cotrimoxazol y rifampicina.⁽²³⁾

La actividad antibacteriana de propóleos frente a aislados de *Pseudomonas* spp. se atribuye a varios compuestos bioactivos contenidos en estos. Uno de ellos es la formonnetina (7-hidroxi-4'-metoxi isoflavona), isoflavonoide presente en propóleos rojos cubanos para el que se demuestra actividad *in vitro* frente a las cepas *P. aeruginosa* ATCC 9027, *P. aeruginosa* ATCC P-12 y *P. aeruginosa* ATCC P-03. Otro, el (6aS, 11aS)-medicarpina, isoflavonoide de similar procedencia, es efectivo para la inhibición del crecimiento de esta especie a una CMI de 32 µg/mL.^(24,25) Asimismo, De Marco y otros demuestran por primera vez la capacidad de los extractos de propóleos para reducir la formación de biopelículas de *P. aeruginosa*.⁽²⁶⁾

La evidencia de la susceptibilidad de los siete aislados clínicos de *Candida* spp. evaluados constituye una observación a favor del empleo del Propol-5 en el tratamiento de las infecciones por levaduras resistentes a los antifúngicos disponibles. La inclusión de seis *C. albicans* y una *C. krusei* aisladas de muestras vaginales y procedente de una candidiasis oral, respectivamente, obedeció a la frecuencia de ambas especies como agentes causales de este tipo de infecciones y, en particular, a que suelen mostrar susceptibilidad reducida o resistencia a los agentes antimicóticos de administración común e incluso resistencia intrínseca a fluconazol, como es el caso de *C. krusei*.⁽²⁷⁾

C. albicans se reconoce como la causa más frecuente de la candidiasis vulvovaginal no complicada y aunque solo entre el 5 % y el 8 % de los casos se vuelve crónica, las recurrencias suponen un reto para los ginecólogos y repercuten negativamente

en la calidad de vida de las mujeres que la padecen. El arsenal terapéutico para su tratamiento es limitado; el fluconazol y la nistatina constituyen los antifúngicos más utilizados pero esta última tiene un efecto terapéutico menor y el fluconazol se asocia al desarrollo de resistencias en especies diferentes de *C. albicans*, como por ejemplo, *C. krusei*.⁽²⁸⁾

Varios autores reportan la presencia de compuestos químicos en el propóleo que podrían jugar un papel fundamental en la inhibición del crecimiento de levaduras del género *Candida*. Tal es el caso de los isoflavonoides isosativan (2'-hidroxi-4',7-dimetoxi isoflavano) y el pterocarpano medicarpina (3-hidroxi-9-metoxi pterocarpano). Ambos metabolitos se consideran marcadores de los propóleos rojos cubanos y solo se encuentran en estos y en propóleos brasileños. También para la formononetina se verifica actividad antifúngica, a una CMI de 25 µg/mL, frente a las levaduras *C. albicans* ATCC 76645, *C. albicans* LM P-20, *C. tropicalis* ATCC 13803, *C. tropicalis* LM 6, *C. neoformans* ICB 59 y *C. neoformans* LM 2601.⁽²⁹⁾

A modo de consideración final, se puede recomendar el Propol-5, según las evidencias generadas a través del presente estudio sobre su actividad antibacteriana y antifúngica, como un excelente antimicrobiano para el tratamiento de algunos procesos infecciosos, teniendo en cuenta, además, que el propóleo resulta una alternativa económica y poco tóxica. Sin embargo, esta recomendación deberá estar precedida de evaluaciones clínicas. Por un lado, porque el Propol-5 se registra y comercializa en Cuba bajo la marca CIBHO® para uso tópico, como colutorio o para su ingestión diluido con agua; y por otro, porque muchos de los mecanismos de acción del propóleo no están esclarecidos y no se conoce su interacción con los fármacos usados para tratar las mismas afecciones. Un ejemplo que ilustra esto último es el antagonismo demostrado por Lozano y otros para el propóleo y las quinolonas de segunda generación (levofloxacina y ciprofloxacina).⁽³⁰⁾

La demostración de la efectividad del Propol-5 (CIBHO®) para inhibir el crecimiento de levaduras y de bacterias grampositivas y gramnegativas confirma la actividad antimicrobiana que se deducía para él a partir de la caracterización de otros extractos etanólicos de propóleos. El hecho de haber ratificado su actividad ante aislados clínicos multirresistentes permite proponerlo como una alternativa terapéutica a considerar ante infecciones producidas por estas.

Referencias bibliográficas

1. Rodríguez B, Canales MM, Penieres JG, Cruz TA. Composición química, propiedades antioxidantes y actividad antimicrobiana de propóleos mexicanos. *Acta Universitaria*. 2020;30:1-30. DOI: [10.15174/au.2020.2435](https://doi.org/10.15174/au.2020.2435)
2. Cuéllar A, Rojas NM, Martínez J. Nueva estructura antimicrobiana del propóleo colectado en Cuba. *Rev Cubana Farm*. 1990;24(1):51-8.
3. Obregón AM, Rojas NM. Acción antimicrobiana de los extractos alcohólicos del propóleo. *Rev Cubana Farm*. 1990;24(1):34-44.
4. Ledón N, Casacó A, González R, Merino N, González A, Tolón Z. Efectos antipsoriásico, antiinflamatorio y analgésico del propóleos rojo colectado en Cuba. *Rev Cubana Farm*. 1996 [acceso 10/09/2020];30(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75151996000100008
5. Rodríguez S, Ancheta O, Ramírez D, González A, Merino N, González R. Efecto protector del propóleos rojo cubano, ante el daño agudo inducido en hepatocitos de roedores. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 1998;29(2):69-72.
6. Góngora W, Escalona A, Álvarez AB, Miranda MB, Tamayo E, Sánchez R. Producción de tinturas de propóleos en el Centro de Inmunología y Biopreparados de Holguín. *Correo Científico Médico*. 2012 [acceso 10/09/2020];16(3 Supl 1). Disponible en: <http://www.revcocmed.sld.cu/index.php/cocmed/article/view/883>
7. CLSI. Reference Method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved Standard - Third Edition. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
8. Cos P, Vlietinck AJ, Vanden Berghe D, Maes L. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger *in vitro* 'proof-of-concept'. *J Ethnopharmacol*. 2006;106:290-302. DOI: [10.1016/j.jep.2006.04.003](https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.04.003)
9. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 29th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2019.
10. CLSI. Performance Standards Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 1st ed. CLSI supplement M60. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.

11. Velasquez BD, Montenegro SP. Actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de propóleos obtenidos de abejas *Apis mellifera*. RIAA. 2017;8(1):185-93. DOI: [10.22490/21456453.1848](https://doi.org/10.22490/21456453.1848)
12. Lozano-Guzmán E, López-Guzmán OD, Bocanegra-Salazar M, Davis-Figueroa LC, de la Cruz Flores LB, Cervantes Flores M. Interacción sinérgica de propóleo (Propolis) y orégano (*Lippia graveolens* Kunth s.l.) contra *Staphylococcus aureus*. Rev Mex Cienc Farm. 2013 [acceso 10/09/2020];44(4):73-8. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952013000400009
13. González ME. Inhibición bacteriana entre extracto hidroalcohólico de propóleo al 30 % e hidróxido de calcio en colonias de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) *in vitro* [tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista]. [Perú]: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2018 [acceso 12/10/2020]. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/>
14. Balboa N, Núñez D, Alvear M, Cerón A, Paredes M. Evaluación *in vitro* de la actividad antimicrobiana de un propóleo chileno sobre muestras clínicas de exudados bucofaríngeos y cepas ATCC. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. 2018 [acceso 12/10/2020];17(6):541-54. Disponible en: <https://n9.cl/rjx9q>
15. Boufadi YM, Soubhye J, Neve J, Van Antwerpen P, Ali Riazi A. Antimicrobial effects of six Algerian propolis extracts. International Journal of Food Science and Technology. 2016;51:2613-20. DOI: [10.1111/ijfs.13247](https://doi.org/10.1111/ijfs.13247)
16. León G, Sacsquispe S, Zurita S. Efecto antifúngico *in vitro* sobre el crecimiento en *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida glabrata* ATCC 90030 y *Candida krusei* ATCC 6258 expuestas al propóleos de Oxapampa a las 24, 48 y 120 horas. Revista de Investigación de la Universidad Norbert Wiener. 2014 [acceso 12/10/2020];3:23-9. Disponible en: https://intranet.uwiener.edu.pe/univwiener/portales/centroinvestigacion/documentacion/revista_3/003_Leon.pdf
17. García A, Ucar A, Ballester L. Eliminación de *Candida albicans* con extracto etanólico de propóleo comercial de *Apis mellifera* del estado Mérida, en bases de prótesis parciales removibles. Revista odontológica de los Andes. 2014 [acceso 15/08/2020];19(1):4-14. Disponible en: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/odontoula/article/view/6995>

18. Ota C, Unterkircher C, Fantinato V, Shimizu MT. Antifungal activity of propolis on different species of *Candida*. *Mycoses*. 2001;44(9-10):375-8. DOI: [10.1046/j.1439-0507.2001.00671.x](https://doi.org/10.1046/j.1439-0507.2001.00671.x)
19. de Fátima Dantas L, Wanderley Y, Lira R, de Oliveira E, Dias R. Efeito antifúngico de tinturas de própolis e romã sobre espécies de *Candida*. *Rev Cubana Estomatol*. 2012 [acceso 10/09/2020];26(2):99-106. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/est/v49n2/est03212.pdf>
20. Mutlu F, Berk E, Nedret A, Sav H, Demir G. Antifungal Activity of Propolis Against Yeasts Isolated From Blood Culture: *In Vitro* Evaluation. *J Clin Lab Anal*. 2016;30:513-6. DOI: [10.1002/jcla.21889](https://doi.org/10.1002/jcla.21889)
21. Rincón S, Panesso D, Díaz L, Carvajal L, Reyes J, Munita JM, *et al*. Resistencia a antibióticos de última línea en cocos Gram positivos: la era posterior a la vancomicina. *Biomedica*. 2014;34(01):191-208. DOI: [10.1590/S0120-41572014000500022](https://doi.org/10.1590/S0120-41572014000500022)
22. Vargas-Sánchez RD, Torrescano-Urrutia GR, Mendoza-Wilson AM, Vallejo-Galland B, Acedo-Félix E, Sánchez-Escalante JJ, *et al*. Mecanismos involucrados en la actividad antioxidante y antibacteriana del propóleo. *Biotecnia*. 2014 [acceso 10/09/2020];XVI(1):32-7. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/hevila/Biotecnia/2014/vol16/no1/6.pdf>
23. Álvarez-Otero J, Lamas-Ferreiro JL, González-González L, Rodríguez-Conde I, Fernández-Soneira MJ, Arca-Blanco A, *et al*. Resistencia a carbapenemas en *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en urocultivos: prevalencia y factores de riesgo. *Rev Esp Quimioter*. 2017 [acceso 12/10/2020];30(3):195-200. Disponible en: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/30/3/completo.pdf>
24. Marques MV, Sarmiento TM, de Oliveira E, Leitão EV, de Jesus E. Isoflavone formononetin from red propolis acts as a fungicide against *Candida* sp. *Braz J of Microbiol*. 2016;47:159-66. DOI: [10.1016/j.bjm.2015.11.009](https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.009)
25. Inui S, Hatano A, Yoshino M, Hosoya T, Shimamura Y, Masuda S, *et al*. Identification of the phenolic compounds contributing to antibacterial activity in ethanol extracts of Brazilian red propolis. *Nat Prod Res*. 2014;28:1293-6. DOI: [10.1080/14786419.2014.898146](https://doi.org/10.1080/14786419.2014.898146)
26. De Marco S, Piccioni M, Pagiotti R, Pietrella D. Antibiofilm and antioxidant activity of propolis and bud poplar resins versus *Pseudomonas aeruginosa*. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2017;2017:1-11. DOI: [10.1155/2017/5163575](https://doi.org/10.1155/2017/5163575)

27. Zurita S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2018;35(1):126-31. DOI: [10.17843/rpmesp.2018.351.3563](https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3563)
28. Perurena M, Pérez Y, Fernández CM, Martínez G, Illnait MT. Susceptibilidad antifúngica de aislados vaginales de *Candida* spp. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2016 [acceso 12/10/2020];68(3):248-54. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v68n3/mtr07316.pdf>
29. Trusheva B, Popova M, Bankova V, Simova S, Marcucci MC, Laguna P. Bioactive constituents of Brazilian red propolis. eCAM. 2006;3(2):249-54. DOI: [10.1093/ecam/nel006](https://doi.org/10.1093/ecam/nel006)
30. Lozano E, López OD, Salazar M, Nieto G, Moreno FJ, Vertiz AA. Efecto antagónico de propóleo sobre ciprofloxacino y levofloxacino. Colección memorias de los Congresos de la Sociedad Química de México. 52.º Congreso Mexicano de Química y 36.º Congreso Nacional de Educación Química; 2017 p. 91-3. Disponible en: http://sqm.org.mx/PDF/2017/memorias2017/19Memorias_QMED.pdf

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Elizabeth Fuentes Feria, Gilda Teresa Toraño Peraza.

Administración del proyecto: Elizabeth Fuentes Feria.

Investigación: Elizabeth Fuentes Feria, Gilda Teresa Toraño Peraza, Rosario Esperanza Velar Martínez, Luis Enrique Rodríguez Rodríguez, Brenda Barreto Núñez.

Visualización: Elizabeth Fuentes Feria, Gilda Teresa Toraño Peraza.

Análisis formal: Alberto Baly Gil.

Redacción - borrador original: Elizabeth Fuentes Feria, Gilda Teresa Toraño Peraza, Rosario Esperanza Velar Martínez, Luis Enrique Rodríguez Rodríguez, Brenda Barreto Núñez

Redacción - revisión y edición: Elizabeth Fuentes Feria, Gilda Teresa Toraño Peraza, Rosario Esperanza Velar Martínez, Luis Enrique Rodríguez Rodríguez.

Financiación

Este estudio se realizó con fondos propios del Laboratorio de Aseguramiento de la Calidad del Cibho y del Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, Departamento de Bacteriología - Micología del IPK.