



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
AGROALIMENTAR PROGRAMA DE PÓS-  
GRADUAÇÃO EM SISTEMAS AGROINDUTRIAIS-  
PPGSA

**EDLENE RÉGIS SILVA PIMENTEL**

**FUNGOS PATOGÊNICOS E A DESMISTIFICAÇÃO DO CONTROLE COM  
O EXTRATO DE PRÓPOLIS EM VINHO BRANCO**

POMBAL – PB  
2020

**EDLENE RÉGIS SILVA PIMENTEL**

**FUNGOS PATOGÊNICOS E A DESMISTIFICAÇÃO DO CONTROLE COM  
O EXTRATO DE PRÓPOLIS EM VINHO BRANCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais PPGSA, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre da Universidade Federal de Campina Grande UFCG/CCTA.

**Orientador:** Prof. D. Sc. Paulo Alves Wanderley

P644f Pimentel, Edlene Régis Silva.  
Fungos patogênicos e a desmistificação do controle com o extrato de própolis em vinho branco / Edlene Régis Silva Pimentel. – Pombal, 2020.  
52 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2020.

“Orientação: Prof. Dr. Paulo Alves Wanderley”.  
Referências.

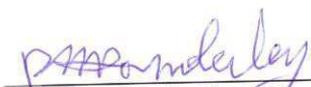
1. Própolis. 2. Mycoses. 3. Doenças fúngicas. 4. Fungos. 5. Infecção por fungos. I. Wanderley, Paulo Alves. II. Título.

CDU 638.135(043)

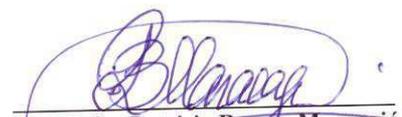
**FUNGOS PATOGÊNICOS E A DESMISTIFICAÇÃO DO CONTROLE COM O EXTRATO DE PRÓPOLIS EM VINHO BRANCO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Pombal-PB, em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Mestre (M.Sc.) em Sistemas Agroindustriais.

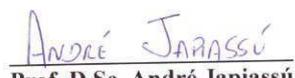
**COMISSÃO EXAMINADORA**



**Prof. D.Sc. Paulo Alves Wanderley**  
Orientador



**Prof. D.Sc. Patrício Borges Maracajá**  
Examinador Interno



**Prof. D.Sc. André Japiassú**  
Examinador Externo

Pombal - PB, 20 de janeiro de 2020

## AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, fonte de vida, inspiração, dono de toda ciência, sabedoria e poder, sem o qual nada sou que me concedeu esta oportunidade e me capacitou para a caminhada. A Ele toda Honra e toda a glória.

Ao meu querido ORIENTADOR Prof. D. Sc. Paulo Alves Wanderley, pela sua disponibilidade em prestar toda orientação, esclarecimento e pelo acompanhamento durante a execução de todo o trabalho, que Deus o proporcione saúde e vida longa para continuar ajudando e cumprindo com sua missão que é ver seus alunos obtendo êxito na vida. A você meu amigo, minha eterna gratidão.

Quero externar os meus agradecimentos ao Prof. D. Sc. Patrício Borges Maracajá, o qual não poderia deixar de agradecer pela oportunidade. Que Deus proporcione vida longa com a saúde do corpo e da alma para que continue desempenhando tão bem o seu papel com amor e dedicação em ser um Professor e amigo para com seus alunos. Muito obrigada!

Ao meu pai Edmilson Couras, por sempre se orgulhar de cada passo percorrido. Ao meu marido Herick, parceiro, cúmplice, amigo, meu ouvinte atento e sábio nas horas mais difíceis. Apesar das minhas dificuldades, dos estresses, soube ser compreensivo e incentivar-me a prosseguir. Aos meus filhos, Maria Helena e Pedro, as heranças que recebi do Senhor, seus sorrisos e abraços me deram muita força nesta caminhada.

Às minhas sobrinhas Jeovanesa, e Flávia e Danielle, pelas palavras de força que sempre me fizeram persistir, pelas orações e apoio em todos os momentos em minha vida.

As minhas irmãs Eclésia, Mônica, Olga e Hortência, vocês foram o apoio que me deram força para concluir esse trabalho.

Ao meu colega do laboratório de microbiologia Damião, pelos ensinamentos e conhecimentos compartilhados durante as análises de laboratório, o meu muito obrigado.

A Normando, pela paciência e boa vontade. Gratidão!

A minha querida Roberta, pelo auxílio e troca de conhecimento.

Ao programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais, por proporcionar a realização deste curso de mestrado.

## RESUMO

A própolis é um material resinoso coletado pelas abelhas por diversas partes das plantas, como folhas, brotos, sendo utilizados para embalsar animais que tenham morrido dentro da colmeia, vedar as paredes e conferir proteção frente às doenças. A utilização desse produto natural com finalidade medicinal remete a antiguidade, tendo evidências de seu emprego junto as antigas civilizações, como a Grega, Romana e Egípcia, mantendo-se até os dias atuais com finalidades terapêuticas, médicas e veterinárias. O objetivo desse trabalho foi examinar a citotoxicidade *in vitro* do extrato da própolis em vinho branco contra gêneros específicos de fungos, desmitificando a atividade antifúngica para determinadas cepas. Foram utilizadas amostras de própolis produzidas por abelhas *Apis mellifera*, chegando à forma *in natura*, sendo trituradas e misturadas ao vinho branco, tendo como produto final o extrato da própolis, para posteriormente apresentar as concentrações desejadas para pesquisa, sendo estas 0,5%, 1,0% e 2,0%, e em seguida, utilizado como tratamento antifúngico contra as cepas *microsporum gypseum*, *aspergillus niger*, *trichophyton mentagrophytes*, e por último, *madurella mycetomatis*. De modo geral, os extratos de própolis vermelha oriunda da cidade Baía da Traição, município do estado da Paraíba, na região do Nordeste brasileiro, não possui potencial antifúngico contra as espécies do gênero nas concentrações de (0,5%, 1,0% e 2,0%), utilizando-se de vinho branco para construção de seu extrato. Os resultados evidenciam baixo efeito citotóxico sobre as cepas estudadas.

**Palavras-chave:** Própolis. Mycoses. Doenças Fúngicas. Fungos. Infecção por Fungos.

## ABSTRACT

Propolis is a resinous material collected by bees from various parts of plants, such as leaves, buds, and is used to embalm animals that have died inside the hive, seal the walls and provide protection against disease. The use of this natural product for medicinal purposes goes back to antiquity, with evidence of its use with ancient civilizations, such as the Greek, Roman and Egyptian, and it remains today with therapeutic, medical and veterinary purposes. The aim of this study was to examine the *in vitro* cytotoxicity of the propolis extract in white wine against specific genera of fungi, demystifying the antifungal activity strains. Samples of propolis produced by *Apis mellifera* bees were used, arriving in the fresh form, being crushed and mixed with white wine, having as a final product the propolis extract, to later present the desired concentrations for research, these being 0.5%, 1.0% and 2.0%. Then, used as an antifungal treatment against *Microsporum gypseum*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, and finally, *Madura mycetomatis*. In general, red propolis extracts from the city of Baía da Traição, a municipality in the state of Paraíba, in the Northeast region of Brazil, do not have antifungal potential against species of the genus in concentrations of (0.5%, 1.0% and 2.0%), using white wine to build its extract. The results show a low cytotoxic effect on the strains studied.

**Keywords:** Propolis. Mycoses. Fungal diseases. Fungi. Fungal infection.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	– Aspecto físico das amostras de própolis bruta verde (A) brasileira.....	1 4
<b>Figura 2</b>	– Aspecto físico das amostras de própolis bruta vermelha (B) brasileira.....	1 4
<b>Figura 3</b>	– Placa eritematosa com descamação e bordas elevadas na <i>Tinea corporis</i> ...	1 7
<b>Figura 4</b>	– Colônia de <i>Aspergillus niger</i> . Cultura de <i>A. niger</i> em placa de Petri com meio de cultivo Ágar Batata Dextrose.....	1 9
<b>Figura 5</b>	– Aspecto microscópico: Cabeça <i>aspergilar</i> de <i>Aspergillus niger</i> .....	2 0
<b>Figura 6</b>	– Colônia de <i>Trichophyton Mentagrophytes</i> .....	2 2
<b>Figura 7</b>	– <i>Tinea capitis</i> .....	2 3
<b>Figura 8</b>	– <i>Eumicetomas</i> em estado crônico.....	2 4
<b>Figura 9</b>	– Amostras brutas da própolis.....	2 6
<b>Figura 10</b>	– Cepas.....	2 7
–	..	7

<b>Tabela 1</b> –	Composição química geral de própolis, tipos de própolis mais difundidos, assim como suas origens geográficas e seus constituintes químicos principais.....	1 3
<b>Tabela 2</b> –	Classificação da própolis brasileira de acordo com as características físico-químicas e origem.....	1 5
<b>Tabela 3</b> –	Posologia dos antifúngicos sistêmicos para adultos e crianças (> 2 anos) com <i>Tinea corporis</i> .....	1 8
<b>Tabela 4</b> –	Extrato da própolis utilizado nas três diluições.....	2 8
<b>Tabela 5</b> –	Concentrações finais do extrato da própolis após o acréscimo dos 2% do extrato da própolis.....	2 9
<b>Tabela 6</b> –	<b>Tabela 6</b> – <i>Screening</i> antifúngico do extrato da própolis a uma concentração de (0,5%), frente a isolados patogênicos de diferentes espécies de <i>fungos</i> .....	3 0
<b>Tabela 7</b> –	<b>Tabela 7</b> – <i>Screening</i> antifúngico do extrato da própolis a uma concentração de (1,0%), frente a isolados patogênicos de diferentes espécies de <i>fungos</i> .....	3 2
<b>Tabela 8</b> –	<b>Tabela 8</b> – <i>Screening</i> antifúngico do extrato da própolis a uma concentração de (1,0%), frente a isolados patogênicos de diferentes espécies de <i>fungos</i> .....	3 3
<b>Tabela 9</b> –	<b>Tabela 9</b> – <i>Screening</i> antifúngico do extrato da própolis a uma concentração de (0,5%), frente a isolados patogênicos de diferentes espécies de <i>fungos</i> .....	3 4
<b>Tabela 10</b>	<b>Tabela 10</b> – <i>Screening</i> antifúngico do extrato da própolis a uma –concentração de (1,0%), frente a isolados patogênicos de diferentes espécies de <i>fungos</i> .....	3 5
<b>Tabela 11</b>	<b>Tabela 11</b> – <i>Screening</i> antifúngico do extrato da própolis a uma concentração de (2,0%), frente a isolados patogênicos de diferentes espécies de <i>fungos</i> .....	3 5

## SUMÁRIO

<b>1</b>	9
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	1
<b>2</b>	1
<b>OBJETIVOS.....</b>	1
<b>2.1 Objetivo</b>	1
<b>Geral.....</b>	1
<b>2.2 Objetivos</b>	1
<b>Específicos.....</b>	1
<b>3 REVISÃO DE</b>	2
<b>LITERATURA.....</b>	1
<b>3.1 Própolis: definição e</b>	2
<b>características.....</b>	1
<b>3.1.1 Composição química e classificação da</b>	2
<b>própolis.....</b>	1
<b>3.1.2 Funções biológicas e aplicações</b>	5
<b>terapêuticas.....</b>	1
<b>3.2 <i>Microsporium gypseum</i>: definição, patogênese e fatores de</b>	6
<b>risco.....</b>	1
<b>3.2.1 Aspectos</b>	7
<b>clínicos.....</b>	1
<b>3.2.2 Diagnóstico e</b>	7
<b>tratamento.....</b>	1
<b>3.3 <i>Aspergillus niger</i>: definição, patogênese e fatores de</b>	8
<b>risco.....</b>	2
<b>3.3.1 Aspectos</b>	0
<b>clínicos.....</b>	2
<b>3.3.2 Diagnóstico e</b>	1
<b>tratamento.....</b>	2
<b>3.4 <i>Trichophyton Mentagrophytes</i>: definição, patogênese e fatores de</b>	1
<b>risco.....</b>	2
<b>3.4.1 Aspectos</b>	2
<b>clínicos.....</b>	2
<b>3.4.2 Diagnóstico e</b>	3
<b>tratamento.....</b>	2
<b>3.5 <i>Madurella mycetomatis</i>: definição, patogênese e fatores de</b>	3
<b>risco.....</b>	2
<b>3.5.1 Aspectos</b>	4
<b>clínicos.....</b>	2
<b>3.5.2 Diagnóstico e</b>	5
<b>tratamento.....</b>	2
<b>4 MATERIAL E</b>	6
<b>MÉTODOS.....</b>	2
<b>4.1 Coleta das</b>	6
<b>amostras.....</b>	2
<b>4.2</b>	7
<b>Microrganismos.....</b>	2
<b>4.3 Preparo das</b>	7

## SUMÁRIO

amostras.....	3
<b>5 RESULTADOS E</b>	<b>0</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>3</b>
<b>5.1 Avaliações da atividade</b>	<b>0</b>
<b>antifúngica.....</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>7</b>
CONCLUSÕES.....	3
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>8</b>
.	4
ANEXOS.....	3
.	

## 1 INTRODUÇÃO

A apicultura vem sendo utilizada como ciência e a arte de prolongar, sustentar e reter a saúde usando produtos obtidos de colmeias de abelhas, como mel, pólen de abelha, própolis e geleia real. Atualmente, temos visto a rápida aplicação de produtos apícolas na medicina tradicional e moderna. Nos últimos anos, observamos muitos estudos voltados a investigar os benefícios relacionados à saúde e suas propriedades farmacológicas dos produtos derivados apícolas. No Brasil, por ser um país rico em biodiversidade a descobertas de novos agentes fármacos fitoterápicos eficazes e menos tóxicos contra microrganismo patogênicos, contribui significativamente no campo da saúde (OSTROSKY *et al.*, 2008; FREIRES *et al.*, 2016).

O Brasil é considerado um dos maiores produtores de própolis no mundo (SANTOS, 2012), decorrente de nossa grande biodiversidade. Atualmente, 13 grupos diferentes de própolis podem ser distinguidos no Brasil de acordo com suas propriedades químicas e físico-químicas, podendo ressaltar sua rica composição química e seu elevado valor terapêutico (PARK *et al.*, 2007).

A própolis vermelha é incorporada ao grupo 13, recentemente descrito na região Nordeste do Brasil (por exemplo, Bahia, Paraíba, Sergipe, Pernambuco e Alagoas) (DAUGSCH; MORAES; FORT *et al.*, 2008). Com características químicas e farmacológicas únicas no mundo, a própolis vermelha, produzida nos manguezais do estado de Alagoas, Brasil. Em 2012, recebeu um certificado de Indicação Geográfica (IG). A certificação foi concedida pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), órgão responsável pelo cadastro no País (ALMEIDA *et al.*, 2017).

A própolis é uma substância coletada por espécie de abelhas *Apis mellifera*, onde coletam resinas e exsudatos de plantas e adicionam suas secreções salivares para produzir própolis, das várias indicações terapêuticas, foram evidenciadas por muitos autores. Diferentes estudos identificaram propriedades antifúngica (NAGATU *et al.*, 2011), efeito antioxidante (KUMAZAWA *et al.*, 2007), efeitos antimicrobianos e citotoxicidade (NEDJI; LOUCIF- AYAD, 2014). Além disso, um número crescente de estudos está sendo realizado para investigar a atividade antiparasitária da própolis (DANTAS *et al.*, 2006).

A fitoterapia, juntamente a outras práticas, foi inserida no Sistema Único de Saúde (SUS) através da portaria nº 971/2006, em que o Conselho Nacional de Saúde regulamentou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) (BRASIL, 2006). Com a implantação da fitoterapia junto ao SUS evidenciou a necessidade de investigações a respeito

desta área com o objetivo de enriquecer o conhecimento dos profissionais da saúde, além de evidenciar sua eficácia (BRASIL, 2006).

Em virtude do uso indiscriminado de medicamentos sintéticos, disponíveis no comércio, podendo apresentar efeitos indesejados ao paciente, um dos quais podemos citar a resistência ao fármaco, decorrente do uso indiscriminado desses medicamentos promovendo quadros de recidiva (ALMEIDA *et al.*, 2012).

A importância deste estudo reside no fato da necessidade da pesquisa de novos antimicrobianos de origem natural, especificamente, antifúngicos alternativos no mercado, os quais venham apresentar uma baixa toxicidade, maior eficácia, fácil acessibilidade e menor custo. Contudo, é imprescindível o empoderamento sobre essa temática a comunidade científica e que temas como esses sejam difundidos nos meios dos profissionais de saúde, sendo de grande relevância a exposição e discussão acerca desse tópico visto que em minha formação assunto referentes produtos apículas não foram bem difundidos evidenciando assim um dos interesses primordiais pelo tema.

Nesse sentido, torna-se como questão norteadora da pesquisa a seguinte pergunta: Dentre os vários empregos da própolis como modalidade terapêutica dificilmente significa qualquer indicação antifúngica, pois existe uma grande diversidade de fungos no Brasil necessitando de estudos mais aprofundados.

Defendemos a tese de que, o extrato da própolis é uma opção vantajosa frente a muitos antifúngicos convencionais existentes no mercado farmacêutico. Não o bastante, até o presente momento observa-se uma ausência de relatos na literatura de atividade biológica (efeito antifúngico) da própolis sobre espécies de *Microsporum gypseum*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Madurella mycetomatis*, acrescido a isso, o fato de que tais patógenos acarretam danos à população em geral.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Investigar a citotoxicidade e a atividade antifúngica *in vitro*, do extrato da própolis em vinho branco, desmistificando a sua atividade antifúngica em determinados tipos de cepas.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Examinar a citotoxicidade *in vitro* do extrato da própolis em vinho branco contra gêneros específico de fungos;

Verificar a atividade antifúngica do extrato da própolis em vinho branco.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Própolis: definição e características

A própolis comumente chamada de cola de abelha é uma substância natural de característica resinosa coletada por abelhas a partir de vegetais derivados de várias espécies botânicas. É utilizada na colmeia como componente vedante, além de proteger contra a invasão de intrusos, onde possui odor característico (FRANCHI *et al.*, 2012; SAWICKA *et al.*, 2012). Sua composição é complexa e a cor varia dependendo da espécie de planta e da localização onde é produzida: savanas, florestas tropicais, desertos, regiões costeiras e montanhosas (SANTOS; 2012).

A própolis é um dos poucos remédios naturais que manteve sua popularidade durante um longo período de tempo (CASTALDO; CAPASSO, 2002). O seu uso, pela medicina popular, data de 300 a.C (BANSKOTA *et al.*, 2001). A própolis era utilizada pelos egípcios nos processos de embalsamento devido a sua propriedade antiputrefante, porque era o instrumento adequado que iria proteger de fungos, vírus e bactérias. Gregos e romanos usavam a própolis como antisséptico e cicatrizante; os incas, como um agente antipirético e farmacopeias londrinas do século XVII listavam a própolis como um medicamento oficial (SFORCIN; BANKOVA, 2011).

Uma das suas peculiaridades se deve ao fato de que, mesmo congelada ou envelhecida, a própolis não apresenta alterações qualitativas na sua composição em relação às amostras frescas (SCHMIDT *et al.*, 2014; CONTI; BANKOVA; SFORCIN, 2015).

##### 3.1.1 Composição química e classificação da própolis

Os principais compostos químicos isolados das própolis, no geral, são classificados como ácidos alifáticos e aromáticos, flavonoides, álcoois, ácidos graxos, terpenos, açúcares, aminoácidos e diversos minerais (MENEZES, 2005; BANKOVA, 2005; SAWICKA *et al.*, 2012).

Mais de 300 substâncias química já foram nos descritas mais variados tipos de própolis. Vários estudos afirmam que as diferenças em porcentagem de componentes individuais de própolis, dependem da origem dos vegetais a partir dos quais a resina é coletada, e as espécies de abelhas (SANTOS, 2012).

A Tabela 1 aponta os principais componentes químicos geralmente encontrados na própolis, bem como alguns tipos de própolis mais estudados, sua composição química principal, e suas origens geográficas.

**Tabela 1** – Composição química geral de própolis, tipos de própolis mais difundidos, assim como suas origens geográficas e seus constituintes químicos principais

COMPOSIÇÃO QUÍMICA GERAL (%)	TIPOS DE PRÓPOLIS MAIS DIFUNDIDOS	ORIGEM GEOGRÁFICA	PRINCIPAIS CONSTITUINTES
<b>Flavonóides (18-20%):</b> Crisina, apigenina, galangina, etc.	Vermelha	Brasil Cuba México Rússia	Isoflavonóides
<b>Alcoóis e Terpenos (2-3%):</b> Glicerol, a-cedrol, xilitol, eritritol etc.	Bétula	Rússia	Flavonas e flavonóides
<b>Açúcares (15-18%):</b> D-altrose, maltose, arabinopirranose, etc.	Mediterrânea	Sicília Grécia Creta Malta	Diterpenos
<b>Ácidos graxos e Alifáticos (24-26%):</b> Ácido glucônico, ácido fosfórico, ácido isofelúrico, ácido glutâmico etc.	Álamo	Europa América do Norte Regiões não-Tropicais da Ásia Nova Zelândia	Seus ésteres Ácidos <i>p</i> -cumarínicos prenilados Ácidos diterpenos
<b>Ácidos aromáticos (5-10%):</b> Ácido benzóico, ácido caféico, cinâmico, ácido felúrico.	Verde (alecrim) Brasileira	Brasil	

**Fonte:** Adaptada de Sforcin e Bankova, (2011) Sawicka *et al.* (2012).

De acordo com Alencar *et al.* (2007), o qual descreve a composição química e atividade biológica de um novo tipo de própolis brasileira, a própolis vermelha é considerada o tipo 13.

As Figuras 1 e 2 ressaltam o aspecto físico das amostras de própolis bruta verde e vermelhas brasileiras (SANTOS, 2012).

**Figura 1** – Aspecto físico das amostras de própolis bruta verde (A) brasileira



**Fonte:** Santos (2012).

**Figura 2** – Aspecto físico das amostras de própolis bruta vermelha (B) brasileira



**Fonte:** Santos (2012).

Segundo Park *et al.* (2002), as própolis brasileiras, no que diz respeito a seu perfil químico, podem ser agrupadas em 13 grupos distintos. Como exemplo, têm-se as própolis, cujas origens botânicas localizam-se: cinco delas na região Sul, uma no Sudeste e sete tipos pertencentes à região Nordeste do país.

A espécie *Hypts divaricata* e *Dalbergia ecastophyllum* representa as principais fontes de resina pertencente à região Nordeste. *Cacchares dracunculifolia* da própolis do Sudeste e *Populos nigra* da própolis do Sul do Brasil. Porém, devido à diversidade existente na flora brasileira, podemos dizer que essa classificação não é necessariamente um indicativo das características físico-química e biológicas dos tipos de própolis existentes no Brasil.

No que concerne às características físico-químicas e respectivas origens, a classificação da própolis brasileira, está representada na Tabela 2.

**Tabela 2** – Classificação da própolis brasileira de acordo com as características físico-químicas e origem

GRUP O	COR	ORIGE M
1	Amarela	Sul
2	Marrom	Sul
3	Marrom escuro	Sul
4	Marrom	Sul
5	Marrom esverdeada	Sul
6	Marrom avermelhada	Nordeste
7	Marrom esverdeada	Nordeste
8	Marrom escura	Nordeste
9	Amarela	Nordeste
10	Amarelo escuro	Nordeste
11	Amarelo	Nordeste
12	Verde ou marrom esverdeada	Sudeste
13	Vermelha	Nordeste

**Fonte:** Adaptada de Toreti *et al.* (2013).

### 3.1.2 Funções biológicas e aplicações terapêuticas

A própolis possui muitas propriedades biológicas e farmacológicas, seu mecanismo de ação tem sido amplamente investigado nos últimos anos, utilizando diferentes modelos experimentais *in vitro* e *em vivo*. A própolis tem sido empregada extensivamente desde tempos antigos. Egípcios se beneficiaram das propriedades anti-putrefativas da própolis, com a finalidade de embalsamar seus mortos. Os incas utilizavam como agente antipirético, na Itália utilizava-se para afinar cordas de instrumentos musicais. Os Gregos também a utilizavam como perfumes, misturadas a plantas aromáticas. Na medicina, Gregos e Romanos aplicavam como antisséptico e no tratamento de feridas (CASTALDO; CAPASSO, 2002; SFORCIN, 2007).

Vale destacar que o uso da própolis, como modalidade terapêutica para tratamento de saúde, teve início em 1950 e 1960 na ex-União Soviética, Bulgária, Polônia e República Tcheca. E, a partir de 1980, difundiu-se para a América do Sul e Norte, Japão e países do oeste Europeu (SALATINO, 2005).

No Brasil, o emprego da própolis apresenta diversas finalidades, sendo utilizada para tratamento de saúde na forma de extrato (hidroalcoólico), no formato de cápsulas e sprays, fazendo parte da composição de nutracêuticos, produção de alimentos saudáveis, produção de

produtos de higiene pessoal e cosméticos. Na área de alimentos como conservantes (ALI *et al.*,

2010; SOUZA *et al.*, 2013). A própolis apresenta características farmacológicas e biológicas e propriedades antifúngicas, antibacteriana, antitumorais, antivirais, antiparasitária, anti-inflamatória, antioxidante (SFORCIN *et al.*, 2007; GEKKER *et al.*, 2005; ORSI *et al.*, 2005; FREITAS *et al.*, 2006; BÚFALO *et al.*, 2009).

### **3.2 Microsporium gypseum: definição, patogênese e fatores de risco**

Dermatofitose ou infecção por tínea é uma doença tegumentar causada por um grupo de fungos chamado Dermatófilo. Essa espécie de fungos são os únicos que necessitam da queratina para que haja seu crescimento. No entanto, a infecção se dá em tecidos queratinizados como unhas, cabelos, e estrato córneo da pele. Na Índia, as frequentes variações climáticas com temperaturas relativamente altas, umidade nas estações chuvosas propicia o aparecimento de infecções de pele (SEEMA, 2011).

As dermatomicoses assim podem dizer que, correspondem às infecções acometidas por fungos superficiais mais difundidas entre a raça humana. Apesar de ser uma doença que apresenta um elevado índice de morbidade em decorrência ao aumento do número de pacientes imunocomprometidos como exemplo pacientes portadores do vírus HIV, e de espaço recreativo, em que piscinas e outros fômites são compartilhados não apresentam risco de morte aos pacientes (OTUKI; ROTTA, 2012).

De acordo com Verma & Heffernan (2008), os Dermatófilos podem ser classificados segundo seu habitat primário (humanos animais e solo). Espécie Zoofílicas os principais reservatórios desses fungos são animais de estimação, nos quais costumam fornecer infecções subclínicas, podendo transmitir infecção ao homem por contato com os pelos infectados acarretando lesões com sinais inflamatórios. Os Geofílicos são fungos habituais do solo, e raramente infectam o homem. Esse tipo de Dermatófilos está arrolado por fatores naturais como luz, umidade, PH, temperatura, clima, quantidade de material orgânico no solo, ambiente.

Os fungos Antropofílicos, sua prevalência dar-se entre as populações urbanas, sendo que, sua ocorrência é superior m população de baixo nível socioeconômico. Sua transmissão ocorre de forma direta ou indireta em ambientes como escola, prisões, quartéis ou por fômites, levando a infecções assintomáticas até infecções sintomáticas dependendo da susceptibilidade e virulência do fungo. Em nossos dias atuais, o uso de sapatos finos está sendo bastante utilizado, favorecendo a o crescimento desses fungos, em virtude da umidade quente (HAVLICKOVA *et al.*, 2008).

De acordo com Verma e Heffernan (2008), os Dermatófitos podem ser classificados de acordo com o seu habitat em “Geofílicos”, que são encontrados no solo e apenas esporadicamente infectam o homem através do contato com os esporos do fungo, ocasionando lesões com sinais inflamatórios.

### 3.2.1 Aspectos clínicos

De acordo com Verma e Heffrman (2008), as Tineas, também comumente chamadas de dermatofitoses, podem ser classificadas segundo os aspectos clínicos e a área de acometimento.

A lesão costuma causar prurido, em geral às manifestações clínicas inicia-se com uma placa eritematosa, descamativa e bordas elevadas (Figura 3). O crescimento da lesão é centrífugo com tendência ao clareamento central.

**Figura 3** – Placa eritematosa com descamação e bordas elevadas na *Tinea corporis*



**Fonte:** Dermatophyte (tinea) infections. UpToDate (2019).

### 3.2.2 Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico dessa da dermatofitose tem por base a combinação de exame clínico, onde deve incluir o exame clínico das lesões, enquanto o laboratorial baseia-se principalmente em visualização dos micro-organismos em microscopia direta e crescimento em cultura (Severo, 2002). O tratamento da *Tinea corporis*, na maioria dos casos o tratamento introdutório é realizado com antifúngico tópico aplicado na lesão. Os antifúngicos tópicos (como miconazol, clotrimazol, itraconazol, terbinafina ou ciclopirox olamina) são utilizados 2 vezes ao dia por 1

a 3 semanas. O tempo de tratamento varia conforme a resposta clínica, mantendo-se até a resolução da infecção. No caso da nistatina tópica, não se apresenta uma boa resposta ao tratamento das dermatofitoses, sendo desta forma proscrito. No caso das lesões extensas, ou na falha ao tratamento tópico é indicado o tratamento sistêmico (Tabela 3).

Os antifúngicos orais de primeira escolha são a terbinafina e o itraconazol. Na impossibilidade de utilizá-los, o fluconazol e griseofulvina é indicado como segunda opção, entretanto devem ser usados por maior tempo e tem menor chance de resposta (TELESSAÚDERS-UFRGS, 2017).

**Tabela 3** – Posologia dos antifúngicos sistêmicos para adultos e crianças (> 2 anos) com *Tinea corporis*

ANTIFÚNGICO SISTÊMICO	DOSE	DURAÇÃO DO TRATAMENTO
Terbinafina (125 ou 250 mg)	Adultos: 250 mg 1 vez por dia Crianças: 10 a 20 kg: 62,5 mg 1 vez ao dia 20 a 40 kg: 125 mg 1 vez ao dia > 40 kg: 250 mg 1 vez ao dia	1 a 2 semanas
Itraconazol (100 mg)	Adultos: 200 mg 1 vez ao dia Crianças: 3 a 5 mg/kg 1 vez ao dia (dose máxima de 200 mg por dia)	1 semana
Fluconazol (100 ou 150 mg)	Adultos: 150 a 200 mg 1 vez por semana Crianças: 6mg/kg 1 vez por semana (dose máxima 150 mg)	2 a 4 semanas
Griseofulvina (500 mg)	Adultos: 500 a 1000 mg 1 vez por dia Crianças: 10 a 20 mg/kg 1 vez por dia (dose máxima de 1000 mg/dia)	2 a 4 semanas

Fonte: TELESSAÚDE RS-UFRGS (2017); adaptada de Goldstein (2017).

### 3.3 *Aspergillus niger*: definição, patogênese e fatores de risco

Descrito por Van Tieghen em 1867, *Aspergillus niger* caracteriza-se por desenvolver colônias em menos de sete dias, apresentando no início aspecto de camurça branca ou amarelada, mas que rapidamente fica coberta por uma densa camada de cabeças conidiais negras (MARTINS *et al.*, 2005).

O *Aspergillus niger* foi descrito por Van Tieghen em 1867, se trata de um gênero dos fungos bastante estudado. As espécies que compreendem este gênero têm estado presente no solo, na superfície, no ar, na água, tanto em organismos animais, bem como em organismo vegetais. Também podem ser apontados com a deterioração de alimentos e materiais vegetais,

principalmente de região tropical e subtropical. Há espécies patogênicas para os animais e homens (ROSA *et al.*, 2002).

Os fungos do gênero *Aspergillus* pertencem à família Aspergillaceae, a classe Ascomycota e sua subclasse Euascomycetes. A taxonomia atual reconhece mais de 200 espécies deste gênero, porém apenas cerca de 20 estão relacionadas à morbidade (RICHARDSON; WARNOCK, 2003). O agente etiológico responsável por 90% das aspergiloses invasivas diagnosticadas é o *Aspergillus fumigatus*. Porém, outras espécies como as *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus terreus* estão relacionadas pelas demais infecções (JIANG *et al.*, 2013; MURRAY *et al.*, 2006).

As colônias são compostas por micélio aéreo com conidióforos eretos, densamente distribuídos sobre a superfície do meio com ampla formação de conídios. O crescimento das colônias em geral apresenta-se rápido, aproximadamente em sete dias. Apresentando de início aspecto de camurça branca ou amarelada, mas que rapidamente fica coberta por uma densa camada de cabeças conidiais negras, a princípio (SANTOS, 2007). (Figura 4).

**Figura 4** – Colônia de *Aspergillus niger*. Cultura de *A. niger* em placa de Petri com meio de cultivo Ágar Batata Dextrose



**Fonte:** <http://www.life-worldwide.org/fungal-diseases/aspergillus-niger/>. Acesso em: 23 out. 2019.

Os conidióforos são longos, de paredes lisas e hialinas, mas apresentam uma coloração escura na região próxima a vesícula (Figura 5). As cabeças conidiais são globosas, radiadas, de coloração negra e com fiálides bisseriadas (BLEICHRODT *et al.*, 2012).

**Figura 5** – Aspecto microscópico: Cabeça *aspergilar* de *Aspergillus niger*



Fonte: <http://www.pfdb.net/html/species/s12.htm>. Acesso em: 23 out. 2019.

### 3.3.1 Aspectos clínicos

A infecção é resultado da aspiração de conídios presentes no ar, principalmente em locais úmidos. A forma após a inalação de esporos de fungos pode ocorrer algum tipo de morbidade que vão desde a inflamação local das vias aéreas para infecções graves, tais quais asperginolose invasiva, aspergilose broncopulmonar (BEISSWENGER *et al.*, 2012).

A forma pulmonar é a mais frequente, e é causa comum de doenças pulmonares em pacientes imunossuprimidos. Dar-se pela inalação de esporos, que vão desde a inflamação local das vias aéreas para infecções graves e com risco de vida do pulmão, tais como: aspergilose broncopulmonar alérgica, aspergilose invasiva (BEISSWENGER *et al.*, 2012). A doença tem sido relatada por ocorrer principalmente como uma complicação em doentes com asma e fibrose cística (MARTINS *et al.*, 2005; MURRAY *et al.*, 2006). Já as formas extrapulmonares, em geral são graves, como os exemplos podem citar acometimento cutâneo, ósseo, cerebral, ocular assim como cardiovascular. Portanto, a maior gravidade da aspergilose pulmonar depende da capacidade de invasão dos esporos nos casos que há imudefeiciência do hospedeiro, e em especial da quantidade de inalação dos esporos (RICHARDSON; WARNOCK, 2003).

Uma infecção causada por *Aspergillus* no pulmão pode evoluir e adquirir resistência à terapêutica, no caso o antibiótico. Sendo assim, o paciente pode apresentar complicação pelo fato de não conseguir eliminar a infecção, e evoluir para óbito. Como exemplo, pode-se citar as mortes ocorridas em detrimento à exposição do fungo *Aspergillus niger*, ao abrir a tumba do faraó Tutancâmon (ISIDRO, 2006).

### 3.3.2 Diagnóstico e tratamento

De início, dar-se o diagnóstico precoce é necessário, mas a falta de exames específicos dificulta em decorrência da falta de exames clínicos e radiológicos específicos (MOKADDA *et al.*, 2010). Quando falamos sobre a aspergilose invasiva, do mesmo modo encontramos certa dificuldade em diagnosticar em virtude de os sintomas clínicos apresentarem semelhança com outras infecções, a exemplo à febre. Desse modo, a carência de um método de diagnóstico habilitado que seja capaz de identificar o tipo de fungo causador da infecção culmina no retardo do tratamento, onde muitas vezes o paciente evolui para óbito. Nesse caso, o diagnóstico decorre da realização da autópsia (DIMOPOULOS *et al.*, 2010).

Para o diagnóstico, utiliza-se de exames de imagem (tomografia computadorizada), técnicas de laboratório técnicas de laboratório, tais como a observação direta, o cultivo e a detecção de marcadores (antígenos de fungos, tais como: *Aspergillus galactomanano* ou ADN) que podem ser encontrados no sangue numa fase precoce da infecção (DEL PALACIO *et al.*, 2003).

No que concerne à modalidade terapêutica para tratar aspergilose, comumente inclui envolve a administração de anfotericina B ou um agente alternativo, como o voriconazol, de introdução mais recente e que fornece uma opção de tratamento mais eficaz e menos tóxica que a anfotericina (MURRAY *et al.*, 2006).

### 3.4 *Trichophyton Mentagrophytes*: definição, patogênese e fatores de risco

*Trichophyton mentagrophytes* é uma espécie de fungo patógenos, capaz de gerar dermatomicose em seres humanos e outros animais, promovendo danos à saúde humana e a criação de animais (ZHANG *et al.*, 2017).

A *Trichophyton mentagrophytes* é uma dermatofitose, uma micose superficial causada por fungos filamentosos denominados dermatófitos, que são capazes de deteriorar estruturas queratinizadas tais como pêlos, unhas e pele. Os agentes etiológicos associados a essa infecção em humanos pertencem a três gêneros distintos, a saber: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton* (SILVA *et al.*, 2018).

Em conformidade com seu habitat natural, essa espécie de fungos subdivide-se em: antropofílicos (homem), zoofílicos (animais) e geofílicos (solo). Os antropofílicos causam lesão com inferior grau inflamatório, porém, causa frequentemente lesões crônicas, ao passo que os

zoofílicos produzem costumeiramente processo inflamatório mais expressivo, contudo pode curar espontaneamente (SERRANO *et al.*, 2005).

**Figura 6** – Colônia de *Trichophyton Mentagrophytes*



**Fonte:** [http://www.wikipedia.org/wiki/trichophyton\\_mentagrophytes](http://www.wikipedia.org/wiki/trichophyton_mentagrophytes). Acesso em: 30 out. 2019.

#### 3.4.1 Aspectos clínicos

O quadro clínico das dermatofitoses inclui lesões cutâneas, comumente conhecidas por *Tineas* sendo sua nomenclatura está relacionada de acordo com a área comprometida: *Tinea capitis* (região do couro cabeludo), *Tinea corporis* (região do corpo/ pele), *Tinea manum* (região das mãos), *Tinea cruris* (região inguinal), *Tinea pedis* (região dos pés) e *Tinea unguium* (unhas das mãos e dos pés) (CORTEZ *et al.*, 2012).

O modo de transmissão dar-se por contato interpessoal ou por animais infectados, por objetos (pentes, bonés, almofadas), locais onde os esporos dos fungos tenham sido depositados (SERRANO *et al.*, 2007).

De acordo com Andrews e Burns (2008), a *Tinea capitis* é uma dermatofitose que acomete com maior frequência crianças, sobretudo em idade escolar. Inicialmente manifesta-se manifesta como uma lesão circular, semelhante a um anel, de coloração avermelhada e escamosa, acompanhada de alopecia, que pode se tornar agudamente inflamada, formando lesões ulceradas. A sua forma inflamatória caracteriza-se por placas e nódulos supurativos, cobertos de exsudato viscoso e crostas sobre área pilosa.

**Figura 7 – *Tinea capitis***



Fonte: <https://www.dermnetnz.org/topics/tinea-capitis/>. Acesso em: 30 out. 2019.

#### 3.4.2 Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico primário é laboratorial, feito a partir da cultura de amostras de arranhões ou fragmentos da lesão. Sendo a cultura necessária para a identificação definitiva do agente etiológico e para a instituição do tratamento específico com antifúngicos tópicos e/ou sistêmicos (SILVA *et al.*, 2018).

#### **3.5 *Madurella mycetomatis*: definição, patogênese e fatores de risco**

*Madurella mycetomatis*, é o agente causador de aumicetoma. Sua natureza é uma doença inflamatória subcutânea granulomatosa sendo frequentemente encontrada nas extremidades inferiores, porém também foram manifestadas em outras partes do corpo (AHMED *et al.*, 2004). O micetoma é caracterizado por ser uma infecção crônica, não contagiosa, ocasionada pela introdução traumática de bactérias filamentosas (actinomicetoma) e fungos saprófitos do solo (eumicetoma), afetando principalmente agricultores pelo fato de que em sua maioria esses indivíduos apresentam o hábito de trabalhar e caminhar sem devida proteção (VALLE *et al.*, 2006).

Essa infecção altamente mórbida e destrutiva atinge principalmente indivíduos de baixo nível, sócio econômico, com impacto médico, ocupacional para os familiares, pacientes e comunidade. Limitando as atividades diárias e profissionais dos indivíduos acometidos por esta enfermidade (QUEIROZ TELLES *et al.*, 2011; ZEIN *et al.*, 2012). Apesar do micetoma ter sido inserido na literatura médica por meados do século XVIII, é considerada uma doença

negligenciada, sem um controle de prevenção ou sistema de vigilância. Contudo em 2013, a Organização Mundial da Saúde adicionou micetoma à lista de doenças negligenciadas, a fim de aumentar a conscientização sobre a necessidade de um melhor monitoramento e combater essa enfermidade. Todavia, o micetoma fúngico não é mais letal; outrora, o diagnóstico frequentemente resultava em amputação do segmento do membro, principalmente em casos de diagnóstico tardio (ZEIN *et al.*, 2012; WELSH *et al.*, 2014).

### 3.5.1 Aspectos clínicos

As características clínicas mais frequentes são nódulos, aumento do volume da área afetada, exsudato e fistulas. A infecção tem início com pequenos nódulos subcutâneos, onde apresenta uma evolução gradativa das lesões inflamatórias crônicas onde apresentam secreção purulenta e seropurulenta contendo grãos pretos (AHMED, 2007).

Em 70% dos casos as lesões estão situadas nos pés, mãos, braços, pernas e costas (EL MUTTARDI *et al.*, 2010; VALLE *et al.*, 2006). Por invasão local atinge ossos, articulações, fáscia e músculos (EL MUTTARDI *et al.*, 2010. VENKATSWAMI *et al.*, 2012).

Sinais e sintomas sistêmicos são incomuns e, quando presentes, é resultado do envolvimento de órgãos adjacentes, como os pulmões e o cérebro. Uma característica de a lesão dar-se pela formação de grãos compactos nos tecidos infectados, sendo que, os grãos brancos, amarelos e vermelhos têm origem bacteriana, enquanto os grãos pretos são causados por fungos (VAN BELKUM *et al.*, 2011).

**Figura 8** – *Eumicetomas* em estado crônico



**Fonte:** <http://profitaloventura.blogspot.com/2017/07/eumicetomas.html/>. Acesso em: 01 nov. 2019.

### 3.5.2 Diagnóstico e tratamento

De maneira geral, as manifestações clínicas apresentam modificações conforme ocorre a evolução da doença, onde independe do agente etiológico. Após a inoculação traumática do microrganismo no tecido subcutâneo, esse passa a se multiplicar, evoluindo para a formação de colônias. A princípio ocorre um aumento lento da área afetada, progredindo para formação de microabscessos, nódulos e por fim fistulas cutânea, por onde é drenado o material exudativo (serosanguinolento ou seropurulento). O período de incubação varia de semanas podendo chegar a anos (VENKATSWAMI *et al.*, 2012).

Sinais e sintomas sistêmicos geralmente não são frequentes, e quando surgem estão relacionados com a extensão da doença, região acometida, e presença de infecção bacteriana secundária. Nos casos em que ocorre uma progressão da doença sintomas como, astenia e caquexia estão presentes. E nos casos excepcionais os quais apresentam comprometimento de vísceras, esses podem evoluir para óbito (CHAKRABORTY *et al.*, 2005; WELSH *et al.*, 2011). A progressão da doença se dá de solução de continuidade, onde surge novos microabscessos acometendo, portanto, estruturas adjacentes e profundas como tendões, fâscias, músculos, ossos e por fim articulações. Uma complicação seria a destruição óssea em que está vinculada com o tempo de exposição à infecção, a região comprometida e a agressividade do microrganismo (DO VALLE *et al.*, 2006).

Os agricultores possuem um maior índice de infestação, pelo fato de terem mais contato com o solo. Sendo que, regiões anatômicas mais afetadas em primeiro vem os pés afetados (70-80%), seguidos das mãos e pernas (6-12%) (FAHAL *et al.*, 2011; ESTRADA *et al.*, 2012). As técnicas atuais para o diagnóstico compreendem principalmente por exames de imagens Ultrassonografia (VENKATSWAMI *et al.*, 2012), Radiografia Simples (FAHAL *et al.*, 2011), Ressonância Magnética (Estrada *et al.*, 2012), Tomografia Computadorizada (El Shamy *et al.*, 2012), Sorologia da lesão (De klerk *et al.*, 2012), histopatológico (Venkatswami *et al.*, 2012) e diagnóstico laboratorial (VAN DE SANDE *et al.*, 2014).

Sobre o tratamento do micetoma, carece o uso de um fármaco de ação sistêmica ligado ao tratamento cirúrgico (Fahal *et al.*, 2011). Sobretudo, antes de dar início a modalidade terapêutica é necessário identificar a etiologia bacteriana ou fúngica do mesmo modo o paciente apresenta um melhor prognóstico quanto mais antecipado for o diagnóstico melhor a resposta terapêutica (WELSH *et al.*, 2014).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Coleta das amostras

No presente estudo utilizaram-se amostras de própolis produzidas por abelhas *Apis mellifera*, oriundas da cidade Bahia da Traição, município do Estado da Paraíba na região do nordeste brasileiro, coletadas dia 21 do mês de novembro do ano de e 2018. A própolis foi cedida pelo Núcleo de Estudo em Agroecologia – EMEPA – Lagoa Seca – PB.

Após a coleta das amostras da própolis que chegaram à forma *in natura*, foram embaladas a vácuo permanecendo conservada a uma temperatura a  $-20^{\circ}$  até o momento das análises. Em seguida, foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba – IFPB Campos Sousa, para execução dos ensaios microbiológicos onde as amostras brutas da própolis (Figura 9), foram trituradas e misturado ao vinho branco seco no qual se utilizou da diluição de 1:10, chegando a uma concentração de 10% no extrato da própolis para posteriormente apresentar as concentrações desejadas para pesquisa, sendo estas 0,5%, 1,0% e, por último, 2,0% da concentração do extrato da própolis.

As análises estatísticas foram feitas qualitativamente, devido às características do experimento e resultado apresentado.

**Figura 9** – Amostras brutas da própolis



**Fonte:** Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG.

## 4.2 Microrganismos

Foram utilizados para estudo quatro tipos de amostras de fungos sendo estes: *Microsporium gypseum*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes* e, por último, *Madurella mycetomatis* (Figura 10). Gentilmente cedida pelo professor José Cezário de Almeida, Laboratório de Microbiologia da - Universidade Federal de Campina Grande – UFCG Campos Cajazeiras – Paraíba.

**Figura 10 – Cepas**



**Fonte:** Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG.

## 4.3 Preparo das amostras

Iniciando o experimento, preparou-se a substância para ser utilizada como meio para as cepas dos fungos. Pesou-se 39 gramas do Agar batata dextrose em um Becker com o auxílio de uma balança analítica, previamente calibrada, preparando-o de acordo com as instruções do manual do fabricante. E diluiu com em 1000 ml de água destilada até que as partículas fossem uniformes. Essas substâncias foram autoclavadas até atingir a temperatura de 121°C, ficando por 15 minutos a essa temperatura. Após o resfriamento, colocado nas placas de Petri. Como se trabalhou com quatro espécies diferentes de fungos e três concentrações diferentes de extrato da própolis (0,5%, 1,0% 2,0%).

Usaram-se quatro repetições para cada concentração, por conseguinte, 12 placas e 12 tubos para cada tratamento totalizando 48 placas de petri e 48 tubos de ensaio. Todos os materiais utilizados para o processamento das amostras passaram pelo processo de autoclavagem, e toda a operação realizou-se próxima a um bico de Bunsen, com a chama a meia altura. Em cada placa colocou-se 20 ml do meio de cultura e para cada tubo 15 ml do meio de cultura (Tabela 4).

Em seguida, foi plantado o fungo no centro de cada placa, sendo que toda a operação se realizou próxima a um bico de Bunsen, com a chama a meia altura. Seguidamente, usou-se de dois discos estéreis que já foram emergidos na solução do extrato da própolis. O mesmo processo foi realizado nos tubos para cada concentração, plantados o fungo no meio de cultura, na superfície exposta do tubo, ou seja, no meio de cultura. Em seguida, com o desenvolvimento dos fungos, que se dá com 48 horas adicionou 1 ml da solução do extrato com o auxílio de uma pipeta sobre os fungos em todos os tubos nas diferentes concentrações.

Nas placas, diferentemente dos tubos, implantou-se os discos no mesmo momento que plantou os fungos, e nos tubos, após o crescimento dos fungos após o período de quatro semanas realizou a mensuração com auxílio de um paquímetro, das distâncias entre o disco que estava embebido com a solução de própolis e o fungo que foi plantado no centro da placa, observando-se o halo de inibição em volta do disco que estava umedecido com a própolis. A leitura em cm, média entre o centro da placa onde o microrganismo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5cm. Diferentemente nos tubos, a leitura dava-se macroscopicamente, observando de ocorreu ou não o crescimento do microrganismo.

No que se refere a Tabela 4, o cálculo dos resultados se deu a partir da transformação de concentração de solução (c1 v1), onde se utilizou de 70 ml de água destilada utilizada para diluir o extrato da própolis que há princípio apresentava-se na concentração de 10% nas respectivas concentrações 0,5%, 1,0% e 2,0% do extrato onde X representa o valor que se deseja encontrar.

**Tabela 4** – Extrato da própolis utilizado nas três diluições

<b>DILUIÇÕES (70 ml) DE ÁGUA DESTILADA</b>		
<b>0,5%</b>	1,0%	2,0%
<b>C1V1</b>	C1V1	C1V1
<b>10 . X = 0,5x70</b>	10 . X = 1x70	10 . X = 2x70
<b>X= 3,5ml</b>	X = 7,0 ml	X= 14 ml

**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2019.

Realizada a primeira leitura, acrescentou-se 2ml de uma concentração de 2% do extrato da própolis em todos os tubos, obtendo um resultado final acrescentado a cada porcentagem preliminar (Tabela 5).

**Tabela 5** – Concentrações finais do extrato da própolis após o acréscimo dos 2% do extrato da própolis

<b>CONCENTRAÇÃO FINAL DO EXTRATO DA PRÓPOLIS APÓS O ACRÉSCIMO DOS 2%</b>		
<b>ANTES = 0,5% - 1ml</b>	<b>ANTES = 1,0% -1ml</b>	<b>ANTES = 2,0% - 1ml</b>
<b>DEPOIS = 1,5% - 2ml</b>	<b>DEPOIS = 1,7%- 2ml</b>	<b>DEPOIS = 2,0% -2ml</b>
<b>3 ml</b>	<b>3 ml</b>	<b>3 ml</b>

**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2019.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período estudado, janeiro a março de 2019, foram avaliados a ação do extrato da própolis sobre quatro espécies de fungos patógenos humanos, sendo estes, *Microsporium gypseum*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Madurella mycetomati*, tendo como finalidade de desmistificar o efeito do extrato da própolis produzido com vinho branco sobre tais fungos.

Os resultados obtidos, no que diz respeito à citotoxicidade e atividade antifúngica *in vitro* do extrato da própolis em vinho branco, encontrados neste trabalho e discutidos a seguir, foi dividida em três categorias, e exposto em tabelas.

A seguir encontram-se os resultados referentes às distâncias de crescimentos dos fungos na direção dos discos com tratamento, de acordo com a concentração 0,5%, 1,0% e na categoria de 2,0% do extrato da própolis vermelha.

### 5.1 Avaliações da atividade antifúngica

De acordo com os resultados expressos na Tabela 6, o extrato em vinho branco da própolis vermelha, nativa do Estado da Paraíba, região do Nordeste brasileiro, não obtiveram atividade antifúngica frente aos isolados (100%) contra gêneros específicos de fungos testados neste trabalho encontra-se exposto a seguir:

**Tabela 6** – *Screening* antifúngico do extrato da própolis a uma concentração de (0, 5%), frente a isolados patogênicos de diferentes espécies de fungos

FUNGOS	0,5%			
	<i>Microsporium gypseum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Marurella mycetomati</i>
DIÂMETRO	PLACA A N=0	PLACA A N=0	PLACA A N=1,9	PLACA A N=0
1° LEITURA	S=0,5	S=0	S=0	S=0
	PLACA B N=1,8	PLACA B N=0	PLACA B N=2,0	PLACA B N=0
	S=1,0	S=0	S=1,9	S=0
	PLACA C N=0	PLACA C N=0	PLACA C N=0	PLACA C N=0
	S=0	S=0	S=0	S=0
	PLACA D N=0	PLACA D N=0	PLACA D N=0,8	PLACA D N=0
	S=0,3	S=0	S=1,1	S=0
Leitura em cm; Distância média ente o centro da placa, na qual o fungo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5 cm				
DIÂMETRO	PLACA A N=0	PLACA A N=0	PLACA A	PLACA A N=0
2° LEITURA	S=0,3	S=0	N=0 S=0	S=0
	PLACA B N=0	PLACA B N=0	PLACA B N=0	PLACA B N=0
	S=0	S=0	S=0	S=0
	PLACA C N=0	PLACA C N=0	PLACA C N=0	PLACA C N=0
	S=0	S=0	S=0	S=0
PLACA D N=0			PLACA D N=0	PLACA D N=0
	S=0	S=0	S=0	S=0
Leitura em cm; Distância média ente o centro da placa, na qual o fungo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5 cm				

DIÂMETRO 3º LEITURA	PLACA A N=0 S=0	PLACA A N=0 S=0	PLACA A N=0 S=0	PLACA A N=0 S=0
	PLACA B N=0 S=0	PLACA B N=0 S=0	PLACA B N=0 S=0	PLACA B N=0 S=0
	PLACA C N=0 S=0	PLACA C N=0 S=0	PLACA C N=0 S=0	PLACA C N=0 S=0
	PLACA D N=0 S=0	PLACA D N=0 S=0	PLACA D N=0 S=0	PLACA D N=0 S=0

Leitura em cm; Distância média ente o centro da placa na qual o fungo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5 cm

DIÂMETRO 4º LEITURA	PLACA A N=0 S=0	PLACA A N=0 S=0	PLACA A N=0 S=0	PLACA A N=0 S=0
	PLACA B N=0 S=0	PLACA B N=0 S=0	PLACA B N=0 S=0	PLACA B N=0 S=0
	PLACA C N=0 S=0	PLACA C N=0 S=0	PLACA C N=0 S=0	PLACA C N=0 S=0
	PLACA D N=0 S=0	PLACA D N=0 S=0	PLACA D N=0 S=0	PLACA D N=0 S=0

Leitura em cm; Distância média ente o centro da placa, na qual o fungo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5 cm

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2019. Concentração testada: 0,5% de extrato da própolis; N: Polo Norte da placa; S: Polo Sul da placa.

Ao analisar o extrato da própolis vermelha a uma concentração de 0,5% pode-se observar uma atividade fúngica frente a todas as espécies de fungos isolados e analisados, sendo que, praticamente todos os fungos a partir da terceira leitura não foram resistentes a esse extrato, não possuindo inibição do crescimento.

Conforme o *screening* preliminar realizado, a maioria dos fungos não teve sensibilidade frente ao extrato testado. Conforme os dados expostos na Tabela 6, a espécie *Aspergillus niger* e *Marurella mycetomatis* não teve inibição de seu crescimento desde a realização da primeira leitura, que se deu a partir da primeira semana de cultivo do fungo.

Esses tipos de cepas emergentes relacionam-se a morbidades em seres humanos, o primeiro está ligado a infecções resultantes da aspiração de conídios presentes no ar, principalmente em locais úmidos. A forma após a inalação de esporos de fungos pode ocorrer algum tipo de morbidade, que vai desde a inflamação local das vias aéreas a infecções graves, como *asperginolose* invasiva e *aspergilose* broncopulmonar (BEISSWENGER *et al.*, 2012).

Enquanto que o segundo supracitado está comumente associado à infecção altamente mórbida e destrutiva atinge principalmente indivíduos de baixo nível, sócio econômico, com impacto médico, ocupacional para os familiares, pacientes e comunidade. Limitando as atividades diárias e profissionais dos indivíduos acometidos por esta enfermidade (QUEIROZ TELLES *et al.*, 2011; ZEIN *et al.*, 2012).

Comparando a capacidade antifúngica do extrato da própolis vermelha frente ao tratamento dos *Microsporium gypseum* e *Trichophyton mentagrophytes*, notou-se um espectro de ação maior frente às *Aspergillus niger* e *Marurella mycetomatis*. Contudo, sem relevância, se considerarmos o crescimento que darem-se subsequentes.

De acordo com Dongdong Zhang *et al.* (2019), a dermatofitose é uma das doenças de pele comumente encontrado em animais e humanos, onde tem como causa principal o *Microsporum*, *Epidermophyton*, assim como, *Trichophyton*. Por ser uma doença crônica, a dermatofitose é difícil de tratar devido à resistência aos fármacos comumente encontrados. Contudo, é relevante pesquisar novos agentes para o tratamento das dermatofitoses.

Mingrui Zhang *et al.* (2019) afirmam que a dermatofitose é uma doença infecciosa fúngica causada por dermatófitos, que produz protease e queratinase para digerir a queratina, levando à colonização, invasão e infecção do estrato córneo da pele, fios de cabelo e unhas.

No que concerne aos dados apresentados na Tabela 7, utilizou-se do tratamento da concentração de extrato da própolis a 1,0%, observa-se de início, uma menor proliferação das cepas *Aspergillus niger* e *Marurella mycetomatis* comparado com as cepas utilizadas *Aspergillus niger* e *Marurella mycetomatis*. Porém, as diferenças entre os tratamentos não foram estatisticamente significativas, se observa uma tendência crescente das cepas nas leituras subsequentes em decorrência do aumento a residência ao tratamento utilizado com o extrato da própolis vermelha, mostrando o antagonismo efeito da própolis frente a esses patógenos.

**Tabela 7** – *Screening* antifúngico do extrato da própolis a uma concentração de (1, 0%), frente a isolados patogênicos de diferentes espécies de *fungos*

		<b>PLACAS – DILUIÇÃO</b>							
		<b>1%</b>							
FUNGO		<i>Microspor um gypseum</i>		<i>Aspergill us niger</i>		<i>Trichophyton mentagrophyt es</i>		<i>Marurella mycetomati s</i>	
DIÂMETRO		PLACA A	N=	PLACA A		PLACA A	N=0,4	PLACA A	N=0
1º LEITURA		0,5				S=1,6		S=0	
		S=0,3		N=0					
		PLACA B	N=	PLACA B		PLACA B	N=1,1	PLACA B	N=0
		1,1				S=1,0		S=0	
	S=0,4		N=0						
	PLACA C	N=	PLACA C		PLACA C	N=1,5	PLACA C	N=0	
	0,7					S=0,9		S=0	
	S=1,3		N=0						
	PLACA D	N=0	PLACA D		PLACA D	N=0,9	PLACA D	N=0	
	S=0					S=1,4		S=0	
				N=0					
				S=0					
<b>Leitura em cm; Distância média ente o centro da placa, na qual foi o fungo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5 cm</b>									
DIÂMETRO		PLACA A		PLACA A		PLACA A		PLACA A	
2º LEITURA		N=0 S=0		N=0 S=0		N=0 S=0		N=0 S=0	
		PLACA B	N=0,4	PLACA B		PLACA B	N=0	PLACA B	N=0
		S=0				S=0,2		S=0	
				N=0					
				S=0					
		PLACA C	N=0,3	PLACA C		PLACA C	N=0	PLACA C	N=0
		S=0,9				S=0		S=0	
				N=0					
				S=0					
				N=0					
				S=0					

PLACA D

S=0

N=0 PLACA D PLACA D N=0  
S=0

PLACA D N=0  
S=0

N=0  
S=0

Leitura em cm; Distância média ente o centro da placa, na qual foi o fungo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5 cm

DIÂMETRO  
3° LEITURA

PLACA A

PLACA A

PLACA A

PLACA A

N=0 S=0  
PLACA B N=0  
S=0

N=0 S=0  
PLACA B

N=0 S=0  
PLACA B N=0  
S=0

N=0 S=0  
PLACA B N=0  
S=0

PLACA C N=0  
S=0

N=0  
S=0  
PLACA C

PLACA C N=0  
S=0

PLACA C N=0  
S=0

PLACA D N=0  
S=0

N=0  
S=0  
PLACA D

PLACA D N=0  
S=0

PLACA D N=0  
S=0

N=0  
S=0

Leitura em cm; Distância média ente o centro da placa, na qual o fungo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5 cm

DIÂMETRO 4° LEITURA	PLACA A	N=0	PLACA A	PLACA A	N=0	PLACA A	N=0
	S=0		N=0	S=0		S=0	
	PLACA B	N=0	PLACA B	PLACA B	N=0	PLACA B	N=0
	S=0		S=0	S=0		S=0	
			N=0				
	PLACA C	N=0	PLACA C	PLACA C	N=0	PLACA C	N=0
	S=0		S=0	S=0		S=0	
			N=0				
	PLACA D	N=0	PLACA D	PLACA D	N=0	PLACA D	N=0
	S=0		S=0	S=0		S=0	
			N=0				
			S=0				

Leitura em cm; Distância média ente o centro da placa, na qual foi o fungo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5 cm

Fonte: Dados da pesquisa, 2019. Concentração testada: 1,0% de extrato da própolis; N: Polo Norte da placa; S: Polo Sul da placa.

Um estudo avaliou a atividade antimicrobiana da própolis vermelha brasileira contra *Shigella flexneri*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* (JUNIOR *et al.*, 2012). Portanto, nesse contexto, a própolis não possui como uma possível fonte de uma nova droga, ou mesmo um novo adjuvante no combate as cepas utilizadas na pesquisa, como pode ser visto pelos resultados apresentados.

Na Tabela 8, verifica-se a baixa citotoxicidade do extrato da própolis em vinho branco contra gêneros específicos de fungos, acontecimento percebido nas tabelas 6 e 7 supracitadas, evidenciando assim, um ineficaz potencial antifúngico frente aos patógenos pesquisados.

**Tabela 8** – *Screening* antifúngico do extrato da própolis a uma concentração de (1, 0%), frente a isolados patogênicos de diferentes espécies de *fungos*

FUNGO	PLACAS – DILUIÇÃO					
	2%		2%			
	<i>Microspor um gypseum</i>	<i>Aspergill us niger</i>	<i>Trichophyto n mentagrophyt es</i>	<i>Marurella mycetomati s</i>		
DIÂMETRO 1° LEITURA	PLACA A	N=0	PLACA A	PLACA A	N=0	
	0,2		N=0	PLACA A	S=0	
	S=0		S=0	S=2,2		
	PLACA B	N=0	PLACA B	PLACA B	N=0	
1,7		S=0	S=1,3	PLACA B	N=0	
S=0		N=0		S=0		
		S=0				
	PLACA C	N=0	PLACA C	PLACA C	N=0	
	1,0		S=0	S=1,9	PLACA C	N=0
	S=0,4		N=0		S=0	
		S=0				
	PLACA D	N=0	PLACA D	PLACA D	N=0	
	0,8		S=0	S=2,1	PLACA D	N=0
	S=0		N=0		S=0	
		S=0				

Leitura em cm; Distância média ente o centro da placa, na qual o fungo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5 cm

DIÂMETRO 2° LEITURA	PLACA A	PLACA A	PLACA A	PLACA A
	N=0 S=0	N=0 S=0	N=0 S=0	N=0 S=0

PLACA B	N=0	PLACA B	PLACA B	N=0	PLACA B	N=0
S=0		N=0	S=0,3		S=0	
		S=0				
PLACA C		PLACA C	PLACA C	N=0,4	PLACA C	N=0
N=0,9		N=0	S=1,1		S=0	
S=0,2		S=0				
PLACA D		PLACA D	PLACA D	N=0	PLACA D	N=0
N=0,6		N=0	S=0,7		S=0	
S=0		S=0				

**Leitura em cm; Distância média ente o centro da placa, na qual o fungo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5 cm**

**DIÂMETRO  
3º LEITURA**

PLACA A	PLACA A	PLACA A	PLACA A
N=0 S=0	N=0 S=0	N=0 S=0	N=0 S=0
PLACA B	PLACA B	PLACA B	PLACA B
N=0	N=0	N=0	N=0
S=0	S=0	S=0	S=0
PLACA C	PLACA C	PLACA C	PLACA C
N=0	N=0	N=0	N=0
S=0	S=0	S=0	S=0
PLACA D	PLACA D	PLACA D	PLACA D
N=0	N=0	N=0	N=0
S=0	S=0	S=0	S=0

**Leitura em cm; Distância média ente o centro da placa, na qual o fungo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5 cm**

DIÂMETRO 4° LEITURA	PLACA A	N=0	PLACA A	PLACA A	N=0	PLACA A	N=0
	S=0		N=0	S=0		S=0	
	PLACA B	N=0	PLACA B	PLACA B	N=0	PLACA B	N=0
	S=0		S=0		S=0		S=0
	PLACA C	N=0	PLACA C	PLACA C	N=0	PLACA C	N=0
	S=0		S=0	S=0		S=0	
	PLACA D	N=0	PLACA D	PLACA D	N=0	PLACA D	N=0
	S=0		S=0	S=0		S=0	
			N=0				
			S=0				

Leitura em cm; Distância média ente o centro da placa, na qual o fungo foi inoculado e o centro do disco de difusão: 3,5 cm

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2019. Concentração testada: 2,0% de extrato da própolis; N: Polo Norte da placa; S: Polo Sul da placa.

Estudos evidenciam que as propriedades biológicas, bem como sua composição química, variam de acordo com a região geográfica, fontes de coleta, além da técnica utilizada para produção e a estação do ano em que a própolis é produzida (TORETI *et al.*, 2013; MACHADO *et al.*, 2016).

Pesquisadores apontam que, em virtude da grande diversidade da própolis dificulta sua padronização química, o que muitas vezes inviabiliza sua utilização na indústria farmacêutica. Na saúde, um produto para ser utilizado deve estabelecer parâmetros que tragam confiabilidade, eficácia e segurança. O trabalho com um material padronizado garante um tipo específico de constituinte químico que exerça atividade biológica específica (BANKOVA, 2005).

Os resultados obtidos nas três concentrações utilizando o extrato da própolis vermelha em vinho branco para examinar a atividade antifúngica contra os gêneros específicos de fungos, estão expostos nas Tabelas 9, 10 e 11 e mostram uma insuficiente atividade citotóxica.

**Tabela 9** – *Screening* antifúngico do extrato da própolis a uma concentração de (0,5%), frente a isolados patogênicos de diferentes espécies de *fungos*

FUNGO	TUBOS – DILUIÇÃO 0,5%							
	<i>Microsporium gypseum</i>		<i>Aspergillus niger</i>		<i>Trichophyton mentagrophytes</i>		<i>Marurella mycetomatis</i>	
1° LEITURA	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R
	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R
	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R
	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R
2° LEITURA	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R
	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R
	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R
	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R

3° LEITURA	TUBO A	R						
	TUBO B	R						
	TUBO C	R						
	TUBO D	R						
4° LEITURA	TUBO A	R						
	TUBO B	R						
	TUBO C	R						
	TUBO D	R						

---

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2019. Concentração testada: 1,0% de extrato da própolis em vinho branco; R: resistente.

**Tabela 10** – *Screening* antifúngico do extrato da própolis a uma concentração de (1, 0%), frente a isolados patogênicos de diferentes espécies de *fungos*

FUNGO	TUBOS - DILUIÇÃO							
	1,0%							
	<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Marurella mycetomatis</i>				
1° LEITURA	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R
	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R
	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R
	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R
2° LEITURA	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R
	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R
	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R
	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R
3° LEITURA	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R
	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R
	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R
	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R
4° LEITURA	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R
	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R
	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R
	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2019. Concentração testada: 1,0% de extrato da própolis em vinho branco; R: resistente.

**Tabela 11** – *Screening* antifúngico do extrato da própolis a uma concentração de (2, 0%), frente a isolados patogênicos de diferentes espécies de *fungos*

FUNGO	TUBOS - DILUIÇÃO							
	2,0%							
	<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Marurella mycetomatis</i>				
1° LEITURA	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R
	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R
	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R
	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R
2° LEITURA	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R
	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R
	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R
	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R
3° LEITURA	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R
	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R
	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R
	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R
4° LEITURA	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R	TUBO A	R
	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R	TUBO B	R
	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R	TUBO C	R
	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R	TUBO D	R

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2019. Concentração testada 2,0% de extrato da própolis em vinho branco; R: resistente

Sendo assim, todas as cepas tiveram uma tendência crescente de crescimento. Sendo assim, comprovando a não atividade antifúngica da própolis para baixas concentrações utilizadas.

Portanto, considera-se que o extrato da própolis vermelha em vinho branco possuiu um baixo espectro de ação frente as quatro amostras de cepas testadas (*Microsporum gypseum*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Marurella Mycetomatis*).

A perspectiva para trabalhos futuros sugere avaliar o uso de produtos naturais a base de própolis em baixas concentrações não exerce atividade citotóxica sobre os patógenos mencionados, assim como, a produção do extrato da própolis em vinho branco, na qual a literatura aponta o extrato etanólico sendo mais utilizado.

## 6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados encontrados sobre a própolis investigada, pode-se concluir que:

O extrato da própolis vermelha oriunda da cidade Bahia da Traição, município do Estado da Paraíba na região do nordeste brasileiro, não possui potencial antifúngico contra as espécies do gênero nas concentrações de (0,5%, 1,0% e 2,0%), utilizando de vinho branco para construção de seu extrato;

O Extrato de Própolis em baixas concentrações não possuiu efeito citotóxico sobre as cepas estudadas;

Estudos futuros sobre a caracterização dos seus compostos químicos, aperfeiçoamento do produto e ensaios clínicos deverão ser realizados;

Os extratos e frações de própolis vermelhas testados não foram efetivos na inibição da maioria dos isolados fúngicos testados, não sendo eficientes no crescente crescimento dos fúngicos testados pelo período de tempo de contato avaliado nesse estudo;

De modo geral, não houve diferença significativa nas diferentes concentrações utilizadas do extrato da própolis no que diz respeito a sua capacidade citotóxica frente aos patógenos testados nesse estudo;

Sugerem-se estudos futuros com a utilização de extrato etanólico em concentrações superiores as testadas.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. F. D.; CAVALCANTI, Y. W.; LIRA-JÚNIOR, R.; LIMA, E. O.; CASTRO, R. D. Efeito antifúngico de tinturas de própolis e romã sobre espécies de *Candida*. **Rev Cubana de Estomatol.** 2012; 26(2): 99-106.
- AHMED A. A. *et al.* Manejo do micetoma: grande desafio em micoses tropicais com reconhecimento internacional limitado. **Curr. Opin. Infect. Dis.** 2007; 20: 146–151.
- AHMED A. O. *et al.* 2004. Micetoma causado por *Madurella mycetomatis*: uma carga infecciosa negligenciada. **Lancet Infect. Dis.** 2004; 4: 566-574.
- ANDREWS, M.D; BURNS, M. B. Common tinea infections in children. **Am Fam Physician.** 2008; 77; 1415 -20.
- AHN, M. R.; KUMAZAWA, S.; USUI, Y.; NAKAMURA, J.; MATSUKA, M.; ZHU, F. *et al.* Atividade antioxidante e constituintes da própolis coletados em várias áreas da China. **Food Chem.** 2007; 101 (4): 1383–1392.
- ALI, F.; KASSEM, G. M.; ATTA-ALLA, O. Propolis as a natural descontaminat and antioxidant in fresh oriental suasage. **Veterinária Italiana**, V. 46, n.2, p. 167-172.
- BEISSWENGER, C., HESS, C. E BALS, R. 2012. *Aspergillus fumigatus* conidia induce interferon- $\beta$  signalling in respiratory epithelial cells. **European Respiratory Journal.** 2012; 39, pp. 411–418.
- BRASIL Ministério da Saúde. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.** Brasília. DF. 2006. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica\\_nacional\\_fitoterapicos.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf). Acesso em: 10 set. 2019.
- BANSKOTA, A. H; TEZUKA, Y; KADOTA, S. Recent Progress in Pharmacological Research of Propolis. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 561-571, 2001.
- BÚFALO, M. C.; FIGUEIREDO, A. S.; SOUSA, J. P. B.; CANDEIAS, J. M. G.; BASTOS, J. K.; SFORCIN, J. M. Anti-poliovirus activity of *Baccharis dracunculifolia* and propolis by cell viability determination and real-time PCR. **Journal of Applied Microbiology.** 2009c; 107, 1669– 1680.
- CHAKRABORTY A, WORKMAN MR, BULLOCK PR. *Scedosporium apiospermum* brain abscess treated with surgery and voriconazole. **Case report. J Neurosurg.** 2005; 103:83-7.
- CASTRO, L. G.; PIQUERO-CASALS, J. Achados clínicos e micológicos e resultado terapêutico de 27 pacientes com micetoma de São Paulo, Brasil. **Int J Dermatol.** 2008; 47: 160-163.
- CORTEZ, A. C.; DE SOUZA, J. V.; SADAHIRO, A.; DE OLIVEIRA, J. A. Frequency and aetiology of dermatophytosis in children age 12 and under in the state of Amazonas, Brazil. **Rev Iberoam Micol.** 2012 Oct-Dec; 29 (4):223-6.

CASTALDO, S.; CAPASSO, F. Propolis, na old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, v. 73, p. 1-6, 2002.

CONTI, B. J.; BANKOVA, V.; SFORCIN, J. M. Chemical composition of the same Brazilian propolis sample analyzed in 1997 and in 2012: no freezing effect. **Nat Pr Commun**. v.10, p.1279–1280, 2015.

DAUGSCH A.; MORAES, C. S.; FORT, P. ; PARK, Y. K. Brazilian red propolis – chemical composition and botanical composition and botanical origin. **Evid Based Complement Alternat Med**. 2008 Dec; 5(4):435-41.

DANTAS, A. P.; OLIVIERI, B. P.; GOMES, F. H. M.; DE CASTRO, S. L. O tratamento de camundongos infectados com *Trypanosoma cruzi* com própolis promove alterações na resposta imune. **J Ethnopharmacol**. 2006; 103 (2): 187–193.

DEL PALACIO, A.; CUETARA, M. S.; PONTON, J. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. **Rev Iberoam Micol**, 2003a; 20(3), pp. 90-98.

DO VALLE, A. C. F.; WELSH O.; VERA-CABRERA L. Mycetoma. In: TYRING SK, LUPI O.; HENGGE U. R. editors. Tropical Dermatology. **Philadelphia: Elsevier**. 2006. p.197-200.

DE KLERK, N.; DE VOGEL, C.; FAHAL, A.; VAN BELKUM, A.; VAN DE SANDE, W. W. Fructose-bisphosphate aldolase and pyruvate kinase, two novel immunogens in *Madurella mycetomatis*. **Med Mycol**. 2012.

DIMOPOULOS, G.; TSANGARIS, I.; POULAKOU, G.; PANAYIOTIDES, J.; TSAKNIS, G.; ORFANOS, S.; ARMAGANIDES, A. Post-operative Aspergillus mediastinitis in a man who was immunocompetent: a case report, *Journal of Medical Case Reports*, 2010; 4. pp. 312.

EL MUTTARDI, N.; KULENDREN, D.; JEMEC, B. Madura pé - observe o solo. **J Plast Reconstr Aesthet Surg**. 2010; 63: e576-e578.

EL SHAMY ME, FAHAL, A. H.; SHAKIR, M. Y.; HOMEIDA, M. M. New MRI grading system for the diagnosis and management of mycetoma. **Trans R Soc Trop Med Hyg**. 2012; 106(12):738-42.

ESTRADA R.; CHÁVEZ- LÓPEZ, G.; ESTRADA-CHÁVEZ, G.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, R.; WELSH, O. Eumycetoma. **Clin Dermatol**. 2012; 30(4):389-96.

FREITAS, S. F.; SHINOHARA, L.; SFORCIN, J. M.; GUIMARÃES, S. *In vitro* effects of propolis on *Giardia duodenalis* trophozoites. **Phytomedicine**. 2006; 13, 170– 175.

FAHAL, A. H. Review Mycetoma. **Khartoum Medical Journal**. 2011;4(1):514-23.

GEKKER, G.; HU, S.; SPIVAK, M.; LOKENSGARD, J.R.; PETERSON, P. K. Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4(+) lymphocyte and microglial cell cultures. **Journal of Ethnopharmacology**. 2005; 102, 158–163.

HAVLICKOVA, B.; VIKTOR, A. C.; MARKUS, F. Epidemiological Trends in Skin Mycoses Worldwide. **Mycoses**, 2008; 51, 2-15.

JIANG, Z.; WANG, Y.; JIANG, Y.; XU, Y.; MENG, B. Vertebral osteomyelitis and report and literature review, *Journal of International Medical Research*, 2013; 41(2), pp.502–510.

ISIDRO, A. Las momias: tipología, historia y patología. Espanha, Logroño. **Revista espanhola de antropología física**, n. 26, p. 37-62, 2006. Disponível em: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/revista>. Acesso em: 23 out. 2019.

MAHGOUB, E. S.; MURRY, I. G. *Micetoma*. 2nd ed. Nova Délhi: Mehta Publishers, 2014.

MOKADDAS, E.; BURHAMAH, M. H.; AHMAD, A. S.; KHAN, Z. U. Invasive pulmonary aspergillosis due to *Aspergillus terreus*: value of DNA, galactomannan and (1A3)-b-D glucan detection in serum samples as an adjunct to diagnosis. **Journal of Medical Microbiology**, 2010; 59, pp. 1519–1523

MURRAY, P. R.; ROSSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. *Microbiologia: Médica*, 5° edição, Elsevier Editora Ltda, 2006. pp. 770-773

NEDJI, N.; LOUCIF -AYAD, W. Atividade antimicrobiana da própolis da Argélia em patógenos de origem alimentar e sua composição química quantitativa. **Asiático Pac J Trop Dis** . 2014; 4( 6 ): 433–437.

NGATU, N. R.; SARUTA, T.; HIROTA, R.; EITOKU, M.; MUZEMBO, B. A.; MATSUI, T. *et al.* Antifungal efficacy of Braziliangreen propolis extracts and honey on *Tinea capitis* and *Tinea versicolor*. **Eur J Integr Med**. 2011; e:281-7.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L. *et al.* Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Braz J Pharmacognosy**. v.18, n.2, p.301-307, 2008.

ORSI, R. O.; SFORCIN, J.M.; RALL, V. L. M.; FUNARI, S. R. C.; BARBOSA, L.; FERNANDES, J. R. A. Susceptibility profile of *Salmonella* against the antibacterial activity of própolis produced in two regions of Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins**, 2005; 11, 109–116.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Origem botânica e composição química da própolis brasileira. **J. Agric. Food Chem**. 2002; 50: 2502-2506.

RICHARDSON, M. D.; WARNOCK, D. W. **Fungal Infection Diagnosis and Management**. 3th edition. Victoria, Blackwell Publishing Asia Pty Ltda., 2003.

ROSA, C. A. R.; CAMPOS, S. G.; BARONI, F. A. **Práticas de Micologia Veterinária**. UFRRJ. Instituto Veterinária. Departamento de Micologia e Imunologia Veterinária. Micologia Veterinária. Prática 8. Seropédica, 2002.

SANTOS, S. F. M. **Estudo da Produção de Pectinases por Fermentação em Estado Sólido Utilizando Pedúnculo de caju como Substrato**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal- RN, 2007.

SANTOS, V. R. Propolis: alternative medicine for the treatment of oral microbial diseases. **Alternative Medicine**. 2012. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/alternative-medicine/antifungal-activity-of-propolis-oral-clinical-studies-inhumans>. Acesso em: 10 set. 2019.

SALATINO, A.; TEIXEIRA, E W.; NEGRI G.; MESSAGE, D. origin end Chemacal varation of brazilian própolis. **Evidence –basead complementary and alternative medicine**, v.2, n.1, p.33-38, 2005.

SAWICKA, D. *et al.* The anticancer activity of propolis. **Folia Histochemica Et Cytobiologica**, v. 50, n. 1, p. 25-37, 2012.

SERRANO, P.; FURTADO, C.; ANES, I.; COSTA, I. O. Micoses superfi ciais numa Consulta de Dermatologia Pediátrica – Revisão de 3 anos. **Trab Soc Port Dermatol Venerol**. 2005; 63: 341 -8.

SEVERO, L. C.; LONDERO, A. T. **Tratado de infectologia**. São Paulo: Atheneu, 2002.

SILVA, K. A.; GOMES, B. S.; MAGALHÃES, O. M. C.; LACERDA FILHO, A. M. Etiologia das dermatofitoses diagnosticadas em pacientes atendidos no Laboratório de Micologia Médica no Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, entre 2014-2017. **RBAC**. 2018; 50(1):33-7.

SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 253 -260, 2011.

SFORCIN, J. M.; ORSI, R. O; BANKOVA, V. Effect of propolis, some isolated compounds and its source plant on antibody production. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p. 301-305, 2007.

SOUZA, F. B. R.; FIRCHER, G.; VARGAS, G. D. Efeito antimicrobiano da própolis contra agentes infecciosos de interesse veterinário. **Science end Animal Health**, v.1, n.1, p. 24-37, 2013.

SCHMIDT, E. M.; STOCK, D.; CHADA, F. J. G. *et al.* A comparison between characterization and biological properties of Brazilian fresh and aged propolis. **Biomed Res Int**. 2014, p.1-10, 2014.

TORETI, V. C.; SATO, H. H.; PASTORE, G. M.; PARK, Y. K. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013; 2013:697390.

WELSH, O.; MORALES-TOQUERO, A.; VERA-CABRERA, L.; VAZQUEZ-MARTINEZ, O.; GÓMEZ-FLORES, M.; OCAMPO-CANDIANI, J. Actinomycetoma of the scalp after a car accident. **Int J Dermatol.**, 2011; 50(7):854-7

VAN DE SANDE WW, FAHAL AH, GOODFELLOW M, MAHGOUB EL S, WELSH O, ZIJLSTRA EE. Merits and pitfalls of currently used diagnostic tools in mycetoma. **PLoS Negl Trop Dis**. July 3, 2014.

VAN BELKUM, A.; FAHAL, A. H.; VAN SANDE, W. W. Susceptibilidade in vitro de *Madurella mycetomatis* ao posaconazol e terbinafina. **Antimicrob Agents Chemother.** 2011; 55: 1771-1773.

VALLE, A. C. F.; GALÊS, O.; VERA-CABRERA, L. **Micetoma.** *In:* Tying SK, Lupi O, Hengge UR, editores. *Dermatologia Tropical.* Filadélfia: Elsevier, 2006. pp. 197–200.

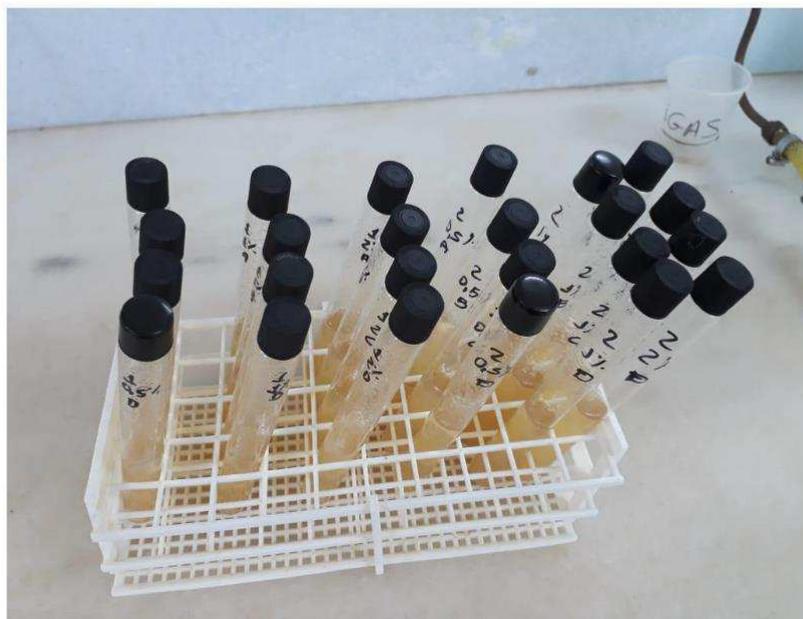
VENKATSWAMI, S.; SANKARASUBRAMANIAN, A.; SUBRAMANYAM, S. The madura foot: looking deep. **Int J Low Extrem Wounds.** 2012;11(1):31-42.

VERMA, S.; HEFFERNAN, M. P. **Superficial fungal infection:** dermatophytosis, onychomycosis, tinea nigra, piedra. *In:* WOLFF, K.; GOLDSMITH, L. A.; KATZ, S. I. et al. (Org.). *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine.* 7. ed. The McGraw-Hill Companies, 2008. p. 1807-1821.

ZHANG, X.; DAI, P.; GAO, Y. et al. Sequenciamento do transcriptoma e análise de genes relacionados à captação de zinco em *Trichophyton mentagrophytes*. **BMC Genomics.** 2017; 18 (1): 888.

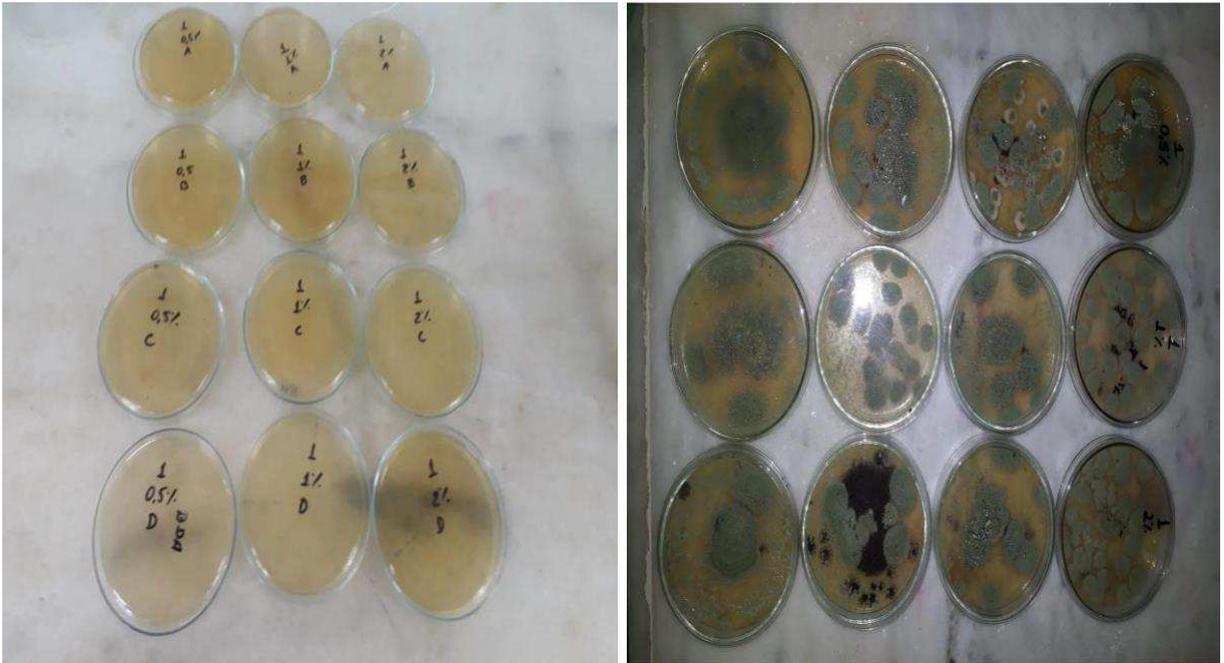
# **ANEXOS**

## ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DAS CEPAS UTILIZADAS NO TRATAMENTO



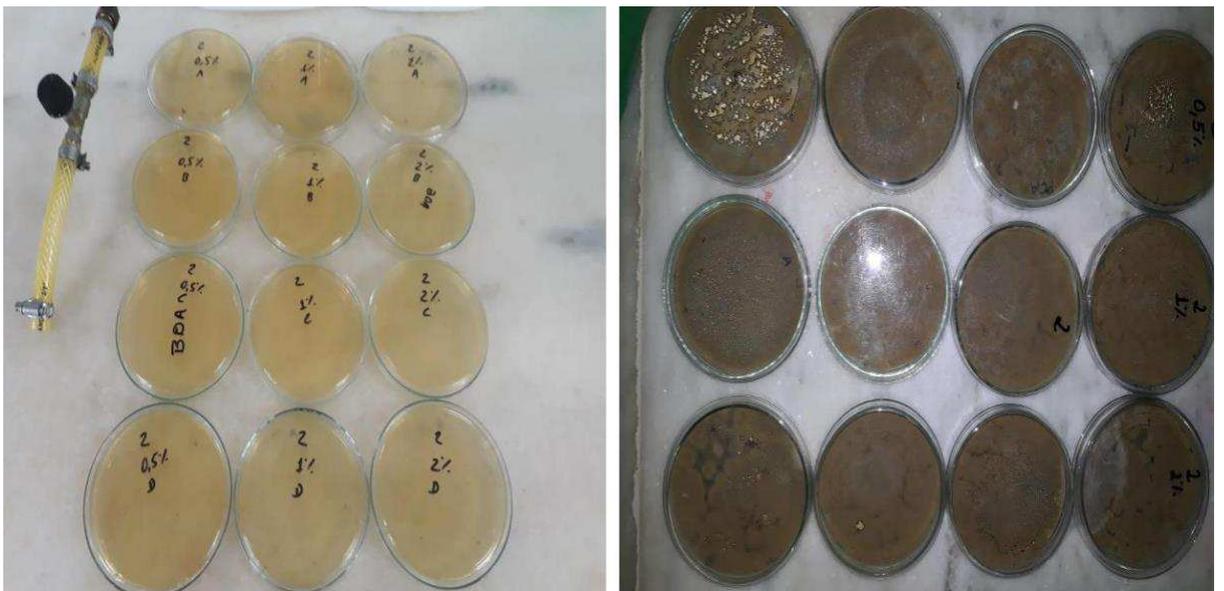
**Fonte:** Imagens obtidas a partir dos resultados das análises microbiológicas.

### Análise microbiológica do *Microsporium niger*



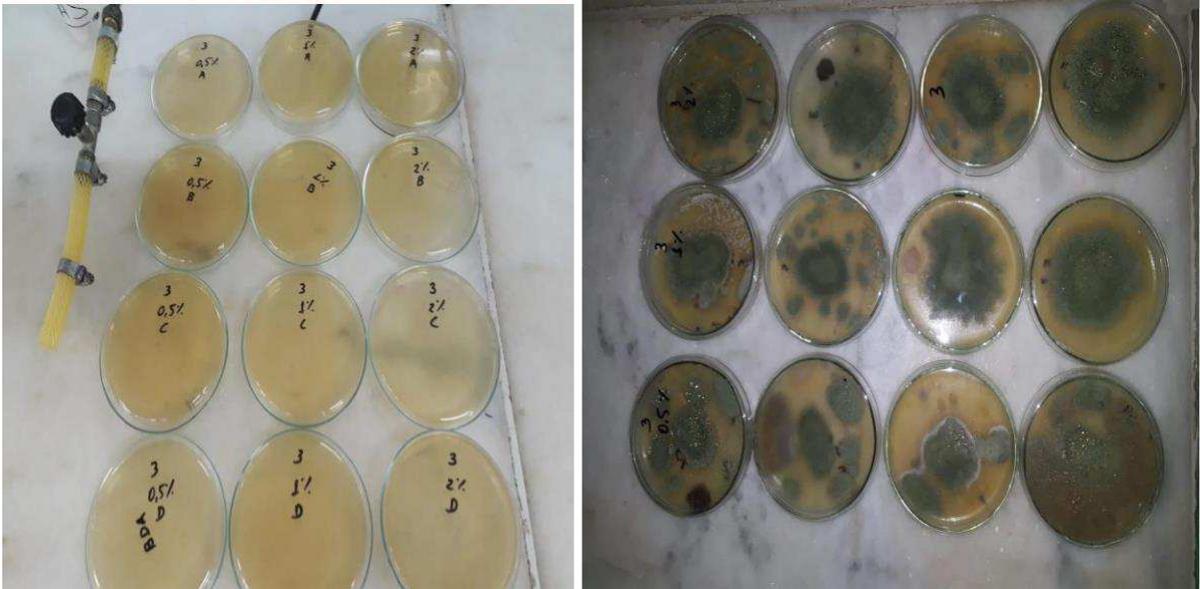
Fonte: Imagens obtidas a partir dos resultados das análises microbiológicas.

### Análise microbiológica do *Aspergillus niger*



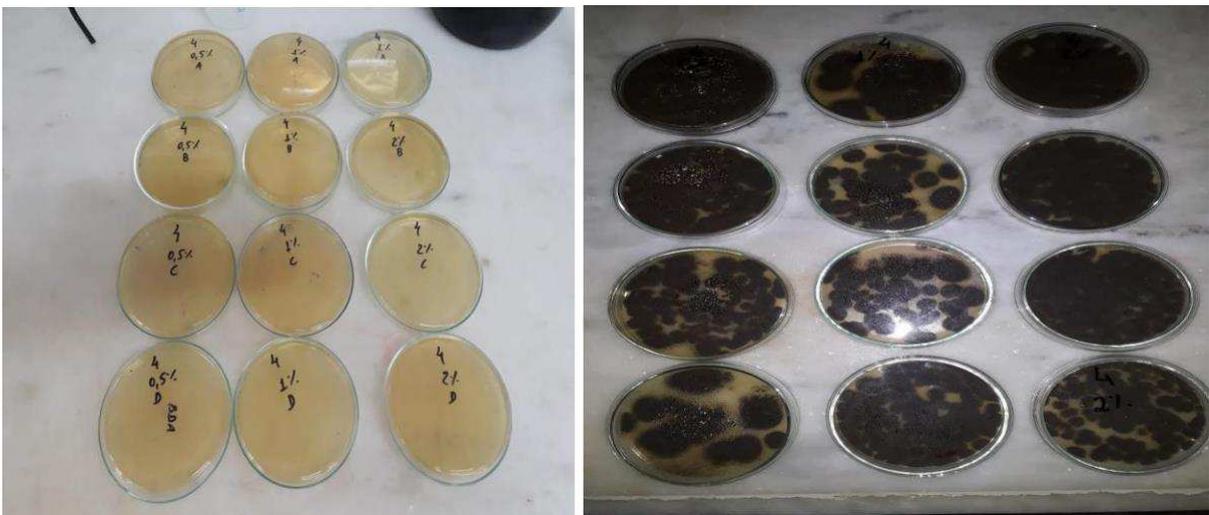
Fonte: Imagens obtidas a partir dos resultados das análises microbiológicas.

### Análise microbiológica do *Trichophyton mentagrophytes*



Fonte: Imagens obtidas a partir dos resultados das análises microbiológicas.

### Análise microgiologica do *Madurella mycetomatis* cetomatis



Fonte: Imagens obtidas a partir dos resultados das análises microbiológicas.