

Rassegna

Review

Attività antimicrobica della propoli: cosa c'è di nuovo?

Propolis antimicrobial activity: what's new?

Elena De Vecchi, Lorenzo Drago

Laboratorio Microbiologia, Dipartimento Scienze Precliniche LITA Vialba, Università di Milano, Italy

INTRODUZIONE

Con il termine propoli (dal greco pro-polis: in difesa della città) viene indicato quel materiale resinoso generalmente di colore giallo-marrone, utilizzato dalle api per proteggere e rinforzare l'alveare stesso, nonché sigillare i favi al fine di evitare l'intrusione di ospiti indesiderati [1-3]. Il rivestimento di tutte le superfici interne dell'arnia con la propoli contribuisce inoltre alla sterilizzazione dell'ambiente, anche se questo non preserva totalmente le api da malattie e infestazioni. Per lo stesso motivo la propoli viene anche utilizzata all'interno dell'alveare per imbalsamare eventuali intrusi ("propolizzazione") che le api hanno ucciso ma non sono in grado di portare all'esterno; in questo caso vengono sfruttate le proprietà antimicrobiche della propoli per impedire lo sviluppo della microflora putrefattiva, la cui azione potrebbe essere deleteria per la sopravvivenza dello stesso alveare [1].

L'azione antimicrobica è una delle caratteristiche principali della propoli; a questa si affiancano altre attività biologiche quali l'attività antinfiammatoria, anestetica, immunostimolante, antiulcera, epatoprotettiva, antitumorale, cicatrizzante e antiossidante [4-6].

Le molteplici proprietà della propoli sono conosciute fin dall'antichità. Gli Incas la utilizzavano infatti per curare le febbri, mentre gli Egiziani la impiegavano nei processi di mummificazione dei loro faraoni. Nell'opera "Naturalis Historia", Plinio cita le proprietà benefiche della propoli che i soldati dell'Impero Romano ricevevano in dotazione in piccole quantità da utilizzare per medicare le ferite. Anche i manuali di medicina araba e lo stesso Corano riportano

spesso citazioni circa l'efficacia della propoli. In trattati di medicina russa del XII secolo la propoli viene menzionata quale ottimo rimedio per curare il mal di gola, le piaghe e per cicatrizzare le ferite. Nonostante l'enorme popolarità, l'utilizzo della propoli rimase confinato alla medicina popolare per la maggior parte del secolo scorso. È solo a partire dal 1970 che l'attenzione dei ricercatori si è concentrata su di essa con la pubblicazione di studi scientifici su riviste internazionali. Attualmente, grazie a questi studi preliminari, sono numerose le applicazioni della propoli quale costituente principale di diversi prodotti sia dermocosmetici (creme, lozioni, shampoo, dentifrici, balsami) sia per la salute (spray, collutori, pastiglie, tinture madri). Per la formulazione di questi prodotti, la propoli viene utilizzata prevalentemente come estratto idroalcolico. Sebbene la maggior parte degli studi attualmente disponibili sulla propoli siano stati condotti utilizzando questa forma, le soluzioni idroalcoliche sono caratterizzate da un sapore e odore pungenti e spesso sgradevoli, nonché da tutti gli effetti interferenti dell'etanolo [1, 5]. Queste caratteristiche creano anche qualche difficoltà dal punto di vista della produzione industriale, come ad esempio l'incorporazione del principio attivo in formulazioni orali non adatte ai bambini per la presenza di alcool, in collutori o in dentifrici. D'altra parte anche la compliance del paziente può risultare limitata a causa delle sfavorevoli proprietà organolettiche. In ogni caso per le propoli idroalcoliche rimane il problema della scarsa solubilità, che limita l'attività *in vivo* a causa della scarsa capacità di raggiungere elevate concentrazioni nel sito d'azione. Recentemente sono stati studiati diversi approcci tec-

nologici e interessanti processi industriali che permettono un miglioramento di alcune delle caratteristiche precedentemente elencate. Sicuramente una delle più importanti innovazioni tecnologiche è il processo di actichelazione, consistente nell'introduzione, durante la produzione, di potenziatori di inclusione (o biocatalizzatori), capaci di ridurre l'energia necessaria a trasformare il semplice processo di comacinazione in una reazione mecano-chimica allo stato solido. Il risultato è un materiale multicomposito in cui le strutture chimiche delle sostanze di partenza restano inalterate, mentre le proprietà chimico-fisiche (p.es. solubilità, stabilità, gusto) vengono migliorate. La principale caratteristica di questo prodotto è la sua idrosolubilità che porta a un miglioramento della sua maneggevolezza.

■ LA PROPOLI IDROALCOLICA E ACTICHELATA

Composizione

A partire dagli anni '60 sono numerosi gli studi tesi a chiarire la composizione chimica della propoli. Inizialmente si riteneva che la propoli presentasse una composizione molto complessa [7], al punto che l'uso della propoli in medicina è stato sconsigliato sino a quando non fosse stata fatta maggiore chiarezza sulla composizione e sull'attività dei singoli componenti [1]. Da allora le conoscenze sulla composizione chimica della propoli sono notevolmente aumentate, evidenziando l'ampia variabilità e numerosità dei suoi costituenti [2, 8-10]. Essi infatti variano grandemente in funzione del tipo di flora locale, della stagione e delle zone di provenienza della propoli.

Nella cosiddetta "propoli grezza" (propoli presente nell'alveare con gradi di purezza del 60-80%) si possono distinguere sostanze aventi tre diverse origini: una componente derivante dagli essudati vegetali raccolti dalle api, una derivata dal metabolismo delle api stesse e una introdotta durante la produzione della propoli [11]. La propoli è normalmente costituita per circa il 10-30% da cere, che le api aggiungono alla propoli per renderla più malleabile, per il 50-55% da resine e balsami, per il 10-15% da oli essenziali ed per il 5% da polline. La componente vegetale è senza dubbio la più importante essendo costituita da molecole cui è ascrivibile la maggior parte delle attività biologiche osservate per la propoli. Le maggiori differenze tra le

varie propoli di diversa origine si ritrovano in quelle provenienti da zone con marcate differenze climatiche. Nelle zone a clima temperato (Europa, Asia, Nord America), piante appartenenti al genere *Populus*, e in particolare *Populus nigra*, rappresentano la maggiore fonte di propoli, anche se nelle zone più fredde, come il Nord della Russia, predomina la betulla [2]. La propoli proveniente da queste regioni è caratterizzata da una composizione chimica sovrapponibile in cui prevalgono composti fenolici, quali flavonoidi agliconi e flavononi, acidi aromatici e loro derivati esterificati, esteri dell'acido caffeico con alcoli a lunga catena [11, 12].

Nelle regioni tropicali, dove diverse sono le piante e i fiori utilizzati come fonti di propoli (*Cistus spp* in Tunisia, *Clusia spp* in Venezuela, *Xanthorrhoeae spp* in Australia, *Araucaria spp* e *Baccharis spp.* in Brasile) (13, 14), rispetto alla propoli di origine europea, si ritrovano in maggiore concentrazione derivati preniliati dell'acido *p*-cumarico e dell'acetofenone, diterpeni e lignani. Per quanto riguarda il contenuto in flavonoidi, sono stati identificati sia flavonoidi analoghi a quelli presenti nella propoli di origine europea, seppur provenienti da piante diverse, sia flavonoidi caratteristici come sideritflavonoidi e eteri di mircetina e quercetina [10, 15, 16]. Una composizione chimica differente caratterizza la propoli di origine cubana che, per la presenza di benzofenoni preniliati, si distingue da quella brasiliana e da quella europea [17, 18]. L'elevata variabilità della composizione chimica si traduce in profonde differenze nelle caratteristiche fisiche della propoli, che può variare per colore, aroma o sapore, ma anche, seppur in maniera meno marcata, in differenze nell'attività biologica, sebbene, come evidenziato in Tabella 1, le molecole responsabili di tali attività siano differenti.

Proprio l'estrema varietà di componenti ha da sempre rappresentato uno dei maggiori problemi negli studi di valutazione dell'attività delle diverse propoli. Per questo motivo negli ultimi anni è emersa la necessità di un'armonizzazione dei metodi utilizzati, al fine di una migliore caratterizzazione delle differenti propoli, cercando di definirne le reali attività.

Meccanismo d'azione antimicrobica della propoli

Appare ormai assodato che l'attività antimicrobica della propoli non sia il risultato dettato da una singola frazione, ma piuttosto sia determinata dall'azione sinergica di alcune delle sue componenti, in particolare fenoli e flavonoidi

Tabella 1 - Sostanze responsabili delle attività biologiche di diversi tipi di propoli.

Origine Propoli	Attività:					
	<i>Antibatterica</i>	<i>Antiinfiammatoria</i>	<i>Antitumorale</i>	<i>Epatoprotettiva</i>	<i>Antiossidante</i>	<i>Allergenica</i>
Europa (pioppo)	Flavononi, flavoni, acidi fenolici, esteri acidi fenolici	Flavononi, flavoni, acidi fenolici, esteri acidi fenolici	Esteri fenilici dell'acido caffeico	Acido caffeico, acido ferulico, esteri fenetilici dell'acido caffeico	Flavonoidi, acidi fenolici, esteri acidi fenolici	3,3-dimetil-caffeato
Brasiliana (Baccharis)	Acidi <i>p</i> -cumarici prenilati, diterpeni labdanici	Non identificati	Acidi <i>p</i> -cumarici prenilati, diterpeni clerodani, benzofurani	Acidi <i>p</i> -cumarici prenilati, lignani, flavonoidi, acidi cafeoil-quinici	Acidi <i>p</i> -cumarici prenilati, flavonoidi	Non esaminata
Cuba	Benzofenoni prenilati	Non esaminata	Benzofenoni prenilati	Non identificati	Benzofenoni prenilati	Non esaminata
Taiwan	Non esaminata	Flavononi esaminata	Flavononi prenilati	Flavononi esaminata	Flavononi prenilati	Flavononi esaminata

(galangina, pinocebrina e pinobaschina) [6, 19-22].

L'azione antibatterica della propoli sembra esplicarsi a diversi livelli e attraverso molteplici meccanismi d'azione:

1. inibizione della divisione cellulare;
2. scompaginamento della membrana citoplasmatica e della parete cellulare;
3. inibizione della sintesi proteica e della RNA polimerasi [23],
4. inibizione enzimatica [24].

L'attività della quercetina è, almeno parzialmente, evidenziabile attraverso l'inibizione della DNA girasi, mentre l'azione della galangina causa una massiva perdita di potassio nelle cellule di *Staphylococcus aureus*, attribuibile a un'azione diretta sulla membrana citoplasmatica o a un'azione indiretta dovuta a un indebolimento della parete cellulare batterica e conseguente lisi osmotica [25]. A livello di membrana è stato inoltre osservato il disaccoppiamento della trasduzione di energia e la conseguente inibizione della motilità batterica [26]. È stato dimostrato come la propoli possa limitare l'azione patogena di *S. aureus* interferendo con alcuni fattori di virulenza come l'attività coagulastica e lipasica o la produzione di biofilm batterico [27].

Uno studio riguardo gli effetti della propoli sui fattori di virulenza di *Candida albicans* ha evidenziato una riduzione della lunghezza ifale, un'inibizione dose e tempo dipendente dell'at-

tività fosfolipasica e un'alterazione della struttura della membrana plasmatica [28].

Il meccanismo responsabile dell'attività antivirale di propoli non è stato, invece, ancora ben definito: si ritiene che l'interazione della propoli con la membrana cellulare possa bloccare la penetrazione delle particelle virali nella cellula ospite e/o indurre cambiamenti a livello intracellulare che, a loro volta, alterano il ciclo di replicazione virale [29]. È stato infatti ipotizzato che i flavonoidi presenti nella propoli possano interferire con i processi redox intracellulari indotti dalla moltiplicazione virale [30]. A sua volta, la stimolazione di questi processi favorisce la produzione di radicali liberi dannosi per la cellula. L'attività dei flavonoidi come *scavengers* di radicali liberi potrebbe attenuare lo stress ossidativo dovuto alla generazione di radicali liberi dell'ossigeno e, di conseguenza, esercitare un'azione antivirale [31].

Effetti collaterali e tossicità

La reazione più frequente all'uso di propoli è rappresentato dall'insorgenza di dermatite, fino a qualche tempo fa osservabile soprattutto tra gli addetti ai lavori. Negli ultimi anni, tuttavia, a causa del vasto uso di propoli come prodotto cosmetico, si è assistito a un incremento dei casi di allergia, che sono stimati tra 1,2 e 6,6% [32, 33]. Sebbene gli esteri dell'acido caffeico (fenilettil-caffeato e metilbutenil-caffeato) abbiano mostrato la maggiore capacità allergiz-

zante, altri costituenti della propoli (es. isoferulati, flavonoidi agliconi e acidi aromatici liberi) possono occasionalmente avere un ruolo nel determinare allergia [34, 35], anche se occorre sottolineare che i flavonoidi, i principali costituenti della propoli dotati di attività biologica, sono caratterizzati da un basso livello di tossicità [36].

Generalmente la propoli viene considerata dotata di un basso livello di tossicità acuta: i valori riportati di LD₅₀ nell'animale sono compresi tra 2050 mg/kg e 7340 mg/kg [5].

■ EZIOLOGIA DELLE INFEZIONI DEL CAVO ORALE E DELLE PRIME VIE RESPIRATORIE: RUOLO DELLA PROPOLI

Uno degli impieghi più popolari della propoli nella medicina tradizionale è l'uso come adiuvante nella terapia delle infezioni del cavo orale e delle prime vie respiratorie. Queste ultime sono tra le patologie più comuni nei paesi industrializzati e ai primi posti tra i motivi di intervento del medico di medicina generale. Parimenti importanti sono le patologie del cavo orale ad eziologia infettiva, generalmente di natura polimicrobica e per le quali è stata evidenziata una associazione con patologie respiratorie di una certa gravità [37].

La natura di queste infezioni è assai variabile vedendo coinvolti, quali agenti patogeni, batteri, virus e, più raramente, miceti. Tra queste infezioni, particolarmente frequente, soprattutto in ambito pediatrico, è la faringotonsillite, la quale può essere causata sia da batteri che da virus [38]. Sebbene la maggior parte delle faringiti sia causata da un'ampia varietà di virus, per le complicanze che possono seguire l'infezione acuta, *Streptococcus pyogenes*, responsabile di circa il 15-30% delle faringiti nei bambini e del 10% negli adulti viene generalmente considerato il più importante tra gli agenti eziologici di faringite [39]. Streptococchi di gruppo C e G possono essere implicati quali agenti eziologici di faringite in adolescenti e bambini [40]. Faringiti e faringotonsilliti batteriche non streptococciche sembrano associate alla presenza di *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae* [41], *Mycoplasma pneumoniae* e *Chlamydia pneumoniae* [39].

Un'ampia gamma di virus è responsabile di faringiti che nella maggior parte dei casi si rivelano di moderata gravità. Tra essi i più frequenti sembrano essere *Rhinovirus* ed *Enterovi-*

rus e, in misura minore, *Coronavirus*, *Adenovirus*, virus influenzali e parainfluenzali, il virus respiratorio sinciziale e virus erpetici (*Herpes simplex*, *Cytomegalovirus*, virus di Epstein-Barr) [38].

Alcuni di questi stessi virus possono essere anche responsabili di infezioni del cavo orale (periodontopatie ed endodontopatie), insieme a streptococchi e a batteri anaerobi, e di altre infezioni delle alte vie respiratorie (raffreddore, otite media acuta, sinusite) [42-45]. Sinusite e otite presentano prevalentemente una eziologia batterica, dove *Streptococcus pneumoniae*, *M. catarrhalis* e *H. influenzae* sono i batteri più frequentemente coinvolti, mentre più raramente si possono riscontrare stafilococchi e streptococchi di gruppo A [46]. Sono numerosi gli studi, soprattutto *in vitro*, che dimostrano come la propoli, seppur con differenze tra le diverse varietà, abbia una marcata attività nei confronti dei microrganismi sopra accennati.

■ IL PROBLEMA DELLA RESISTENZA BATTERICA AGLI ANTIBIOTICI

Diversi sono i fattori che devono essere tenuti in considerazione nella scelta della terapia antimicrobica delle infezioni delle vie aeree superiori (faringite e faringotonsillite, raffreddore comune, rinite, sinusite e otite media acuta). Il primo fattore è sicuramente la natura dell'agente infettante, dal momento che queste infezioni possono presentare un'eziologia batterica, virale o mista. Il secondo deve tenere conto dell'eventuale insorgenza e diffusione di resistenza agli antibiotici impiegati nella terapia dell'infezione batterica, valutando sempre la reale necessità di tale terapia, poiché se da una parte queste infezioni possono risolversi spontaneamente, dall'altra, seppur in misura minore, può permanere il rischio di complicanze se non trattate. Generalmente, l'uso di antibiotici non sembra avere importanza nel decorso dell'infezione in caso di raffreddore comune e rinite, mentre rimane auspicabile in caso di otite, sinusite e faringite streptococcica [47].

L'approccio terapeutico delle infezioni delle alte vie respiratorie è quasi sempre empirico, con un uso prevalente di β -lattamici e macrolidi. Nel caso della faringite, il fine primario della terapia antibiotica è l'eradicazione di *S. pyogenes* allo scopo di evitare l'insorgenza di complicanze suppurative e non suppurative [48, 49]. In tale contesto, fin dalla sua scoperta,

la penicillina ha rappresentato l'antibiotico di elezione per il trattamento di faringite e faringotonsillite di origine streptococcica. Nel caso di soggetti allergici alla penicillina, hanno costituito una valida alternativa i macrolidi, soprattutto claritromicina e azitromicina. Sebbene a tutt'oggi per la penicillina non è stata dimostrata l'insorgenza di ceppi *S. pyogenes* resistenti, per ragioni non completamente comprese, nel 10-20% dei casi la terapia con penicillina, non essendo capace di eradicare completamente *S. pyogenes*, non è sinonimo di successo terapeutico [50]. Tra le possibili cause di tale insuccesso, alcuni autori hanno ipotizzato la presenza a livello faringeo di batteri produttori di β -lattamasi in grado di inattivare la penicillina, causando insufficienti livelli di antibiotico nel sito di infezione [38].

Un'alternativa ai β -lattamici è costituita dai macrolidi (eritromicina, claritromicina e azitromicina) e dai chetolidi (telitromicina) [51]. Purtroppo, con questi farmaci, nel corso del tempo si è assistito a un notevole incremento di ceppi ad essi resistenti, seppure in percentuale variabile per i diversi farmaci nei vari Paesi del mondo [52]. In Italia la resistenza di *S. pyogenes* ai macrolidi, dopo aver toccato un picco nel periodo tra il 1993 e il 1997, si è ora assestata su valori pari al 30% circa [53, 54]. I chetolidi (derivati sintetici dei macrolidi), il primo dei quali ad essere approvato è stato telitromicina, sono stati disegnati per superare i problemi legati alla resistenza ai macrolidi, essendo attivi anche nei confronti della maggior parte dei ceppi resistenti all'eritromicina. Per tali farmaci, recentemente, sono state già osservate resistenze in misura variabile in diverse aree geografiche [55-57].

Nel caso di sinusite e otite media, considerata l'ampia diffusione di β -lattamasi tra gli agenti responsabili di queste patologie, come *M. catarrhalis* e in minor misura *H. influenzae*, i β -lattamici dovrebbero essere associati a un inibitore delle β -lattamasi, mentre, in tale contesto, rimane inalterato il ruolo dei macrolidi e dei chetolidi. Un discorso a parte merita il fenomeno della resistenza di *S. pneumoniae*, per il quale, in Italia, alla resistenza ai macrolidi di entità simile a quanto osservato per *S. pyogenes*, si è affiancata negli ultimi anni una resistenza alla penicillina in circa il 10% degli isolati [54, 58]. In definitiva, a causa dell'incremento di resistenze osservato negli anni, molti Autori concordano, più che in una limitazione d'uso, in un utilizzo più appropriato dell'antibiotico, te-

nendo sempre in considerazione non solo l'attività antimicrobica osservata, ma anche le caratteristiche farmacocinetiche e farmacodinamiche, soprattutto nel sito infetto.

Recentemente, infatti, è stata osservata da diversi autori la capacità di alcuni antibiotici di indurre, *in vitro*, resistenza dopo ripetute esposizioni a concentrazioni antibiotiche crescenti [59-64]. È stato visto, inoltre, che a concentrazioni antibiotiche pari a quelle raggiungibili *in vivo* in diversi distretti corporei (plasma, tonsille, etc.) la capacità di indurre resistenza è diversa tra i vari antibiotici, anche all'interno della stessa classe [59, 60].

Alla luce della larga diffusione della resistenza a diversi antibiotici, è da più parti auspicato un attento uso di questi farmaci, mentre viene incoraggiato il ricorso a rimedi naturali o a prodotti caratterizzati da una provata azione antimicrobica, e da una scarsa capacità di indurre fenomeni di resistenza.

■ SPETTRO D'AZIONE DELLA PROPOLI

Sebbene la mancanza di una standardizzazione metodologica per esprimere l'attività della propoli renda difficoltosa una comparazione tra i diversi studi, parecchie evidenze sperimentali hanno dimostrato l'ampio spettro d'azione della propoli, essendo attiva nei confronti di diversi batteri sia Gram positivi che Gram negativi, miceti, alcuni protozoi e vari virus [29, 65-71]. Tra i batteri sensibili all'azione della propoli rientrano i principali agenti eziologici di infezioni delle vie respiratorie e del cavo orale, quali streptococchi, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *S. aureus* sia meticillino-sensibili che meticillino-resistenti, *Candida spp.* e alcuni batteri anaerobi. L'attività verso questi microrganismi risulta batteriostatica a basse concentrazioni, ma battericida a concentrazioni più elevate. Diverse attività sono state inoltre riportate per propoli di diversa origine geografica o prodotte da specie apiarie diverse [9, 67, 69]. Differenze di attività tra estratti alcolici provenienti dalla Bulgaria e dal Brasile sono state osservate nei confronti di *S. aureus*, con concentrazioni minime inibenti (CMI) rispettivamente di 102,4 $\mu\text{g/mL}$ e 1638,4 $\mu\text{g/mL}$, *S. pneumoniae* (CMI: 25,6 $\mu\text{g/mL}$ vs 819,2 $\mu\text{g/mL}$) e *Neisseria meningitidis* (CMI: 12,8 $\mu\text{g/mL}$ vs 102,4 $\mu\text{g/mL}$) (67). Analogamente, differenze nei valori di CMI sono state riportate nei confronti di *S. aureus* per estratti etanolici di propoli provenienti da

zone continentali e mediterranee della Croazia (CMI: $0,89 \pm 0,71$ vs $5,68 \pm 2,04$ mg/mL, rispettivamente) [69]. L'ampia diversità di attività antimicrobica viene generalmente ascritta alla diversa composizione chimica delle propoli utilizzate nei diversi studi. Per questo motivo sarebbe auspicabile identificare alcuni parametri caratteristici per ciascun tipo di propoli cui riportare l'attività osservata, come ad esempio il contenuto in flavonoidi totali o in galangina, identificati quali principali responsabili dell'attività antimicrobica.

Recentemente diversi autori hanno messo in evidenza l'azione sinergica della propoli con diversi antibiotici nei confronti di *S. aureus*, impiegando molecole in grado di interferire con la sintesi proteica, quali clindamicina, tetraciclina, gentamicina [72]. Sinergia tra propoli e altri antibiotici è stata anche osservata nei confronti di *Helicobacter pylori* e *Salmonella typhi* [73, 74].

Sebbene l'esatto meccanismo dell'attività antivirale della propoli non sia stato ancora definito, lo spettro d'azione include diversi virus quali Herpes simplex, virus influenzali e HIV [29, 30, 75, 76].

Recentemente, nel nostro laboratorio è stato condotta una valutazione sull'attività della propoli actichelata rispetto all'estratto idroalcolico (dati on file). La propoli actichelata da noi valutata è caratterizzata da un contenuto in flavonoidi circa 10 volte inferiore a quello dell'estratto idroalcolico; rapportando di conseguenza le concentrazioni attive di propoli al contenuto totale di flavonoidi, è stata osservata una maggiore attività antibatterica e antivirale per la propoli actichelata rispetto a quanto osservato per l'estratto idroalcolico, con valori di CMI nei confronti di batteri Gram positivi e Gram negativi compresi tra 0,016 e 4 mg/mL per la forma actichelata e tra 0,084 e 21,4 mg/mL per l'estratto idroalcolico. Ciò potrebbe essere dovuto al processo di actichelazione che permette una migliore solubilità della propoli in acqua e una migliore penetrabilità a livello cellulare in prove *in vitro*. La maggiore capacità di penetrare nelle cellule eucariotiche potrebbe essere alla base della più efficace attività antivirale nei confronti di *Herpes virus*, *Influenza virus*, *Parainfluenza virus* e *Adenovirus* rispetto a quella mostrata dall'estratto idroalcolico (dati on file).

■ CONCLUSIONI

Le infezioni delle alte vie respiratorie ad eziologia batterica, virale o mista sono tra le più frequenti patologie infettive a livello comunitario in tutto il mondo. Diversi sono i virus ritenuti i principali agenti eziologici di tali infezioni, che possono manifestarsi secondo diversi quadri che vanno dal semplice raffreddore comune alla rinite alla sinusite, faringotonsillite o tracheite. Nonostante la prevalenza di infezioni virali, è frequente il ricorso alla terapia antibiotica allo scopo di evitare sovrainfezioni batteriche o complicanze post-infettive, come nel caso di infezione dovuta a *S. pyogenes*. Il largo impiego di antibiotici ha contribuito nel tempo all'insorgenza di ceppi batterici resistenti agli antibiotici, la cui diffusione pone un notevole limite alle opzioni terapeutiche disponibili per il trattamento di tali infezioni. Per fronteggiare questo fenomeno, che in alcune zone del mondo ha assunto negli anni dimensioni preoccupanti, si consiglia da una parte un uso avveduto degli antibiotici stessi, e dall'altra la rivalutazione di sostanze di origine naturale, da tempo impiegate nella medicina popolare, ma per le quali finora erano scarse le evidenze di efficacia.

L'attività antimicrobica della propoli è stata evidenziata da diversi studi e la sua efficacia è dimostrata dal suo impiego nella tradizione popolare di diverse nazioni anche lontane tra loro. L'attenzione che negli ultimi anni ha ricevuto da parte di molti ricercatori nel creare valide alternative al trattamento antibiotico, ha recentemente portato allo sviluppo di nuove formulazioni allo scopo di migliorarne alcune caratteristiche biologiche e organolettiche. In particolare, il processo di actichelazione permette di aumentare l'idrosolubilità della propoli e di incrementarne l'attività antimicrobica. I dati attualmente disponibili ne giustificano un potenziale utilizzo nella terapia di infezioni delle alte vie respiratorie e del cavo orale. Per quanto riguarda la propoli actichelata, l'attività osservata *in vitro* offre le basi per una applicazione più mirata e più efficace rispetto alle formulazioni tradizionali.

Key Words: propolis; antimicrobial activity; respiratory pathogens.

RIASSUNTO

La propoli è un prodotto ottenuto dalle api attraverso l'elaborazione di quelle resine balsamiche che generalmente ricoprono le gemme e le cortecce degli alberi. La composizione della propoli risulta assai variabile, in ragione della provenienza botanica e della stagione di raccolta, ma essenzialmente costituita, seppur in diverse concentrazioni, da resine, balsami, oli essenziali, flavonoidi, vitamine, minerali e tracce di polline. Sebbene siano stati identificati più di 300 costituenti, l'attività biologica della propoli è riconducibile solo ad alcune sostanze, quali flavonoidi, terpeni, acidi ed esteri caffeici, ferulici e cumarici.

Alla propoli sono state attribuite molteplici proprietà, non tutte però supportate da solide evidenze sperimentali e cliniche. Attualmente ven-

gono ascritte alla propoli un'attività antimicrobica nei confronti di una vasta gamma di microrganismi (batteri, miceti, virus), antiinfiammatoria, anestetica locale, cicatrizzante e riepitelizzante, vasoprotettiva, antiossidante, antitumorale, antiulcerosa ed epatoprotettiva. L'ampio spettro di attività ha portato negli ultimi anni allo sviluppo di metodologie tecnologicamente innovative, quali l'actichelazione, allo scopo di ottenere un prodotto con caratteristiche migliori rispetto al tradizionale estratto idroalcolico.

Nella presente rassegna vengono evidenziate le proprietà antimicrobiche della propoli, specialmente verso i principali patogeni respiratori, tali da rendere questa sostanza un utile strumento nella terapia delle infezioni delle alte vie respiratorie.

SUMMARY

Propolis is a hive product that bees manufacture from balsamic resins actively secreted by plants on leaf buds and barks. Propolis composition is highly variable, depending on the plant species and on the season of collection. However, propolis essentially contains resins, balsams, essential oils, flavonoids, vitamins, minerals and pollen, albeit at different concentrations. Although more than 300 constituents have been identified in propolis samples, biological activity is mainly due to few substances, such as flavonoids, terpenes, caffeic, ferulic and cumaric acids and esters.

Propolis is characterized by multifactorial activities, but only some of them have been substantiated by clinical

and experimental evidence. It is widely acknowledged to exert antimicrobial activity against a wide range of microorganisms (bacteria, fungi and viruses), but also exerts antiinflammatory, anaesthetic, healing, vasoprotective, antioxidant, antitumoral, antiulcer and hepatoprotective activities. The wide spectrum of activities has led in recent years to the development of new technologies to improve propolis properties of the traditional hydroalcoholic extract.

This paper reviews the antimicrobial properties of propolis, focusing on respiratory pathogens. These characteristics make propolis a valid option for therapy of upper respiratory tract infections

■ BIBLIOGRAFIA

- [1] Ghisalberti E.L. Propolis: a review. *Bee Wld.* 60, 59-84, 1978.
- [2] Bankova V.S., De Castro S.L., Marcucci M.C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31, 3-15, 2000.
- [3] Bankova V. Recent trends and important developments in propolis research. *eCAM.* 2, 29-32, 2005.
- [4] Banskota A.H., Tezuka Y., Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother. Res.* 15, 561-571, 2001.
- [5] Burdock G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem. Toxicol.* 36, 347-363, 1998.
- [6] Castaldo S., Capasso F. Propolis an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia.* 73 (Suppl.1), S1-S6, 2002.
- [7] Lindenfelser L.A. Antimicrobial activity of propolis. *Am. Bee J.* 107, 90-92, 1967.
- [8] Bankova V. Chemical diversity of propolis and the

problem of standardization. *J. Ethnopharmacol.* 100, 114-117, 2005.

[9] Silici S., Kutluca S. chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *J. Ethnopharmacol.* 99, 69-73, 2005.

[10] Salatino A., Weinstein Teixeira E., Negri G., Mesage D. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. *eCAM.* 2, 33-38, 2005.

[11] Marcucci M.C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 26, 83-99, 1995.

[12] Christov R., Bankova V., Hegazi A., Abd El Hady F., Popov S. Chemical composition of Egyptian propolis. *Z. Naturforsch.* 53, 197-200, 1998.

[13] Marcucci M.C., Rodriguez J., Ferreres F., Bankova V., Groto R., Popov S. Chemical composition of Brazilian propolis from Sao Paulo State. *Z. Naturforsch.* 53, 117-119, 1998.

[14] Martos I., Cossentini M., Ferreres F., Tomas-Barberan F.A. Flavonoid composition of tunisian honeys and propolis. *J. Agric. Food Chem.* 45, 2824-2829, 1997.

- [15] Park Y.K., Alencar S.M., Aguiar C.L. Botanical origin and chemical composition of brazilian propolis. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2502-2506, 2002.
- [16] Martos I., Ferreres F., Yao L., D'Arcy B., Caffin N., Tomas-Barberan F.A. Flavonoids in monospecific eucalyptus honeys from Australia. *J. Agric. Food Chem.* 48, 4744-4748, 2000.
- [17] Piccinelli A.L., Campo Fernandez M., Cuesta-Rubio O., Marquez Hernandez I., De Simone F., Rastrelli L. Isoflavonoids isolated from Cuban propolis. *J. Agric. Food Chem.* 53, 9010-9016, 2005.
- [18] Cuesta-Rubio O., Frontana-Urbe B.A., Ramirez-Apan T., Cardenas J. Polyisoprenylated benzophenones in cuban propolis; biological activity of nemorosone. *Z. Naturforsch. [C]*. 57, 372-378, 2002.
- [19] Sforcin J.M., Orsi R.O., Bankova V. Effect of propolis, some isolated compounds and its source plant on antibody production. *J. Ethnopharmacol.* 98, 301-305, 2005.
- [20] Kujumgeev A., Tsvetkova I., Serkedjieva Y., Bankova V., Christov R., Popov S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J. Ethnopharmacol.* 64, 235-240, 1999.
- [21] Krol W., Scheller S., Shani J., Pietsz G., Czuba Z. Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Arzneimittel-Forsch.* 43, 607-609, 1993.
- [22] Sforcin J.M., Fandes A. Jr., Lopes C.A., Bankova V., Funari S.R. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* 73, 243-249, 2000.
- [23] Takaisi-Kikuni N.B., Schilcher H. Electron microscopy and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenience. *Planta Medica.* 60, 222-227, 1994.
- [24] Cushnie T.P., Lamb A.J. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 26, 343-356, 2005.
- [25] Cushnie T.P., Lamb A.J. Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. *J. Ethnopharmacol.* 101, 243-248, 2005.
- [26] Mirzoeva O.K., Grishanin R.N., Calder P.C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effect on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbial Res.* 152, 239-246, 1997.
- [27] Scazzocchio F., D'Auria F.D., Alessandrini D., Pantanella F. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiol. Res.* 161, 327-333, 2006.
- [28] D'Auria F.D., Tecca M., Scazzocchio F., Renzini V., Strippoli V. Effect of propolis on virulence factors of *Candida albicans*. *J. Chemother.* 15, 454-60, 2003.
- [29] Huleihel M., Isanti V. Anti-Herpes simplex virus effect of an aqueous extract of propolis. *IMAJ.* 4 (Suppl), 923-927, 2002.
- [30] Amoros M., Simoes C.M.O., Girre L., Sauvager F., Cormier M. Synergistic effect of flavons and flavonols against *Herpes simplex virus-type 1* in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. *J. Nat. Prod.* 55, 1732-1740, 1992.
- [31] Nakayama T., Yamada M., Osawa T., Kawakishi S. Suppression of active oxygen-induced cytotoxicity by flavonoids. *Biochem. Pharmacol.* 45, 265-267, 1993.
- [32] Walgrave S.E., Warshaw E.M., Glesne L.A. Allergic contact dermatitis from propolis. *Dermatitis.* 16, 209-215, 2005.
- [33] Giusti F., Miglietta R., Pepe P., Seidenari S. Sensitization to propolis in 1255 children undergoing patch testing. *Contact Dermatitis* 51, 255-258, 2004.
- [34] Hausen B.M., Wollenweber E., Senff H., Post B. Propolis allergy (II). The sensitising properties of 1,1-dimethylallyl caffeic acid ester. *Contact Dermatitis* 17, 171-177, 1987.
- [35] Hausen B.M., Wollenweber E. Propolis allergy (III). Sensitization studies with minor constituents. *Contact Dermatitis* 19, 296-303, 1988.
- [36] Havsteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* 32, 1141-1148, 1983.
- [37] Azarpazhooh A., Leake J.L. Systematic review of the association between respiratory diseases and oral health. *J. Periodontol.* 77, 1465-1482, 2006.
- [38] Tan T.Q. The appropriate management of pharyngitis in children and adults. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 3, 751-756, 2005.
- [39] Bisno A.L., Gerber M.A., Gwaltrey J.M. et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of adults with pharyngitis - a cost-effectiveness analysis. *Ann. Intern. Med.* 139, 113-122, 2003.
- [40] Gerber M.A., Randolph M.R., Martin N.J. Community-wide outbreak of Group G streptococcal pharyngitis. *Pediatrics* 87, 598-603, 1991.
- [41] Brook I., Gober A. Increased recovery of *Moraxella catarrhalis* and *Haemophilus influenzae* in association with group A β -haemolytic streptococci in healthy children and those with pharyngotonsillitis. *J. Med. Microbiol.* 55, 989-992, 2006.
- [42] McCulloch M.J., Savage N.W. Oral viral infections and the therapeutic use of antiviral agents in dentistry. *Aust. Dent. J.* 50 (Suppl 2), S31-5, 2005.
- [43] Brook I. Microbiology and management of endodontic infections in children. *J. Clin. Pediatr. Dent.* 28, 1-7, 2003.
- [44] Block S.L. Causative pathogens, antibiotic resistance and therapeutic considerations in acute otitis media. *Ped. Infect. Dis.* 16, 449-456, 1997.
- [45] Rafei K., Lichenstein R. Airway infectious disease emergencies. *Pediatr. Clin. North Am.* 53, 215-242, 2006.
- [46] Brook I., Foote P.A., Hausfeld J.N. Frequency of recovery of pathogens causing acute maxillary sinusitis in adults before and after introduction of vaccination of children with the 7-valent pneumococcal vaccine. *J. Med. Microbiol.* 55, 943-946, 2006.
- [47] Arroll B. Antibiotics for upper respiratory tract infections: an overview of Cochrane reviews. *Resp. Med.* 99, 255-261, 2005.
- [48] Brunton S., Pichichero M. Considerations in the use of antibiotics for streptococcal pharyngitis. *J. Fam. Pract.* 59-16, 2006.
- [49] Tewfik T.L., Al Garni M. Tonsillopharyngitis: clinical highlights. *J. Otolaryngol.* 34 Suppl. 1, 45-49, 2005.
- [50] Dajani A.S., Taubert K., Ferrieri P. et al. Treatment of acute streptococcal pharyngitis and prevention of rheumatic fever: a statement for health professionals. *Pediatrics* 96, 748-764, 1995.
- [51] Lonks J.R., Goldman D.A. Telithromycin: a ketolide antibiotic for treatment of respiratory tract infections. *Clin. Infect. Dis.* 40, 1657-1664, 2005.
- [52] Gagliotti C., Nobilio L., Milandri M., Moro M.L., Emilia-Romagna Antibiotic Resistance Study Group. Macrolide prescriptions and erythromycin resistance of *Streptococcus pyogenes*. *Clin. Infect. Dis.* 42, 1153-1156, 2006.
- [53] Drago L., Ripa S., Zampaloni C, et al. Activity of ceftibuten, cefaclor, azithromycin, clarithromycin, ery-

- thromycin and telithromycin against *Streptococcus pyogenes* clinical isolates with different genotypes and phenotypes. *Chemotherapy*. 51, 268-271, 2005.
- [54] Montagnani F., Stolzuoli L., Zanchi A., Cresti S., Cellesi C. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae*: surveillance from 1993 to 2004 in central Italy. *J. Chemother.* 18, 389-393, 2006.
- [55] Grivea I.N., Al-Lahham A., Katopodis G.D., Syrogiannopoulos G.A., Reinert R.R. Resistance to erythromycin and telithromycin in *Streptococcus pyogenes* isolates obtained between 1999 and 2002 from Greek children with tonsillopharyngitis: phenotypic and genotypic analysis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 256-261, 2006.
- [56] Tamayo J., Perez-Trallero E., Gomez-Garces J.L., Alos J.I. Spanish Group for the Study of Infection in the Primary Health Care Setting. Resistance to macrolides, clindamycin and telithromycin in *Streptococcus pyogenes* isolated in Spain during 2004. *J. Antimicrob. Chemother.* 56, 780-782, 2005.
- [57] Malhotra-Kumar S, Lammens C, Chapelle S, et al. Macrolide- and telithromycin-resistant *Streptococcus pyogenes*, Belgium, 1999-2003. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 939-942, 2005.
- [58] D'Ancona F.P., Alfonsi V., Giannitelli S., et al. Sorveglianza dell'antibiotico resistenza in Italia per gli anni 2003-2004-2005. *Not. Ist. Super. Sanità.* 19, iii-iv, 2006.
- [59] De Vecchi E., Nicola L., Zucchetti E., Drago L. In vitro induction of resistance by tissue concentrations of azithromycin, clarithromycin, cefixime and amoxicillin/clavulanate in clinical isolates of *Streptococcus pyogenes*. *J. Chemother.* 18, 379-88, 2006.
- [60] Drago L., De Vecchi E., Nicola L., Legnani D., Prenna M., Ripa S. In vitro selection of resistance to clarithromycin in *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates. *J. Chemother.* 17, 161-168, 2005.
- [61] Leclercq R. Will resistance to ketolides develop in *Streptococcus pneumoniae*? *J. Infect.* 44 Suppl A, 11-6, 2002.
- [62] Carsenti-Dellamonica H, Galimand M, Vandenbos F. In vitro selection of mutants of *Streptococcus pneumoniae* resistant to macrolides and linezolid: relationship with susceptibility to penicillin G or macrolides. *J. Antimicrob. Chemother.* 56, 633-642, 2005.
- [63] Drago L., De Vecchi E., Nicola L., Colombo A., Gismondo M.R. Selection of resistance of telithromycin against *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* and streptococci in comparison with macrolides. *J. Antimicrob. Chemother.* 54, 542-545, 2004.
- [64] Clark C., Bozdogan B., Peric M., Dewasse B., Jacobs M.R., Appelbaum P.C. In vitro selection of resistance in *Haemophilus influenzae* by amoxicillin-clavulanate, cefpodoxime, cefprozil, azithromycin, and clarithromycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 2956-2962, 2002.
- [65] Grange J.M., Davey R.W. Antibacterial properties of propolis (bee glue) *J. Royal Soc. Med.* 83, 159-160, 1990.
- [66] Park Y.K., Koo M.H., Abreu J.A.S., Ikegaki M., Cury J.A., Rosalen P.L. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Curr. Microbiol.* 36, 24-28, 1998.
- [67] Salomao K., Dantas A.P., Borba C.M., Campos L.C., Machado D.G., Aquino Neto F.R. Chemical composition and microbicidal activity of extracts from Brazilian and Bulgarian propolis. *Let. Appl. Microbiol.* 38, 87-92, 2004.
- [68] Bosio K., Avanzino C., D'Avolio A., Ozino O., Savoia D. In vitro activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. *Let. Appl. Microbiol.* 31, 174-177, 2000.
- [69] Pepeljnjak S., Kosalec I. Galangin expresses bactericidal activity against multiple-resistant bacteria: MRSA, *Enterococcus* spp. and *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol. Lett.* 240, 111-116, 2004.
- [70] Drago L., Mombelli B., De Vecchi E., Fascina M.C., Tocalli L., Gismondo M.R. In vitro antimicrobial activity of propolis dry extract. *J. Chemother.* 12, 390-395, 2000.
- [71] Santos F.A., Bastos E.M.A., Uzeda B., Carvalho M.A.R., Farias E.S.A., Braga F.C. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. *J. Ethnopharmacol.* 80, 1-7, 2002.
- [72] Fernandes A. Jr., Balestrin E.C., Betoni J.E.C., Orsi R.O., da Cunha M.L.R.S., Montelli A.C. Propolis: anti-*Staphylococcus aureus* activity and synergism with antimicrobial drugs. *Mem Inst. Oswaldo Cruz.* 100, 563-566, 2005.
- [73] Orsi R.O., Sforcin J.M., Funari S.R.C., Fernandes A. Jr., Bankova V. Synergistic effect of propolis and antibiotics on the *Salmonella typhi*. *Braz. J. Microbiol.* 37, 108-112, 2006.
- [74] Nostro A., Cellini L., Di Bartolomeo S., et al. Effects of combining extracts (from Propolis or *Zingiber officinale*) with clarithromycin on *Helicobacter pylori*. *Phytother. Res.* 20, 187-190, 2006.
- [75] Ito J., Chang F.R., Wang H.K., et al. Anti-AIDS agents. Anti-HIV activity of moronic acid derivatives and the new melliferone-related triterpenoid isolated from Brazilian propolis. *J. Nat. Prod.* 64, 1278-1281, 2001.
- [76] Serkedjieva J., Manolova N., Bankova V. Anti-influenza virus effect of some propolis constituents and their analogues (esters of substituted cinnamic acids). *J. Nat. Prod.* 55, 294-302, 1992.