



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Atividade antimicrobiana do mel e geoprópolis de abelha urucu (*Melipona scutellaris*  
Latreille, 1811)

Valberta Alves Cabral

Prof<sup>a</sup>. Dra. Krystyna Gorlach-Lira

João Pessoa - 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Atividade antimicrobiana do mel e geoprópolis de abelha uruçú (*Melipona scutellaris*  
Latreille, 1811)

Valberta Alves Cabral

Prof<sup>a</sup>. Dra. Krystyna Gorlach-Lira

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas  
(Trabalho Acadêmico de conclusão de Curso), como  
requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em  
Ciências Biológicas.

João Pessoa – 2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Universidade Federal da Paraíba / Biblioteca Setorial do CCEN  
Bibliotecária Josélia Oliveira - CRB15/113

C112a Cabral, Valberta Alves.

Atividade antimicrobiana do mel e geoprópolis de abelha uruçú  
(*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) / Valberta Alves Cabral . – João  
Pessoa, 2014.

44p. : il. –

Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) Universidade Federal da  
Paraíba.

Orientadora: Profª. Drª. Krystyna Gorlach-Lira.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Valberta Alves Cabral**

**Atividade antimicrobiana do mel e geoprópolis de abelha urucu (*Melipona scutellaris*  
Latreille, 1811)**

Trabalho – Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas, como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Data: \_\_\_\_\_

Resultado: \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dra. Krystyna Gorlach-Lira – UFPB**

---

**Dra. Teresa Cristina Soares de Lima Grisi – UFPB**

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria Socorro Vieira Pereira - UFPB**

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dra. Márcia Rosa de Oliveira - UFPB**

*Aos meus pais, pela educação, ensinamentos,  
compreensão e apoio incondicional em todos os  
momentos.*

 **AGRADECIMENTOS** 

Durante toda essa caminhada, conheci muitas pessoas e aprendi algo com cada uma delas. Gostaria de agradecer, pois em alguns (ou vários) momentos todos foram muito importantes em minha vida e de alguma forma para a realização deste trabalho.

Agradeço a Deus, fonte inesgotável de extrema sabedoria, pela minha vida, por sempre me dar força para seguir em frente e por sempre colocar pessoas tão especiais em minha vida.

Aos meu pais, Analucia e Valberto, que me ensinaram a honestidade, o amor e a trilhar o caminho do bem. Muito obrigada pela compreensão, amor, dedicação e por abdicar de tantas coisas para que eu seguisse em frente. Amo muito vocês!

Aos meus irmãos, Bebeto e Umberlândia, pela amizade, incentivo, companheirismo e por todos os momentos felizes. E ainda à minha irmãzinha caçula, muito obrigada pela revisão e dicas do texto. Amo vocês!!

Sou muito grata a minha orientadora, Krystyna, pelo apoio, confiança e por estar disponível sempre que precisei. Agradeço também pela paciência e compreensão inesgotáveis, por dividir seu conhecimento comigo, sobretudo pela orientação imprescindível para a realização deste trabalho. Serei eternamente grata por tudo.

A todos colegas que fazem parte do Laboratório de Biologia de Microrganismos (BIOMICRO): Tcris, Daianne, Gilmara, Yago, Bruno, Roberta, e os Giuseppes (Fernandes e Gianini) pelo convívio e aprendizado.

Ao Laboratório de Bioquímica Genética e Radiobiologia (BIOGER) pelo espaço e equipamento cedidos para realização dos experimentos de microdiluição.

Ao pessoal do Laboratório de Ambientes Recifais e Biotecnologia com Microalgas (LARBIM): Guida, Dora, Neide, Ariane, Aline, Clediana, Evandro, Jordana, Natalie, Patrícia e Renata, pelos momentos de descontração, pelos muitos balões de água destilada e reagentes cedidos. Muito obrigada!!

A Dra. Alba Lucia Carvalho e ao Hospital Universitário Lauro Wanderley por cederem as cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina.

A CAPES pela bolsa concedida durante a realização deste trabalho.

Ao meu amigo Jean Miguel por sempre me socorrer, enviando livros sobre as abelhas e a Jerônimo (grande mestre em abelhas uruçú) por ter me ensinado grande parte do que sei sobre “as meninas” e pelo envio da dissertação. Vocês não têm noção do quanto me ajudaram.

A Priscila e Paulo pela enorme ajuda com os experimentos da CIM. Muito obrigada mesmo!!

A Katyana pela água destilada e amizade. Muito obrigada!

A Moacir Leal e ao Viveiro Municipal de Mudas pela gentileza de ceder algumas amostras.

A todos meus amigos por compreenderem minha ausência e por todo carinho que me dedicam.

A todos meus colegas da turma 2010.1: Aline, Andressa, Clarice, Daniel, Joana, Jucinelcia (Jú), Leonardo, Luana, Ludmila, Patrícia, Paula, Thaís e Yago, muito obrigada pelo companheirismo, pelas revisões antes das provas (que muitas vezes fizeram a diferença!!) e por todas alegrias que compartilhamos. Em especial quero agradecer a Patrícia por arrumar meus horários (que eu nunca conseguia encaixar!!), a Aline por me acompanhar nos experimentos e “quebrar vários galhos” para mim e às duas pelo companheirismo, confidências, gargalhadas, reuniões e pela amizade verdadeira que construímos.

Enfim, muito obrigada a todos que me ajudaram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

*Palavras suaves são como favos de mel, doces para a alma, saúde para o corpo.*

*(Provérbios 16.24)*



## RESUMO

O uso indiscriminado de antibióticos tem causado o surgimento cada vez mais frequente de bactérias resistentes aos antimicrobianos. Muitos fármacos utilizados hoje foram descobertos a partir da utilização de produtos naturais. Desde os tempos mais remotos os produtos das abelhas são utilizados pela humanidade, que atribui a esses produtos propriedades medicinais, como atividade antibacteriana e anti-inflamatória. O objetivo deste trabalho foi analisar a atividade antimicrobiana das amostras de mel e extrato hidroetanólico de geoprópolis (EEGP) da abelha urucu-nordestina (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) contra as cepas padrões de *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* e em cepas de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA). Foram utilizadas nove amostras de mel e seis amostras de geoprópolis coletadas em meliponários da cidade de João Pessoa–PB. A avaliação da atividade antimicrobiana do mel fresco e armazenado de EEGP foi feita através do método de difusão em ágar Mueller-Hinton. A determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) de EEGP para as cepas de *B. cereus*, *S. aureus* e *C. albicans* foi realizada seguindo os métodos de referência para testes de microdiluição em caldo para bactérias e levedura, M27-A6 e M27-A2 do NCCLS, respectivamente. Os resultados da avaliação antimicrobiana do mel mostraram que *S. aureus* foi a cepa mais sensível com halos de inibição de 21 a 39 mm em todas amostras de mel testadas, enquanto que *C. albicans* não apresentou sensibilidade. Os EEGP inibiram o crescimento de todas as cepas testadas, com exceção de *E. coli*, nos testes de difusão em meio ágar Mueller-Hinton. Os valores de CIM 90 dos EEGP para *B. cereus* e *S. aureus* variaram de 1:10 a 1:640 (diluições do extrato bruto a 30%) em diferentes amostras, enquanto que para *C. albicans* variaram entre o extrato bruto e a diluição de 1:8. Todas as amostras de mel fresco e EEGP da abelha urucu apresentaram atividade contra as cepas MRSA. Os dados obtidos neste trabalho demonstram que o mel e geoprópolis têm potencial para uso terapêutico no controle e combate de infecções microbianas.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana, mel, geoprópolis, abelha urucu, *Melipona scutellaris*.

**Antimicrobial activity of honey and geopropolis of uruçu bee (*Melipona scutellaris*  
Latreille, 1811)**

**ABSTRACT**

The indiscriminate use of antibiotics has caused increasingly frequent emergence of bacteria resistant to antimicrobials. Many drugs used currently were discovered from the use of natural products. Since earliest times the bee products are used by humans, it attaches to these products medicinal properties, such as antibacterial and anti-inflammatory. The aim of this study was to analyze the antimicrobial activity of honey samples and hydroethanolic extracts of geopropolis (EEGP) of northeastern uruçu bee (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) against the standard strains of *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* and strains of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA). The nine honey samples and six samples of geopropolis collected at João Pessoa city, Paraíba state, were used. Evaluation of the antimicrobial activity of fresh and stored honey and EEGP was performed using the diffusion method on Mueller-Hinton agar. Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of EEGP to the strains of *B. cereus*, *S. aureus* and *C. albicans* was performed according to standard methods for broth microdilution tests for bacteria and yeast, and M27-A6 M27- A2 NCCLS, respectively. The results of the antimicrobial evaluation of honey samples showed that *S. aureus* was the most sensitive strain with inhibition zones of 21-39 mm, whereas *C. albicans* showed no sensitivity. The diffusion tests on Mueller-Hinton agar showed that EEGP inhibited the growth of all strains tested, except for *E. coli*. The MIC 90 values of EEGP for *B. cereus* and *S. aureus* ranged from 1:10 to 1:640 (dilutions of the crude extract, 30%) in different samples, whereas for *C. albicans* ranged from the crude extract and the dilution of 1:8. All fresh honey samples and EEGP of uruçu bee showed activity against MRSA strains. The data obtained in this study showed that honey and geopropolis have potential for therapeutic use in controlling and combating microbial infections.

**Keywords:** Antimicrobial Activity, honey, geopropolis, uruçu bee, *Melipona scutellaris*.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Colmeia da abelha urucu-nordestina (*Melipona scutellaris*)-----18
- Figura 2 - Processo de preparação do extrato hidroetanólico de geoprópolis (EEGP). A- Geoprópolis bruto. B- Geoprópolis macerado. C- EEGP -----26
- Figura 3 – Distribuição das amostras na microplaca de 96 poços utilizada nos testes de microdiluição de extrato hidroetanólico de geoprópolis da abelha urucu.-----28
- Figura 4 – Halos de inibição das culturas de *E. coli* (A) e *S. aureus* (B) em meio ágar Mueller-Hinton, pela ação bacteriostática das amostras do mel urucu fresco e armazenado.-----30
- Figura 5 – Atividade antimicrobiana do mel de *M. scutellaris* em *S. aureus* resistente à metilina (MRSA) -----31
- Figura 6 - Atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico de geoprópolis (GP<sub>1</sub> e GP<sub>2</sub>) e própolis verde (P<sub>1</sub> - controle) frente às cepas MRSA1 (A) e MRSA2 (B)-----35

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Atividade antimicrobiana *in vitro* do mel fresco de *M. scutellaris* frente às cepas padrões testadas ----- 29
- Tabela 2 - Atividade antimicrobiana *in vitro* do mel fresco de *M. scutellaris* frente às linhagens de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) -----31
- Tabela 3 - Atividade antimicrobiana do mel de *Melipona scutellaris* com diferentes tempos de armazenamento. -----32
- Tabela 4 - Atividade antimicrobiana dos extratos hidroetanólico de geoprópolis e própolis verde (controle) sobre cepas de microrganismos patogênicos.-----34
- Tabela 5 – Os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM 50 e CIM 90) de extratos de geoprópolis frente às linhagens de *B. cereus*, *C. albicans* e *S. aureus*.-----36

## LISTA DE ABREVIATURAS

BHI – Brain Heart Infusion

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CLO – Cloranfenicol 30 $\mu$ g

DP – Desvio Padrão

EEGP – Extrato hidroetanólico de geoprópolis

EST – Estreptomicina 10 $\mu$ g

GP – Geoprópolis

LPS – Lipopolissacarídeo

mL - mililitro

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à metilina

NAL- Ácido nalidíxico 30 $\mu$ g

PV – Própolis verde

RPM – Rotação por minuto

UFC – Unidades formadoras de colônia

VAN – Vancomicina 30 $\mu$ g

$\mu$ L - microlitros

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b>  | 13 |
| <b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>   | 15 |
| 2.1 As abelhas e sua importância   | 15 |
| 2.2 A abelha urucu   | 17 |
| 2.3 O Mel: Histórico e Importância   | 18 |
| 2.4 Própolis e geoprópolis: Composição e Propriedades medicinais                     | 21 |
| <b>3 OBJETIVOS</b>   | 24 |
| 3.1 Objetivo Geral   | 24 |
| 3.2 Objetivos Específicos  | 24 |
| <b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b>   | 25 |
| 4.1 Amostras de mel e geoprópolis  | 25 |
| 4.2 As cepas de microrganismos   | 26 |
| 4.3 Análise da atividade antimicrobiana de amostras de mel e geoprópolis             | 26 |
| 4.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das amostras de geoprópolis | 27 |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>  | 29 |
| 5.1 Atividade antimicrobiana de amostras de mel de abelha urucu                      | 29 |
| 5.2 Atividade antimicrobiana de amostras de geoprópolis de abelha urucu              | 34 |
| 5.2.1 Análise de difusão em meio sólido  | 34 |
| 5.2.2 Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) do geoprópolis            | 36 |
| <b>6 CONCLUSÃO</b>   | 38 |
| <b>7 REFERÊNCIAS</b>   | 39 |
| <b>APÊNDICE A – Atividade antimicrobiana de antibióticos comerciais</b>              | 44 |

## 1 INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado de antibióticos pela população tem tornado mais frequente o surgimento de bactérias resistentes a diversos antimicrobianos. Com isso torna-se necessário a busca por alternativas viáveis para serem utilizadas no combate de infecções microbianas.

Atualmente, muitas pesquisas estão voltadas para os produtos naturais que possam fornecer algum princípio ativo com propriedades terapêuticas e que possam atuar, principalmente, como antimicrobianos. Muitos fármacos utilizados na atualidade foram descobertos a partir da utilização de produtos naturais. Segundo Newman, Cragg e Snader (2003), 48% dos medicamentos descobertos entre 1981 e 2002 foram baseados ou derivados destes produtos. Estes dados mostram a importância dos produtos naturais como fonte de pesquisa para produção de novos medicamentos.

Produtos naturais oriundos de abelhas, como: mel, cera, geleia real, própolis e geoprópolis, têm sido usados, desde a antiguidade, pela população que com seu conhecimento empírico atribui a estes produtos propriedades medicinais, como fortificante, analgésico, expectorante e antibiótico, entre outros.

Cada vez mais pesquisas têm comprovado cientificamente as diversas propriedades medicinais que são popularmente atribuídas ao mel, tais como, antibiótica, antifúngica, cicatrizante e antioxidante.

A abelha urucu-nordestina (*Melipona scutellaris*) é uma abelha-sem-ferrão nativa da mata atlântica e é amplamente conhecida pela produção de produtos que são vastamente utilizados na medicina popular. O mel de urucu é bastante empregado como medicamento principalmente na região Nordeste do Brasil. Além do mel, esta abelha produz uma substância que utiliza para vedar as frestas da colmeia, feita a partir da combinação do barro com a própolis, denominada geoprópolis. Alguns autores têm sugerido que este produto tenha a função de manter a colmeia livre de microrganismos, como fungos e bactérias.

Muitas das pesquisas atuais estão buscando a comprovação da eficácia dos efeitos medicinais atribuídos aos produtos das abelhas-sem-ferrão. No entanto, esse volume de estudos ainda é relativamente baixo em relação às pesquisas sobre mel e própolis da abelha *Apis mellifera*.

Desta forma, a importância do presente trabalho se baseia na busca por alternativas viáveis para ser utilizada no enfrentamento da problemática da resistência microbiana. Almejamos fornecer os dados que possam auxiliar a ampliação do uso do mel e do

geoprópolis da abelha uruçu e o reconhecimento da eficácia dos seus usos medicinais contra importantes patógenos humanos, tais como *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.



## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 As abelhas e sua importância

Os insetos são os mais diversos e abundantes animais existentes. Estima-se que existam 200 milhões de insetos para cada humano vivo. Parte deste sucesso deve-se a coevolução com as plantas, principalmente angiospermas. Em todo o mundo, das culturas utilizadas em alimentação, medicina e fibras, cerca de 80% dependem da ação de animais polinizadores. Estes são basicamente insetos, os quais exercem papel fundamental também na polinização de plantas nativas selvagens (BRUSCA; BRUSCA, 2007, p.614). Gallai et al. (2009 apud GIANNINI et al., 2012, tradução nossa) estimaram em 9,5% o valor econômico da polinização na produção agrícola global.

As abelhas podem ser reunidas na superfamília Apoidea, a qual é constituída por várias famílias. As abelhas com características mais sociais estão reunidas na família Apidae, a qual é subdividida em quatro subfamílias: Apíneos, Meliponíneos, Bombíneos e Euglossíneos. A família Apidae possui ainda a característica de que, nos ninhos de suas espécies, as células de cria ou células ou depósitos de alimento são construídas pelas abelhas com cera ou cerume (mistura de ceras puras e brancas), produzidas pelas abelhas, com própolis, oriundos de eventuais ferimentos de vegetais (NOGUEIRA-NETO, 1997).

De acordo com Brusca e Brusca (2007), a apicultura, o manejo das abelhas-de-mel (*Apis spp.*), teve início por volta do ano 600 a. C., no Vale do Nilo. Os primeiros apicultores transportavam as colmeias em torno do Vale do Nilo para prestar serviços de polinização para fazendeiros de áreas alagadiças, enquanto, concomitantemente, produziam mel.

As abelhas-de-mel (*Apis mellifera*), oriundas da Europa, foram introduzidas na América do Norte por volta de 1600 d.C. e a partir daí espalharam-se por todo continente americano, quando passaram a competir com as abelhas nativas. Segundo Nogueira-Neto (1997, p. 34), “a *Apis mellifera* foi introduzida no Brasil em 1839, pelo Padre Antonio Carneiro, em colônias vindas de Porto, Portugal”. Atualmente, são os polinizadores dominantes na maioria das culturas de alimentos produzidas em todo mundo, sendo praticamente impossível encontrar uma área livre de abelhas-de-mel. A competição direta com as abelhas nativas está causando a diminuição do número de polinizadores nativos (BRUSCA; BRUSCA, 2007, p.615).

O Padre José de Anchieta foi o primeiro a relatar a diversidade de abelhas do Brasil:

Encontram-se quase vinte espécies diversas de abelhas, das quais umas fabricam o mel nos troncos das árvores, outras em cortiços construídos entre os ramos, outras debaixo da terra, donde sucede que haja grande abundância de cera. Usamos do mel para curar feridas, que saram facilmente pela proteção divina (1900, p.38).

No Brasil, além da espécie *Apis mellifera*, abelhas que foram introduzidas pelos europeus e são atualmente as maiores produtoras de mel do país, existem as abelhas da tribo Meliponini, conhecidas como abelhas-indígenas-sem-ferrão (GONÇALVES; ALVES FILHO; MENEZES, 2005). As abelhas nativas mais conhecidas são do gênero *Melipona*, na literatura existem registros referindo-se a este grupo como a tribo Meliponini, chamadas também de abelhas-indígenas-sem-ferrão. Esta tribo tem como característica não construírem células reais, ou seja, todos integrantes da colmeia nascem de células de cria de tamanho igual. Além disso, a entrada do ninho é sempre revestida de uma mistura de argila e própolis, chamada de geoprópolis (NOGUEIRA-NETO, 1997).

De acordo com Camargo e Pedro (2007 apud VILLAS-BÔAS, 2010, p. 12), a diversidade de Meliponini na região neotropical envolve 33 gêneros, compreendendo um extinto (*Proplebeia*) e 391 espécies. Porém, existe um grande número de espécies ainda não descritas formalmente.

O mel das abelhas-indígenas-sem-ferrão é utilizado em terapias populares e em aldeias indígenas. Estes povos acreditam que diferentes tipos de mel possuem propriedades curativas distintas, sendo assim empregados para tratamento de um amplo espectro de doenças (GONÇALVES; ALVES FILHO; MENEZES, 2005). De acordo com Cortopassi-Laurino et al. (2006, tradução nossa), em todos países da América Latina o mel das abelhas-sem-ferrão é mais utilizado como remédio do que como adoçante, atingindo preços altos no mercado.

A criação de abelhas tem mostrado bons resultados econômicos, sociais e ecológicos. Existem duas linhas de conhecimento sobre criação: a apicultura, a qual possui estudos do mel em várias regiões do Brasil; e a meliponicultura, que possuem estudos mais recentes desenvolvidos com abelhas regionais (EVANGELISTA-RODRIGUES et al, 2005).

Assim como em todo o Nordeste, o desenvolvimento da meliponicultura no estado da Paraíba tem potencial para gerar uma fonte de renda aos pequenos agricultores cuja demanda de esforços não concorre com as atuais atividades de subsistência, com a vantagem de interagir e se aproveitar do conhecimento acumulado com as práticas artesanais (VILLAS-BÔAS, 2010, p.21).

Villas-Bôas (2010) ainda relata que as abelhas possuem ampla importância econômica, pois além dos produtos que fornecem, como mel, própolis, pólen, cera, geleia real, entre outros, elas são responsáveis diretas ou indiretas por cerca de um terço da alimentação humana.

## 2.2 A abelha Uruçu

A espécie *Melipona scutellaris* é popularmente conhecida como abelha uruçu, uruçu-nordestina ou uruçu-verdadeira. O nome uruçu vem do tupi “eiru’su” e quer dizer abelha grande. A uruçu é endêmica da região nordeste do Brasil. As abelhas desta espécie se destacam das demais no litoral nordestino justamente por causa de seu porte avantajado (igual ou maior que a *Apis mellifera*), pela grande produção de mel e pela facilidade de manejo, atividade desenvolvida pelos nativos antes mesmo da chegada dos colonizadores (WEBBEE, 2014).

Silveira, Melo e Almeida (2002, p. 85) descrevem as abelhas do gênero *Melipona* como sendo “abelhas robustas, de tamanho médio a grande, corpo com pelo menos 7 mm de comprimento”. As abelhas machos da espécie *M. scutellaris* são muito semelhantes às operárias, o que torna difícil sua distinção, fato que não ocorre na espécie *A. mellifera* (KERR; JUNGnickel; MORGAN, 2004, tradução nossa) .

A abelha uruçu é uma das três abelhas mais conhecidas e criadas no Brasil e essa importância é justificada pelo uso medicinal do seu mel (KERR, 1998). Seu mel é bastante utilizado como remédio nesta região, aonde chega a ter preços altos no mercado. “O mel dessa abelha é empregado principalmente para o tratamento de doenças de origem brônquio-respiratória, a exemplo de asma, gripe, tosse e dor de garganta; e doenças gastrointestinais, como amebíase e gastrite.” (VILLAS-BÔAS, 2010, p.20).

De acordo com Roldão (2011), as colônias de *M. scutellaris* (Figura 1) são compostas por cerca de 300 a 600 indivíduos.

**Figura 2 - Colmeia da abelha urucu-nordestina (*Melipona scutellaris*)**



Fonte: Valberta A. Cabral

A abelha *M. scutellaris* é avaliada como a espécie criada de meliponíneo com maior distribuição no norte e nordeste do Brasil, com registros desde o Rio Grande do Norte até a Bahia (ALVES et al., 2012, tradução nossa). No estado da Paraíba, a abelha urucu-nordestina, está amplamente distribuída na zona da mata, especialmente no Litoral e Brejo, mostrando grande potencial reprodutivo e produtivo (AQUINO, 2006 apud VILLAS-BÔAS, 2010).

Como afirma Villas-Bôas (2010), o aumento da fragmentação do meio onde existe a ocorrência da espécie é uma grande ameaça à sua existência e a meliponicultura se sobressai como uma importante tática de conservação. Giannini et al. (2012, tradução nossa) prevê a redução de área de habitats ocupado por *M. scutellaris* de 8 a 10% até 2050 e 20 a 33% até 2080, estas áreas são predominantemente Mata Atlântica.

### **2.3 O Mel: Histórico e Importância**

A Instrução Normativa N° 11 de 20 de Outubro de 2000 (BRASIL, 2000) define:

Entende-se por mel, o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam

sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia.

Há mais de 2000 anos o mel tem sido utilizado pelo homem nas mais diversas maneiras de aplicação e com os mais diferentes objetivos próprias à sua utilização (RANSOME, 2004, tradução nossa). O mel é utilizado pelo homem desde os tempos mais remotos, com registros de sua utilização pelas civilizações mais antigas. Os gregos e egípcios já o utilizavam em tratamentos de feridas e problemas gastrointestinais e o consideravam um produto medicinal (SATO; MIYATA, 2000, tradução nossa).

O mel é um produto natural oriundo do néctar das flores e de outras partes extraflorais, sendo vastamente consumido por ser uma importante fonte de energia e por seu sabor delicioso (ALVES et al., 2009). Segundo Nogueira-Neto (1997, p. 249), o mel serviu, durante muito tempo, como a “única fonte concentrada de substâncias açucaradas, mais precisamente de açúcares em solução”.

O mel de abelhas é um suplemento alimentar que ultimamente vem recebendo um incremento no consumo comercial decorrente, principalmente da comprovação científica de suas diversas propriedades benéficas à saúde (ALLEN et al., 1991 apud GONÇALVES; ALVES FILHO; MENEZES, 2005).

Mel é uma solução concentrada de açúcares com predomínio de glicose e frutose. O mel pode ser líquido, parcialmente cristalizado ou cristalizado, sua cor varia entre quase incolor a pardo-escuro e seu sabor e aroma variam de acordo com a origem da planta (BRASIL, 2000).

O mel de *A. mellifera* é composto por 80% de carboidratos (35% glicose, 40% frutose e 5% sacarose) e 20% de água servindo como excelente fonte de energia. Além disso, contém mais de 180 substâncias, incluindo aminoácidos, vitaminas, sais minerais e enzimas. O principal efeito medicinal do mel é a atividade antimicrobiana e o mecanismo desta função relaciona-se com a sua elevada osmolaridade, acidez, e o conteúdo, de inibidores, tais como peróxido de hidrogênio, os flavonoides e ácidos fenólicos. No entanto, a capacidade antimicrobiana do mel difere dependendo de sua origem floral (SATO & MIYATA, 2000, tradução nossa).

O aroma e sabor do mel estão fundamentalmente relacionados à cor. Quanto mais escuro é o mel, mais rico ele é em sais minerais, por conseguinte terá o sabor e o aroma mais forte. Seguindo esta mesma lógica, quanto mais claro for o mel, menos sais minerais ele

apresentará e seus sabores e aroma serão mais suaves (SILVA, 2005 apud ESCOBAR; XAVIER, 2013).

Segundo Nogueira-Neto (1997), a composição do mel das abelhas nativas é pouco conhecida e por isso é associada ao mel de *A. mellifera*. Como os hábitos das Melíponas diferem-se das abelhas africanas, torna-se necessário a realização de mais estudos sobre a composição desse produto para que a eficácia do mel seja de fato avaliada.

O mel das abelhas nativas possui como principal característica a elevada taxa de umidade (quantidade de água), a qual pode variar entre 25 a 35% da sua composição (VILLAS-BÔAS, 2012). Quando comparado com a taxa de umidade do mel da abelha africanizada, aproximadamente 18%, apresenta maior dificuldade de armazenamento, pois a alta quantidade de água diminui a vida útil na prateleira (EVANGELISTA-RODRIGUES et al., 2005).

Mel é uma excelente fonte de energia, estudos feitos com *Melipona compressis* mostraram uma concentração média de energia de  $285,3 \pm 18,7$  kcal em 100g das amostras analisadas e em *Melipona rufiventris* com  $305,3 \pm 2,4$  kcal em 100g. O potencial energético é passível de oscilações sendo a principal variável a mudança sazonal, de acordo com a estação do ano muda-se a composição florística das quais as abelhas coletam o pólen, além disso, elas armazenam mais ou menos pólen de acordo com o tempo (SOUZA et al., 2004).

Segundo Wiese (1986) apud Souza et al. (2004), além de ser adoçante e energético naturais, o mel possui efeitos imunológicos, antibacteriano, anti-inflamatório, expectorante, analgésico e sedativo, além de ser hiposensibilizador.

De acordo com Silva et al.:

A reação enzimática glicose-oxidase e algumas de suas propriedades físicas são consideradas os principais fatores. Outros fatores que podem contribuir para a propriedade antimicrobiana do mel são: elevada pressão osmótica / baixa atividade de água, baixo pH / meio ácido, baixo conteúdo proteico, baixo potencial redox devido ao alto teor de açúcares redutores, a viscosidade que limita a solubilidade do oxigênio e outros agentes químicos e fitoquímicos (2006, p.116).

Segundo Alves et al. (2008) o uso tópico do mel de *Melipona subnutida* quando aplicado em lesões infectadas de ratos mostrou aumento significativo da presença de leucócitos, notadamente macrófagos, fibroblastos e colágeno nos tecidos examinados. Portanto, a aplicação do mel melhorou a cicatrização, bem como, tratou a infecção nas feridas, o que pode ter ocorrido devido a um incremento na defesa imunológica orgânica e tecidual, além de sua atividade antimicrobiana (Alves et al., 2008).

Gonçalves, Alves Filho e Menezes (2005) constataram a atividade antimicrobiana do mel de *Nannotrigona testaceicornis* em cinco cepas de bactérias provenientes de infecções hospitalares. Ewnetu, Lemma e Birhane (2013) comprovaram a ação antimicrobiana dos méis da Etiópia sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e *Klebsiella pneumoniae*.

## 2.4 Própolis e geoprópolis: Composição e Propriedades medicinais

Além do mel, outros produtos das abelhas, como a própolis, apresentam as propriedades medicinais e terapêuticas comprovadas em várias pesquisas. A própolis é um produto da colmeia feito à base de resinas vegetais. A composição da própolis é complexa e está relacionada com a diversidade florística local, estando sujeita também a alterações sazonais. Como consequência da variação na composição química diferenciada da própolis, ocorrem também mudanças em suas atividades farmacológicas, as quais se mostram maiores em regiões tropicais do que em regiões temperadas do planeta (MENEZES, 2005).

A própolis é um material constituído basicamente por resinas vegetais que as abelhas coletam de plantas lenhosas feridas e trazem para a colmeia (NOGUEIRA-NETO, 1997). As abelhas o utilizam para proteção da colmeia (do grego, *pro*: a favor; *polis*: cidade). A aparência física da própolis depende de vários fatores e pode apresentar-se nas cores creme, amarelo, verde, fluorescente ou marrom escuro. Já a textura pode ser frágil, dura, elástica ou pegajosa (SALATINO et al., 2005, tradução nossa).

Menezes (2005, p.406) lista alguns os principais compostos químicos da própolis que podem ser classificados em alguns grupos principais como: “ácidos e ésteres alifáticos, ácidos e ésteres aromáticos, açúcares, álcoois, aldeídos, ácidos graxo, aminoácidos, esteroides, cetonas, charconas e di-hidrocharconas, flavonoides, terpenoides, proteínas, vitaminas B1, B2, B6, C, E, bem como diversos minerais”.

Ainda segundo Menezes (2005, p.406), dentre os compostos químicos da própolis o grupo que mais vem se destacando é o dos flavonoides: “A presença e a concentração destes compostos é utilizada como índice de qualificação de amostras de própolis”. A ingestão de flavonoides interfere na fisiologia do organismo, como por exemplo, auxiliando na absorção de vitaminas, além de apresentarem atividade antimicrobiana.

Para Bianchini e Bedendo (1998), as investigações sobre as propriedades antibióticas da própolis têm sido conduzidas, sobretudo na área médica e veterinária, onde o produto tem

demonstrado uma eficiente atividade bacteriostática e bactericida em relação a diversos gêneros de bactérias.

Atualmente vários estudos vêm confirmando o grande potencial terapêutico da própolis, principalmente os relacionados às ações anti-inflamatória, antimicrobiana, antineoplásica e antioxidante (MENEZES, 2005). Além da potencial atividade contra tumores, infecções, alergias, diabetes, úlceras e com ação imunomoduladoras (SFORCIN; BANKOVA, 2011, tradução nossa).

A composição química da própolis sofre alterações sazonais, com isso compostos biologicamente ativos podem sofrer uma diminuição quantitativa, entretanto esta redução é acompanhada do aumento de outros compostos biologicamente ativos, desta maneira as propriedades biológicas próprias da própolis, como antibacteriana e antifúngica, permanecem as mesmas independente da estação ( BANKOVA et al., 1998, tradução nossa)

Segundo Sforcin e Bankova (2011, tradução nossa), a maioria dos estudos é realizada com própolis produzida pelas abelhas africanizadas. Velikova et al. (2000, tradução nossa) analisaram 21 amostras de própolis produzidas por 12 espécies de abelhas da subfamília Meliponinae e identificaram a presença de compostos como di e triterpenos e ácido gálico, além de encontrar divergências na composição química entre as própolis da *A. mellifera* e das abelhas sem ferrão. Este estudo também evidenciou a atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, além de citotoxicidade.

Geoprópolis é uma mistura de material resinoso, coletado das plantas, com cera e argila. É armazenado em grandes quantidades dentro das colmeias e tem a função semelhante à própolis da *A. mellifera* (LIBERIO et al., 2011, tradução nossa)

Alguns estudos têm mostrado a atividade antimicrobiana, antiploriferativa, anti-inflamatória, citotóxica e antioxidante do geoprópolis (BURIOL et al., 2009; CUNHA et al. 2013; FRANCHIN, 2012; LIBERIO et al., 2011; SOUZA et al., 2013)

Liberio et al. (2011, tradução nossa) verificaram, em estudo realizado com geoprópolis de *Melipona compressipes fasciculata*, a atividade antimicrobiana sobre *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*, sendo que neste último ele inibe a formação de biofilme. Além disso, a aplicação de gel à base de geoprópolis em ratos causou a aumento das citocinas, exibindo efeitos anti-inflamatórios.

Poucas pesquisas têm sido direcionadas ao estudo do geoprópolis de *Melipona scutellaris* em relação às suas propriedades biológicas e químicas. Cunha et al. (2013, tradução nossa) sugerem que o geoprópolis apresenta como composto principal benzofenonas poliprenilados, em vez de flavonoides como em outros tipos de própolis. Além disso, possui



potencial anti-inflamatório, antimicrobiano e antinociceptiva. Souza et al. (2013) destacam os fenilpropanoides e flavonoides como principais grupos presentes no extrato de geoprópolis de *Melipona subnitida*, além de demonstrar a atividade antioxidante do extrato.

De acordo com Franchin et al. (2012, tradução nossa), o extrato etanólico de geoprópolis (EEGP) e sua fração aquosa apresentaram atividade no mecanismo da hipernocicepção inflamatória induzida pelo modelo de carragena, onde o efeito foi mediado pela inibição de IL-1 $\beta$  e TNF-  $\alpha$ . A composição química de EEGP e sua fração aquosa mostraram uma significativa presença de compostos fenólicos e ausência de flavonoides.

Já Cunha et al. (2013, tradução nossa) comprovou em seu estudo que EEGP inibiram significativamente o crescimento de cepas de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* e em baixas concentrações e sua fração hexano (HF) apresentou a maior atividade antibacteriana. Além disso, tanto EEGP quanto HF inibiram a aderência do biofilme de *S. mutans* e mostraram seletividade contra as linhagens de células cancerosas humanas, embora que a HF só demonstrou essa seletividade a baixas concentrações. As análises químicas feitas por esse autor sugerem a ausência de flavonoides e presença de benzofenomas com principais compostos do geoprópolis de *Melipona scutellaris*.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade antimicrobiana de amostras do mel e extrato hidroetanólico de geoprópolis da abelha urucu (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) coletadas em meliponários localizados em João Pessoa, Paraíba.

#### 3.2- Objetivos Específicos

- Avaliar a atividade antimicrobiana do mel e extrato hidroetanólico de geoprópolis da abelha urucu sobre as cepas de microrganismos patogênicos: *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* metilina resistentes e *Candida albicans*;
- Avaliar o efeito do tempo de armazenamento do mel de *M. scutellaris* sobre a atividade antimicrobiana das amostras;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima de extratos hidroetanólicos de geoprópolis sobre as cepas de *B. cereus*, *S. aureus* e *C. albicans*.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Amostras de mel e geoprópolis

A realização dos testes antibiogramas para analisar a atividade antimicrobiana do mel e geoprópolis foi feita através difusão em placas com meio sólido.

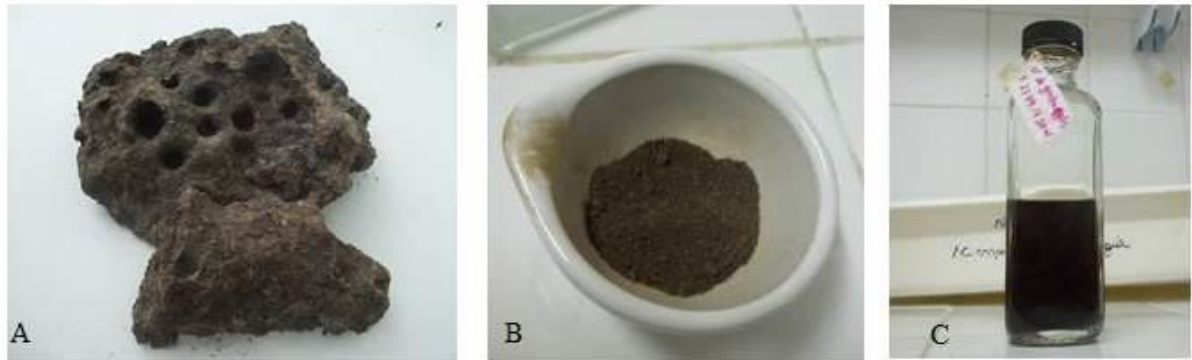
As amostras de mel foram obtidas de dois meliponários localizados em João Pessoa - PB, sendo um o meliponário Massapê, localizado no bairro Bancários e o outro o meliponário Coqueirinho, localizado no bairro de Jacarapé.

As amostras de mel foram coletadas diretamente das caixas de abelha urucu, utilizando uma seringa estéril descartável e armazenadas em frascos previamente esterilizados por autoclavagem a 121°C, 15 min. Em seguida as amostras foram levadas ao laboratório de microrganismos (BIOMICRO) do Departamento de Biologia Molecular da Universidade Federal da Paraíba onde se realizaram as análises. As amostras foram armazenadas em temperatura ambiente no escuro.

No presente trabalho foram utilizadas nove amostras de mel de *M. scutellaris*, sendo que atividade antimicrobiana das quatro amostras foi analisada antes (mel fresco) e após o armazenamento em temperatura ambiente por até três anos. As amostras brutas de geoprópolis foram obtidas de dois meliponários sediados em João Pessoa: Meliponário Coqueirinho (três amostras) em Jacarapé e Meliponário do Viveiro Municipal de Mudas (três amostras), localizado no bairro Valentina Figueiredo. Cada amostra de geoprópolis foi proveniente de diferente caixa de abelha urucu, retirada com o auxílio de espátula e martelo e acondicionada em sacos plásticos e transportado ao BIOMICRO/DBM. As amostras GP1 e GP2 datam de maio de 2012, já as amostras GP3, GP4, GP5 e GP6 foram coletadas em fevereiro e março de 2014.

As amostras foram maceradas manualmente num cadinho de porcelana e em seguida os extratos foram preparados utilizando álcool etílico 70% com uma proporção de 30% do geoprópolis (Figura 2). Os extratos mantidos em frascos escuros em temperatura ambiente foram agitados diariamente durante 30 dias. Após isso os extratos foram filtrados com filtros de papel nº103.

**Figura 2- Processo de preparação do extrato hidroetanólico de geoprópolis (EEGP). A- Geoprópolis bruto. B- Geoprópolis macerado. C- EEGP.**



Fonte: Valberta A. Cabral

#### **4.2 As cepas de microrganismos**

Neste trabalho foram utilizadas as cepas padrões bacterianas *Bacillus cereus* (CCT0198), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e uma de levedura *Candida albicans* (ATCC 10231), além de cinco cepas de *Staphylococcus aureus* metilicina resistentes (MRSA), obtidas da coleção do Hospital Universitário Lauro Wanderley da UFPB. As cepas de MRSA foram identificadas com os seguintes códigos: MRSA1, MRSA2, MRSA3, MRSA4 e MRSA5.

#### **4.3 Análise da atividade antimicrobiana (AA) de amostras de mel e extrato hidroetanólico de geoprópolis (EEGP)**

A avaliação da atividade antimicrobiana (AA) do mel e do extrato hidroetanólico de geoprópolis (EEGP) foi feita através do método de difusão em placas com meio ágar Müller-Hinton.

As cepas microbianas testados foram semeadas nos tubos contendo Caldo Infusão de Cérebro e Coração (Brain-Heart Infusion - BHI) e incubadas em uma estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas.

Em uma placa de Petri contendo o meio Agar Mueller-Hinton, ao qual foi adicionado na superfície do meio 1 ml da cultura bacteriana e espalhada com alça de Drigalski. As placas foram deixadas em repouso por cerca de 30 minutos e então foram feitos três poços com 5 mm de diâmetro utilizando os tubos de vidro ocos. Foi depositada dentro dos poços uma alíquota de 30 µl de cada amostra de mel ou extrato de geoprópolis. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após o período de incubação foi realizada a medição do

diâmetro dos halos de inibição de crescimento formados. Todas as análises foram feitas em duplicata. Como controle foi utilizado álcool 70% e própolis verde 30% (comercial - Apis flora).

Para a análise também foram utilizados quatro antibióticos comerciais para comparação dos resultados da avaliação da atividade antimicrobiana do mel e geoprópolis de *M. scutellaris*, sendo eles: Ácido Nalidíxico 30µg (NAL), Cloranfenicol 30µg (CLO), Estreptomicina 10µg (EST) e Vancomicina 30µg (VAN). Os antibiogramas para os antibióticos foram realizados seguindo os padrões, com discos próprios para antibiograma fabricados pelo laboratório Laborclin e realizado em placa de Petri contendo o meio de cultura Müeller-Hilton.

#### **4.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das amostras de EEGP**

O teste de susceptibilidade antimicrobiana foi adaptado a partir dos métodos de referência para testes de microdiluição em caldo para levedura (M27-A2) e para bactérias (M27-A6) (NCCLS, 2002; 2003). Este trabalho avaliou a susceptibilidade de duas cepas de bacterianas padrões (*B. cereus* e *S. aureus*) e uma cepa padrão de levedura (*C. albicans*), que se mostraram sensíveis ao EEGP nos testes de difusão em meio Müeller-Hinton.

Os testes de susceptibilidade antimicrobiana foram realizados em microplacas estéreis com 96 poços de fundo redondo utilizando quatro extratos de geoprópolis filtrados.

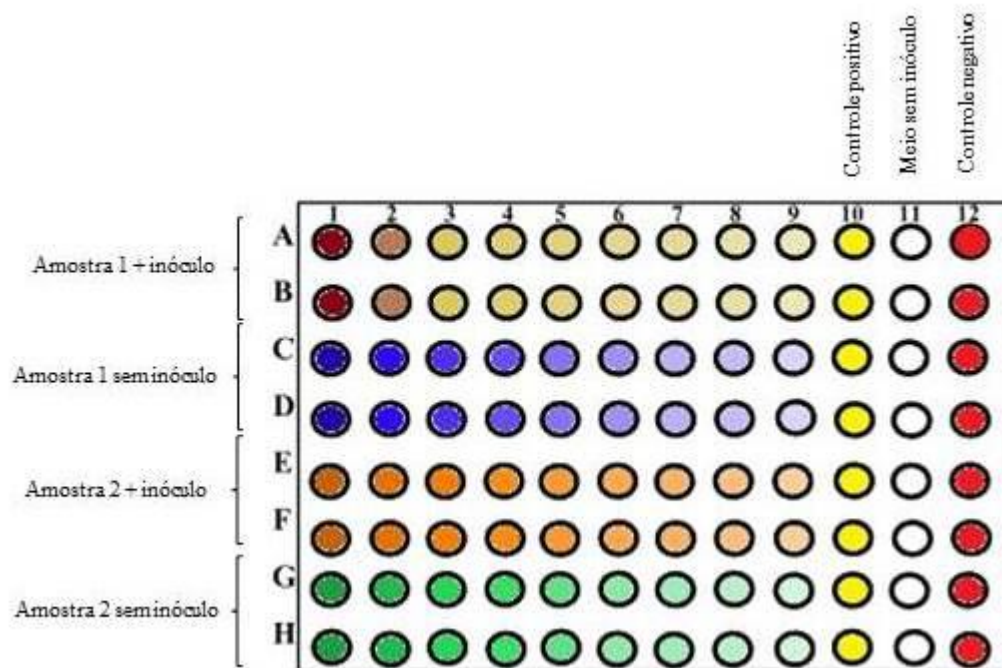
Primeiramente, as cepas foram inoculadas em caldo BHI e incubadas em estufa bacteriológica, por 24 horas a 37°C. Alíquotas de 1,5 mL das culturas foram centrifugadas a 14000 rpm, 5 minutos a 25°C e os sobrenadantes descartados. As células foram suspensas em água destilada e ajustada para a escala McFarland, nível 1 ( $3 \times 10^8$  UFC/mL) para bactérias e nível 4 ( $12 \times 10^8$  UFC/mL) para *C. albicans*, devido à menor taxa de crescimento da levedura.

A montagem da placa de 96 poços para microdiluição (Fig. 3) foi realizada adicionando 100 µL de meio de cultura BHI em todos os poços, exceto a linha 9, em seguida foram adicionados 100 µL do EEGP nos poços da linha 1, misturado por pipetagem e dessa mistura foram retirados 100 µl e adicionados aos poços correspondentes na linha 2, e assim sucessivamente, alíquotas de 100 µl foram distribuídas sequencialmente nas microplacas, das linha 1 a linha 9.

A concentração dos extratos utilizada na linha 1 foi de 30% para experimento com a cepa *C. albicans* e de 3% para as cepas bacterianas. Deste modo, a diluição final do inóculo inicial foi de 1:256 do extrato inicial para *C. albicans* e de 1:2560 para *B. cereus* e *S. aureus*.

As linhas 10, 11 e 12 foram utilizadas como controles (Figura 3). O controle positivo foi composto por 100  $\mu\text{L}$  de meio BHI acrescidos de 10  $\mu\text{L}$  de inóculo das cepas, em todos os poços da linha 10. Os poços da linha 11 foram preenchidos com 100  $\mu\text{L}$  de meio BHI sem inóculo. O controle negativo foi composto por 100  $\mu\text{L}$  do mesmo meio BHI e adicionados de 20  $\mu\text{l}$  de antibiótico (tetraciclina 0,5 g/mL) e antifúngico (fluconazol 0,5 g/mL). Em seguida, foram adicionados 10  $\mu\text{L}$  da suspensão microbiana teste (escala de Mc Farland 1 e 4) nos poços das colunas A, B, E e F, exceto linha 11. As colunas C, D, G e H foram mantidas sem inóculo da suspensão microbiana para serem utilizadas como controle.

**Figura 3 – Distribuição das amostras na microplaca de 96 poços utilizada nos testes de microdiluição de extrato hidroetanólico de geoprópolis da abelha urucu.**



Fonte: Valberta A. Cabral

Após a preparação das microdiluições, as placas foram incubadas a 37°C durante 24 horas, em estufa bacteriológica. As leituras da densidade óptica (630 nm) foram feitas utilizando leitora de microplacas (Elisa) marca Robonik, modelo Readwell Touch.

A CIM foi considerada a menor concentração do extrato de geoprópolis no qual não houve crescimento microbiano visível, ou seja, uma leitura de absorbância menor que 0,05 a 630 nm. Na sequência, foram calculados os respectivos valores de CIM 50 e de CIM 90, ou seja, CIM necessária para inibir o crescimento de 50 e 90% das amostras, utilizando o software Excel 2010.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Atividade antimicrobiana de amostras de mel de abelha uruçú

Os testes de difusão em ágar mostraram a ação antimicrobiana do mel da abelha uruçú em três das quatro cepas padrões testadas (Tabela 1).

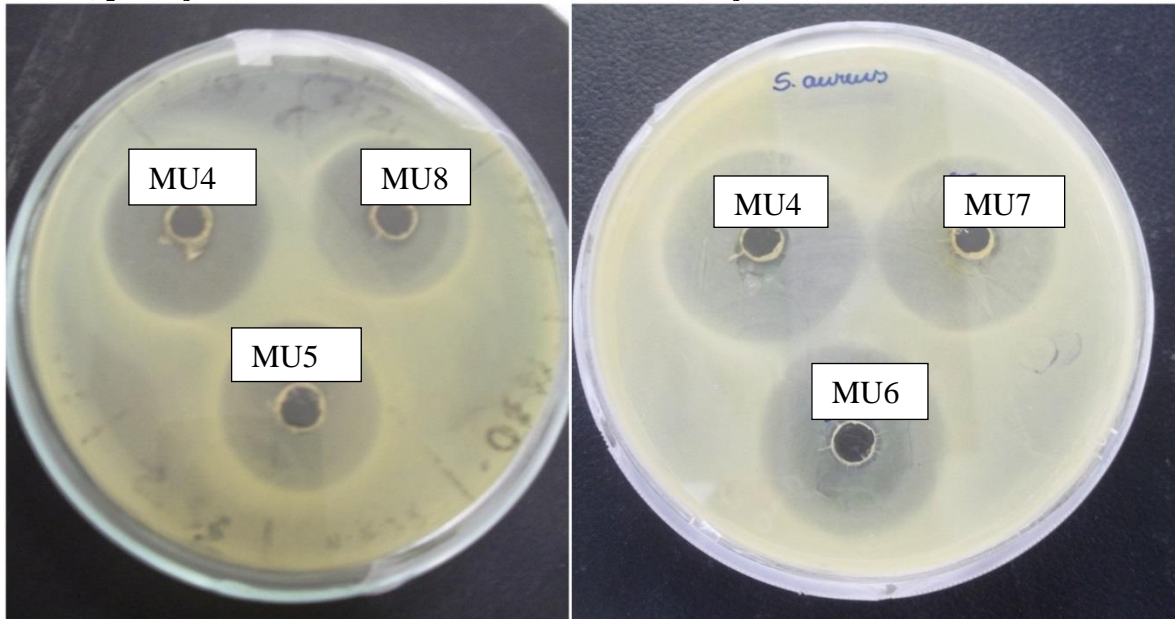
A atividade antimicrobiana contra *B. cereus* foi detectada em relação a três das quatro amostras de mel fresco (MU4, 7 e 8). Este resultado corrobora com o encontrado por Bobany et al. (2010), que notou alta susceptibilidade de *Bacillus sp.* em um estudo feito com mel de *Tetragonisca angustula*.

**Tabela 1- Atividade antimicrobiana *in vitro* do mel fresco de *M. scutellaris* frente às cepas padrões testadas.**

| Amostras           | Zonas de inibição em mm ( $\bar{X} \pm DP$ ) |                    |                |                  |
|--------------------|--|--------------------|----------------|------------------|
|                    | <i>B. cereus</i>                             | <i>C. albicans</i> | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> |
| MU4                | 28,5 ± 0,7                                   | 0,0                | 26,0 ± 1,8     | 32,3 ± 3,7       |
| MU7                | 35,5 ± 0,7                                   | 0,0                | 22,6 ± 2,0     | 27,0 ± 1,0       |
| MU8                | 28,0 ± 1,1                                   | 0,0                | 24,7 ± 3,0     | 31,5 ± 2,3       |
| MU9                | 0,0 ± 0,0                                    | 0,0                | 27,0 ± 1,4     | 27,0 ± 1,4       |
| Álcool etílico 70% | 0,0  | 0,0                | 0,0            | 0,0              |

As amostras de mel fresco testados mostraram ter alta atividade bacteriostática contra *E. coli* e *S. aureus* (Fig. 4), tendo essa última cepa citada se mostrado mais sensível, exibindo medições médias de halos de inibição, entre 27,0 a 32,3mm (tabela 1).

**Figura 4 – Halos de inibição das culturas de *E. coli* (A) e *S. aureus* (B) em meio ágar Müller-Hinton, pela ação bacteriostática das amostras do mel urucu fresco e armazenado.**



Fonte: Valberta A. Cabral

Tal resultado corrobora com as pesquisas de Peralta (2010), Borsato, Cruz e Almeida (2009), Bazoni (2012), Borsato et al. (2013) que comprovaram a eficácia da atividade antimicrobiana do mel das abelhas *Apis mellifera*, *Melipona bicolor*, *M. marginata*, *M. quadrifasciata*, *M. rufiventris*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Scaptotrigona depilis*, *S. ipunctata*, *S. xantotricha*, *Plebeia remota*, *Tetragona clavipes* e *Tetragonisca angustula* sobre cepas de *E. coli* e *S. aureus*. Mas em estudo de Gonçalves, Alves Filho e Menezes (2005) mostra que *E. coli* apresentou sensibilidade enquanto que *S. aureus* se mostrou-se resistente ao mel de *N. testaceicornis*.

Os resultados mostraram atividade antimicrobiana de todas as amostras de mel fresco da abelha urucu testadas contra as cepas de *S. aureus* resistente à metilina (MRSA), uma das principais cepas contaminantes de ambientes hospitalares que causam preocupações na medicina atual.

Os resultados para cepas MRSA foram similares aos obtidos para a cepa padrão de *S. aureus* em relação a atividade antimicrobiana das amostras de mel fresco (Tabela 2).



**Tabela 2 - Atividade antimicrobiana *in vitro* do mel fresco de *M. scutellaris* frente às cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA).**

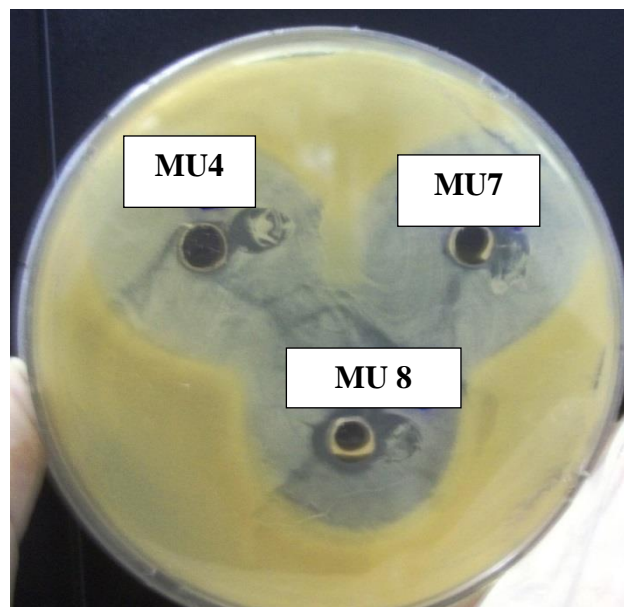
| Halos de inibição em mm ( $\bar{X} \pm DP$ ) |            |            |            |
|--|------------|------------|------------|
| Amostras                                     | MRSA1      | MRSA2      | MRSA5      |
| MU4  | ND         | ND         | 27,0 ± 1,4 |
| MU7  | 30,6 ± 2,6 | 32,0 ± 1,8 | ND         |
| MU8  | 30,5 ± 0,7 | 29,5 ± 0,7 | ND         |
| MU9  | ND         | ND         | 27,0 ± 1,4 |
| Álcool 70%                                   | 0,0        | 0,0        | 0,0        |

ND = Não determinado

A amostra de mel MU7 apresentou uma atividade mais intensa contra a cepa MRSA 2, com diâmetro de halos de inibição medindo entre 30 e 34 mm. Estes resultados corroboram com Bazoni (2012) que testou a atividade antimicrobiana de méis de *A. mellifera* e de abelhas sem ferrão de espécies diferentes em cinco linhagens de bactérias, incluindo uma cepa de MRSA.

A figura 5 mostra a atividade bacteriostática de três amostras de méis, sendo duas de mel fresco (MU7 e 8) e uma de mel (MU4) armazenado há um ano, contra uma cepa de MRSA2.

**Figura 5 – Atividade antimicrobiana do mel de *M. scutellaris* contra *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA2)**



Fonte: Valberta A. Cabral

A Tabela 3 apresenta a análise comparativa da atividade antimicrobiana do mel de urucu em diferentes tempos de armazenagem, a temperatura ambiente.

**Tabela 3 - Atividade antimicrobiana do mel de *Melipona scutellaris* frente as cepas padrões e MRSA, em diferentes tempos de armazenamento.**

| Amostras | Halos de inibição em mm ( $\bar{X} \pm DP$ ) |                       |                       |                       |                      |
|----------|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
|          | <i>B. cereus</i>                             | <i>E. coli</i>        | <i>S. aureus</i>      | MRSA2                 | <i>C. albicans</i>   |
| MU1      | 9,0±0,0 <sup>2</sup>                         | 30,5±2,1 <sup>2</sup> | 29,5±0,7 <sup>2</sup> | 30,5±0,7 <sup>2</sup> | 0,0±0,0 <sup>2</sup> |
| MU2      | 8,5±0,7 <sup>2</sup>                         | 32,0±1,4 <sup>2</sup> | 31,0±2,0 <sup>2</sup> | 31,2±3,0 <sup>2</sup> | 0,0±0,0 <sup>2</sup> |
| MU3      | 33,5±2,1 <sup>2</sup>                        | 27,7±2,1 <sup>2</sup> | 31,7±2,3 <sup>2</sup> | 33,5±2,1 <sup>2</sup> | 0,0±0,0 <sup>2</sup> |
| MU4      | 29,6±4,6 <sup>1</sup>                        | 26,7±2,4 <sup>1</sup> | 28,3±3,4 <sup>1</sup> | 33,2±3,0 <sup>1</sup> | 0,0±0,0 <sup>1</sup> |
| MU4      | ND   | 28,5±0,7 <sup>2</sup> | 29,0±1,4 <sup>2</sup> | 31,5±0,7 <sup>2</sup> | 0,0±0,0 <sup>2</sup> |
| MU5      | 8,0±0,0 <sup>2</sup>                         | ND                    | ND                    | ND                    | ND                   |

Armazenamento em temperatura ambiente: <sup>1</sup> – 1ano; <sup>2</sup> – 2 anos. ND – Não determinado

Quando comparado aos dados das tabelas 1 e 2, nota-se que o padrão de atividade, mais claramente visto na amostra MU4, manteve-se praticamente constante durante o tempo de armazenagem com pouca ou nenhuma perda de atividade com relação ao mel fresco. Todas as amostras avaliadas, com até dois anos de armazenamento, apresentaram atividade antimicrobiana contra as cepas de bactérias.

A atividade antimicrobiana das amostras MU5 e MU6 foi avaliada após três anos de armazenamento em temperatura ambiente. Os resultados demonstraram que a ação antimicrobiana foi mantida contra todas as cepas bacterianas testadas.

A Instrução Normativa Nº 11 de 20 de outubro de 2000 (BRASIL,2000), que trata sobre a Identidade e Qualidade do mel, e o Decreto-Lei Nº 214/2003 (BRASIL, 2003), que estabelece as definições, a classificação e as características do mel, bem como as regras relativas ao seu acondicionamento e rotulagem, não mencionam nenhum prazo de validade para comercialização do mel, o que sugere que o mel possui um prazo de validade indeterminado.

As cepas padrões avaliadas apresentam sensibilidade variada às amostras de mel testadas, como pode ser notado nas tabelas 1 e 3, sendo que a cepa de *B. cereus* apresentou a maior variabilidade de sensibilidade, com média de halos variando entre 27,0 a 39,0 mm com mel fresco e 8,0 a 36 mm de diâmetro com mel armazenado. Sato e Miyata (2000) relatam que podem ocorrer diferenças na atividade antimicrobiana do mel dependendo da sua origem floral.

Apenas a levedura *C. albicans* foi resistente a todas as amostras de mel avaliadas, tanto fresco como armazenado (Tab. 1 e 3). Resultados semelhantes foram encontrado por Peralta (2010), Bazoni (2012) e Borsato et al. (2013) com estudos feitos com mel de *Apis mellifera* e méis das abelha sem ferrão, *Friseomelita doederleinei*, *F. varia*, *Melipona asilvai*, *M. quadrifasciata anthidioides*, *M. bicolor*, *M. marginata*, *M. rufiventris*, *M. scutellaris*, *M. subnitida*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Plebeia sp.*, *Scaptotrigona depilis*, *S. ipunctata*, *S. xantotricha*, *Tetragonisca angustula*, *T. clavipes* e *T. angustula*.

De acordo com Portela (2006) e Fukuda et al (2009) apud Peralta (2010), a resistência de *C. albicans* se deve à sua estrutura morfológica que conta com uma parede celular complexa, constituída de 80 a 90% de carboidratos. Os compostos  $\beta$ -glucanas e quitina estão presentes na estrutura da parede celular e conferem à célula uma maior rigidez, deste modo, protege-a contra injúrias mecânicas, evitando a lise osmótica do protoplasto e o bloqueio do ingresso de moléculas tóxicas, como alguns produtos fungicidas.

As cepas padrões de bactérias foram sensíveis aos quatro antibióticos comerciais utilizados, sendo Cloranfenicol que apresentou maior atividade antimicrobiana em todas as cepas avaliadas. Entre as bactérias MRSA, a cepa MRSA2 apresentou-se com maior resistência a três dos quatro antibacterianos utilizados: Ácido Nalidixíco, Cloranfenicol e Estreptomicina (Apêndice A).

Estes dados quando comparados com os resultados obtidos com mel fresco indicam que as amostras de mel testadas exibiram halos de inibição de crescimento maiores que os antibióticos avaliados em todas as cepas, entretanto o mel apresentou atividade bacteriostática, enquanto que os antibióticos, bactericida.

Vale considerar que antibióticos são substâncias purificadas que possuem alvos de ação estabelecidos, enquanto que o mel é uma combinação complexa de vários constituintes com diferentes proporções (PORTELA, 2006). Ainda assim, o mel tem mostrado resultados eficazes no controle de vários microrganismos, agindo tanto em análises *in vitro*, em uso tópicos, como em tratamentos de feridas infectadas, por exemplo, e até como inibidor de microrganismos em alimentos (ALVES et al., 2008; BAZONI, 2012; BORSATO et al., 2013; GONÇALVES et al., 2005; RACOWSKI et al., 2007; PORTELA, 2010).

## 5.2 Atividade antimicrobiana de amostras EEGP de abelha uruçu

### 5.2.1 Análise de difusão em meio sólido

Os testes de difusão em meio sólido mostram que os Extratos Hidroetanólicos de Geoprópolis (EEGP) possuem ação antimicrobiana na maioria das cepas testadas. As zonas de inibição variaram, entre 13,0 e 16,6 mm, para *B. cereus* e 12,5 e 15,6 mm, para *S. aureus* (Tabela 4). A cepa de *E. coli* mostrou-se resistente aos EEGP.

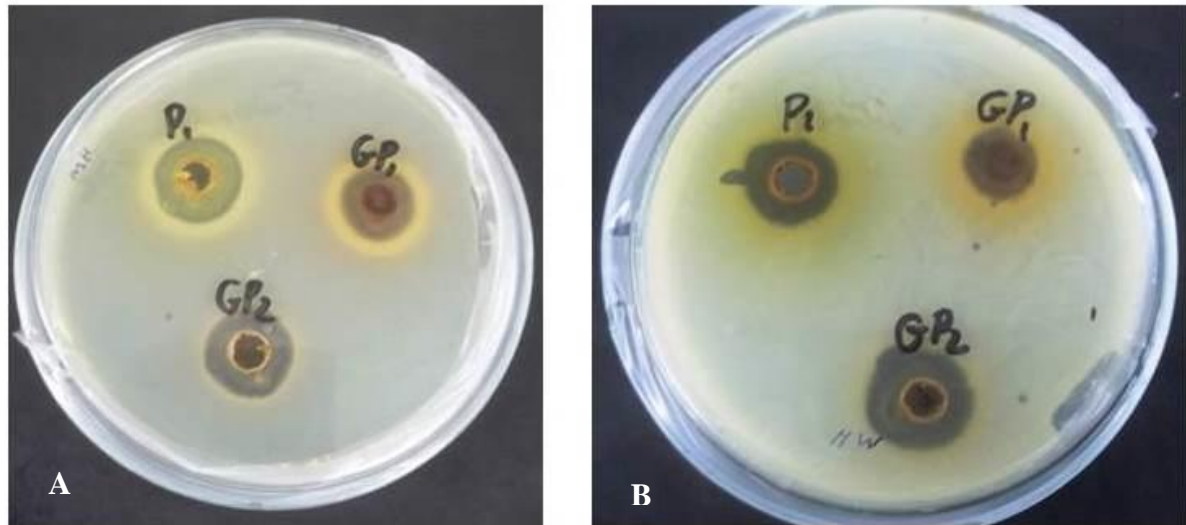
As linhagens MRSA foram sensíveis a todas as amostras de EEGP testadas (Tabela 4 e Figura 6), sendo que a maior variação foi observada na cepa MRSA4, com halos variando entre 11,5 e 15 mm de diâmetro. Entre os seis extratos testados apenas dois (GP1 e GP2) exerceram ação inibitória na cepa de *C. albicans*.

**Tabela 4 - Atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico de geoprópolis (GP) e própolis verde (PV) sobre cepas de microrganismos patogênicos.**

| Microrganismos     | Halos de inibição em mm ( $\bar{X} \pm DP$ ) |          |           |           |           |           |                  |
|--------------------|--|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------------|
|                    | GP1  | GP2      | GP3       | GP4       | GP5       | GP6       | PV<br>(controle) |
| <i>B. cereus</i>   | 14,5±2,0                                     | 16,6±0,5 | 13,5±0,7  | 13,5±2,1  | 16,5±0,7  | 13,0±0,0  | 14,8±1,7         |
| <i>C. albicans</i> | 12,3±6,9                                     | 14±2,3   | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0 | 12,8±3,0         |
| <i>E. coli</i>     | 0,0±0,0                                      | 0,0±0,0  | 0,0±0,0   | 0,0±0,0   | 0,0±0,0   | 0,0±0,0   | 0,0±0,0          |
| <i>S. aureus</i>   | 14,2±2,2                                     | 15,6±1,1 | 15,0±0,0  | 12,5±0,7  | 14,0±0,7  | 13±0,0    | 14,8±1,5         |
| MRSA1              | 14±1,0                                       | 14,8±2,5 | ND        | ND        | ND        | ND        | 17,3±1,4         |
| MRSA2              | 13,1±0,7                                     | 14,3±3,1 | 15,0±0,0  | 13,5±0,7  | 12,0±1,4  | 14,5±0,7  | 16,0±2,0         |
| MRSA3              | ND   | ND       | 13,0±1,6  | 12±0,8    | 12,5±2,0  | 11,5±1,2  | 16,0±5,6         |
| MRSA4              | ND   | ND       | 15,0±0,0  | 12,5±0,7  | 11,5±0,7  | 12,0±0,0  | 12,0±0,0         |
| MRSA5              | ND   | ND       | 15,0±0,0  | 14,5±0,7  | 12,5±0,7  | 13,0±0,0  | 13,0±1,4         |

ND = Não determinado

**Figura 6 - Atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico de geoprópolis (GP<sub>1</sub> e GP<sub>2</sub>) e própolis verde (P<sub>1</sub> - controle) frente às cepas MRSA1 (A) e MRSA2 (B).**



Fonte: Valberta A. Cabral

As bactérias gram-positivas são mais susceptíveis aos antibióticos do que as gram-negativas, já que a camada de lipopolissacarídeo (LPS) como componente da sua parede celular (Tortora, Funke e Case, 2005) impossibilita a entrada dos antibacterianos. Parte da resistência a antibióticos compartilhada entre as bactérias gram-positivas e gram-negativas é devida à inativação bacteriana dos antibióticos.

Quando comparado aos antibióticos comerciais testados, as amostras GP2 e GP5 apresentaram halos maiores do que Cloranfenicol e Vancomicina que foram os antibióticos com maior ação de inibição em *B. cereus* (Apêndice A). Com exceção do Cloranfenicol (17 mm), todos os antibióticos utilizados contra *S. aureus* apresentaram um menor halo de inibição do que as amostras de EEGP avaliadas. Nas linhagens MRSA as amostras de EEGP também apresentaram ação bactericida, incluindo contra a cepa MRSA2 (Tabela4), a qual apresentou maior resistência aos antibióticos comerciais testados.

Não houve diferenças significativas entre a ação antimicrobiana do EEGP da abelha *M. scutellaris* e a própolis verde da abelha *A. mellifera*.

Neste estudo, o EEGP mostrou atividade antimicrobiana em *B. cereus*, *S. aureus* padrão e em cepas MRSA de ambiente hospitalar. Nossos resultados são corroborados por Cunha et al. (2013) que mostraram que as amostras de geoprópolis de *M. scutellaris* apresentaram atividade antibacteriana significativa em *S. aureus* e cepas MRSA e não demonstraram atividade inibitória sobre *E. coli*. Bem como por Velikova et al. (2000), que relatam a atividade antimicrobiana do geoprópolis de abelhas sem ferrão (*Lestrimellata spp.*,

*Melipona quadrifasciata*, *M. favaora orlinge*, *M. scutellaris*, *M. marginata*, *Nanotrigona testacularis*, *Plebeia remota*, *P. droryana*, *Scaptotrigona bipunctata*, *Tetragonisca angustula* e *Tetragona clavipes*) sobre *S. aureus* e *C. albicans* e pouca ou nenhuma atividade em *E. coli*. Os autores ainda destacam a grande complexidade da composição do geoprópolis, com mais de cinquenta compostos individuais identificados e afirmam que, na maioria dos casos, a grande atividade antimicrobiana estava relacionada com uma alta porcentagem de ácidos diterpênicos ou a uma combinação de ácido gálico e ácidos diterpênicos.

### 5.2.2 Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) do EEGP

A tabela 5 mostra os valores de CIM obtidos nos testes de microdiluição de extratos hidroetanólicos de geoprópolis (EEGP), frente aos microrganismos *B. cereus*, *S. aureus* e *C. albicans*.

**Tabela 5 – Os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM 50% e CIM 90%) de extratos de geoprópolis (EEGP) frente às linhagens de *B. cereus*, *S. aureus* e *C. albicans*.**

| Cepa               | EEGP | Diluição do extrato |        |
|--------------------|------|---------------------|--------|
|                    |      | CIM 50              | CIM 90 |
| <i>B. cereus</i>   | GP3  | 1:80                | 1:10   |
|                    | GP4  | 1:2560              | 1:640  |
|                    | GP5  | 1:640               | 1:320  |
|                    | GP6  | 1:1280              | 1:640  |
| <i>S. aureus</i>   | GP3  | 1:20                | 1:10   |
|                    | GP4  | 1:320               | 1:160  |
|                    | GP5  | ND                  | 1:80   |
|                    | GP6  | ND                  | 1:640  |
| <i>C. albicans</i> | GP3  | 1:64                | 1:8    |
|                    | GP4  | 1:4                 | EB     |
|                    | GP5  | 1:32                | 1:4    |
|                    | GP6  | 1:256               | EB     |

EB – Extrato Bruto; ND – Não determinado

Para *C. albicans*, em duas amostras de EEGP (GP4 e GP6) a CIM 90 só ocorreu na presença de extrato bruto. Amostra GP3 apresentou maior atividade sobre esta cepa (CIM 90-1:8). Os valores da CIM 50 variaram de 1:4 (GP4) a 1:256 (GP6) (Tabela 6).

As amostras GP3 e GP6 mostraram valores de CIM 90 idênticos contra *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*, 1:10 e 1:640, respectivamente. Essas amostras de geoprópolis mostraram uma variação da CIM 50 para *B. cereus* entre 1:2560 e 1:80, enquanto para *S. aureus* entre 1:320 e 1:20 (Tabela 5).

Existem poucos estudos sobre a Concentração Inibitória Mínima dos extratos hidroetanólicos do geoprópolis de *M. scutellaris*. Cunha (2012) determinou que a CIM do extrato de geoprópolis de abelha uruçú frente a *S. aureus* e MRSA ficou entre 6.25 – 12.5 µg/mL.

*Candida albicans* é uma levedura que faz parte da microbiota normal humana, mas que pode se tornar um patógeno oportunista causando micoses cutânea, sistêmica e mucocutânea. A candidíase ocorre geralmente na forma vulvovaginal ou muco-cutânea, conhecida como “sapinho”, ocorrendo frequentemente em recém-nascidos, indivíduos em tratamento com antibióticos, podendo causar a morte em indivíduos imunosuprimidos, como no caso de portadores do HIV (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). Os resultados do teste de microdiluição apontam ação inibitória frente a *C. albicans*, deste modo o EEGP de uruçú pode apresentar um potencial auxiliar no tratamento da candidíase.

O EEGP de *M. fasciculata* e *M. scutellaris* tem apresentado ampla atividade antimicrobiana em *C. albicans*, *Streptococcus mutans*, *S. aureus*, MRSA, *Enterococcus faecalis*, *Actinomyces naeslundii* (LIBERIO et al., 2011; CUNHA, 2012). Segundo Rios et al. (1988) apud Duarte et al.(2003), extratos naturais que mostram atividade inibitória em concentrações menores que 100 mg/mL podem ter um alto potencial antimicrobiano, já que os compostos podem ser isolados e usados em concentrações mais baixas.

Na última década a resistência antimicrobiana tem se tornado uma grande ameaça aos agentes antimicrobianos. De acordo com Silva et al. (2007), um grande problema intrínseco à terapia antimicrobiana é a resistência bacteriana aos antimicrobianos, por isto torna-se necessária a busca constante por novas fontes terapêuticas que tenham eficácia no tratamento de infecções, ocasionadas tanto por bactérias como por fungos, por exemplo.

## 6 CONCLUSÕES

O mel e o geoprópolis produzidos pela abelha urucu (*Melipona scutellaris*) apresentaram uma notável atividade antimicrobiana. Sendo o mel eficaz contra as cepas de *E. coli*, *S. aureus*, MRSA e em menor grau em *B. cereus*, não havendo diferença entre as atividades antibacterianas dos méis fresco ou sob armazenamento até três anos, em temperatura ambiente. Os extratos hidroetanólicos de geoprópolis apresentaram atividade antimicrobiana contra cepas de *B. cereus*, *S. aureus*, MRSA e *C. albicans*, sendo que ação inibitória do crescimento foi observada para a cepa *C. albicans*, e ação bactericida para as cepas de bactérias. Desta maneira, os dados obtidos neste trabalho demonstram que o mel e geoprópolis têm potencial para uso terapêutico no controle e combate de infecções microbianas, necessitando estudos mais detalhados sobre a composição e os benefícios destes produtos de abelha urucu, que são ainda muito pouco estudados.



## 7 REFERÊNCIAS

ALVES, D.F.S. et al. **Efeitos da aplicação tópica do mel de *Melipona subnitida* em feridas infectadas de ratos.** Rev. Col. Bras. Cir. v. 35, n. 3, 188 – 193. Mai. / Jun, 2008.

ALVES, E.M. et al. **Presença de coliformes, bolores e leveduras em amostras de mel orgânico de abelhas africanizadas das ilhas do alto rio Paraná.** Ciência Rural, Santa Maria, v.39, n.7, p. 2222-2224. Out, 2009.

ALVES, R.M.O. et al. **Areas of Natural Occurrence of *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) in the state of Bahia, Brazil.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, v.84, n. 3, p. 679-688. 2012.

ANCHIETA, P.J. **Cartas inéditas: Carta fazendo a ...** Edição comemorativa de 4º centenário. São Paulo: Typ. da Casa Eclectica. 1900,73 p. Traduzida do latim pelo Professor João Vieira de Almeida. Obra pertencente ao acervo do Projeto Brasiliana USP.

BANKOVA, V. et al. **Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis.** Apidologie, v. 29, 361 – 367. 1998.

BAZONI, M.O. **Atividade antimicrobiana dos méis produzidos por *Apis mellifera* e abelhas sem ferrão nativas do Brasil.** 2012. 130 f. Tese (Doutorado em Genética) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

BIANCHINI, L.; BEDENDO, I.P. **Efeito antibiótico do própolis sobre bactérias fitopatogênicas.** Sci. agric., Piracicaba – SP, v. 55 n. 1. Jan./Apr, 1998

BOBANY, D. M. et al. **Atividade antimicrobiana do mel de abelhas jataí (*Tetragonisca Angustula*) em cultivo de microrganismos do conduto auditivo de caninos domésticos (*Canis familiaris*).** Ci. Anim. Bras., Goiânia, v. 11, n. 2, p. 441-446. abr./jun, 2010.

BORSATO, D.M.; CRUZ, M.C.R.; ALMEIDA, M.M. **Atividade antimicrobiana de méis comercializados na região dos Campos Gerais – Paraná.** Visão Acadêmica, Curitiba, v.10, n.1. Jan/Jun, 2009. - ISSN 1518-5192

BORSATO, D.M. et al. **Atividade antimicrobiana de méis produzidos por meliponíneos nativos do Paraná (Brasil).** B.CEPPA, Curitiba, v. 31, n. 1, p. 57-66. jan./jun, 2013.

BRASIL. **Decreto-Lei nº 214/2003, de 18 de Setembro de 2003.** Diário da República — I Série-A, nº 216, p. 6057 – 6060. 18 de Setembro de 2003.

BRASIL. **Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000.** Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Diário Oficial da União, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasília, DF, Seção 1, p. 23. 23 out. 2000.

BRUSCA, R.C.; BRUSCA G.J. **Invertebrados.** 2 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007, 968 p., Ilustrações de Nancy Haver; Coordenador de tradução Fábio Lang da Silveira; tradução Alvaro Esteves Migotto et al. Tradução de Invertebrates, 2nd ed. ISBN 978-85-277-1258-3.

BURIOL, L. et al. **Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico.** Quim. Nova, v. 32, n. 2, p. 296-302. 2009.

CORTOPASSI-LAURINO, M. **Global Meliponiculture: challenges and opportunities.** Apidologie v. 37, p. 1–18. 2006.

CUNHA, M.G. **Geoprópolis de *Melipona scutellaris*: atividade antimicrobiana, antiproliferativa e ação sobre biofilme de *Streptococcus mutans in vitro*.** 2012. 60 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, São Paulo, 2012.

CUNHA, M.G. et al. **Apolar Bioactive Fraction of *Melipona scutellaris* Geopropolis on *Streptococcus mutans* Biofilm.** Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. v. 2013, Article ID 256287. Mai, 2013.

DUARTE, S. et al. **Effect of a Novel Type of Propolis and Its Chemical Fractions on Glucosyltransferases and on Growth and Adherence of Mutans Streptococci.** Biol. Pharm. Bull. v. 26, n.4, 527 – 531. Apr, 2003.

ESCOBAR, A.L.S.; XAVIER, F.B. **Propriedades fitoterápicas do mel de abelhas.** Revista Uningá, Maringá – PR, n.37, p. 159-172. Jul./Set, 2013.

EVANGELISTA-RODRIGUES, A. et al. **Análise físico-química dos méis das abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris* produzidos em duas regiões no Estado da Paraíba.** Ciência Rural, Santa Maria, v.35, n. 5, p.1166-1171. Set/Out, 2005.

EWNETU, Y.; LEMMA, W.; BIRHANE, N. **Antibacterial effects of *Apis mellifera* and stingless bees honeys on susceptible and resistant strains of *Escherichia coli*,**

***Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* in Gondar, Northwest Ethiopia.** BMC Complementary and Alternative Medicine, v. 13, n.269. 2013.

FRANCHIN, M. et al. **Geopropolis from *Melipona scutellaris* decreases the mechanical inflammatory hypernociception by inhibiting the production of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$ .** Journal of Ethnopharmacology, v.143, 709–715. 2012.

GIANNINI, T.C. et al. **Pollination services at risk: Bee habitats will decrease owing to climate change in Brazil.** Ecological Modelling, v. 244, 127– 131. 2012.

GONÇALVES, A.L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. **Atividade antimicrobiana do mel da abelha nativa sem ferrão *Nannotrigona Testaceicornis* (Hymenoptera: Apidae, Meliponini).** Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.72, n.4, p.455-459, Out./Dez., 2005.

KERR, W. E. **As abelhas e o meio ambiente.** In: Congresso Brasileiro de Apicultura, 12.,1998, Salvador. Anais... São Paulo: CBA, p. 27-30.

KERR, W. E.; JUNGnickel. H.; MORGAN, D. E. **Workers of the stingless bee *Melipona scutellaris* are more similar to males than to queens in their cuticular compounds.** Apidologie, v. 35, 611–618. 2004.

LIBERIO, S.A. et al. **Antimicrobial activity against oral pathogens and immunomodulatory effects and toxicity of geopropolis produced by the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith.** BMC Complementary and Alternative Medicine, v. 11, n.108. 2011.

MENEZES, H. **Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas.** Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.72, n.3, p.405-411. Jul./Set., 2005.

NCCLS. **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras.** Norma Aprovada— 2 ed. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos. 2002.

\_\_\_\_\_. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically.** Approved standard M7-A6. 2003.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. **Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002.** Journal of Natural Products, v. 66, n. 7, 1022-1037. 2003.

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e Criação de Abelhas indígenas sem ferrão.** São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997, 445 p. ISBN 85-86525-01-4

PERALTA, E.D. **Atividade antimicrobiana e composição química de méis do estado da Bahia.** 2010, 266 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2010.

PORTELA, M. B. **Estudo de proteínas funcionais de *Candida* spp. Isoladas da cavidade bucal de crianças infectadas pelo vírus da imunodeficiência adquirida.** 2006. 176f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas- concentração Microbiologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

RACOWSKI, I. et al. **Ação antimicrobiana do mel em leite fermentado.** Revista Analytica, n.30, p. 106 – 115. Ago/Set, 2007.

RANSOME, H.M. **The Sacred Bee in Ancient Times and Folklore.** 1th ed. New York: Dover Publications, 2004, 308 p. ISBN 0-486-43494-x

ROLDÃO, Y.S. **Termoregulação colonial e a influência da temperatura no desenvolvimento da cria em abelhas sem ferrão, *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini).** 2011, 90 f. Dissertação (Mestre em Entomologia) – Faculdade, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, Ribeirão Preto, 2011.

SALATINO, A. et al. **Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis.** eCAM, v. 2, n.1, 33–38. Feb, 2005.

SATO, T.; MIYATA, G. **The Nutraceutical Benefit, Part III: Honey.** Nutrition, v. 16, 468 – 469. 2000. Disponível em: <<http://www.deepdyve.com/lp/elsevier/the-nutraceutical-benefit-part-iii-honey-WeDjjYbfex>> Acesso em: 30 jul. 2014.

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

SILVA, J. G. et al. **Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 17, n. 4, p. 572-577. Out./Dez, 2007.

SILVA, R.A. et al. **Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha.** Alim. Nutr., Araraquara, v.17, n.1, p.113-120, jan./mar. 2006.

SILVEIRA, F.A.; MELO, G. A.R.; ALMEIDA, E.A.B. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação**. Belo Horizonte: Fernando A, Silveira, 2002, 253 p. ISBN 85-903034-1-1

SOUZA, R.C.S. et al. **Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica**. *Revista Acta Amazonica*. v. 34, n.2, p. 333 – 336, 2004.

SOUZA, S.A. et al. **Composition and Antioxidant Activity of Geopropolis Collected by *Melipona subnitida* (Jandaíra) Bees**. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 2013, Article ID 801383. 2013.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. Tradução: Aristóbolo Mendes da Silva ... [et al.] ; revisão técnica: Flávio Guimarães da Fonseca. 10 ed. Porto Alegre : Artmed, 2005.

VELIKOVA, M. et al. **Chemical Composition and Biological Activity of Propolis from Brazilian Meliponinae**. *Z. Naturforsch, Tübingen*, v. 55, 785-789. May /June, 2000.

VILLAS-BÔAS, J.K. **Sistema produtivo e bionomia aplicada ao manejo da abelha urucu (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) no litoral da Paraíba**. 2010, 123 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

WEBBEE. **A distribuição geográfica da abelha Uruçu (*Melipona scutellaris*, Latreille 1811) (Apidae, Meliponinae)**. 2014. Disponível em: <[http://www.webbee.org.br/urucu/distribuicao\\_geografica.htm](http://www.webbee.org.br/urucu/distribuicao_geografica.htm)>. Acesso em: 12 jul. 2014.

**APÊNDICE A – Atividade antimicrobiana de antibióticos comerciais (controle) frente aos nove microrganismos testes**

| Microrganismos   | Halos de inibição em mm ( $\bar{X} \pm DP$ ) |              |                |             |
|------------------|--|--------------|----------------|-------------|
|                  | Ácido Nalidíxico                             | Clorafenicol | Estreptomicina | Vancomicina |
| <i>B. cereus</i> | 12,5 ± 1,5                                   | 15,6 ± 2,1   | 10,5 ± 1,5     | 15,4 ± 3,5  |
| <i>E. coli</i>   | 14,0 ± 0,0                                   | 19,5 ± 3,5   | 17,5 ± 6,3     | 8,0 ± 0,0   |
| <i>S. aureus</i> | 10,0 ± 0,0                                   | 17,0 ± 0,0   | 10,5 ± 0,7     | 9,7 ± 1,6   |
| MRSA 1           | ND   | ND           | ND             | ND          |
| MRSA 2           | 0,0 ± 0,0                                    | 0,0 ± 0,0    | 0,0 ± 0,0      | 9,5 ± 0,7   |
| MRSA 3           | 0,0 ± 0,0                                    | 20,5 ± 2,1   | 11,5 ± 0,7     | 11,5 ± 0,7  |
| MRSA 4           | 0,0 ± 0,0                                    | 7,5 ± 0,7    | 12,0 ± 1,4     | 13,5 ± 0,7  |
| MRSA 5           | 0,0 ± 0,0                                    | 7,5 ± 0,7    | 14,0 ± 0,0     | 12,5 ± 0,7  |

ND = Não definido