



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

REBECA DIAS DOS SANTOS

**DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
MICROBIOLÓGICAS DAS PRÓPOLIS DE JATAÍ E MANDAÇAIA**

BRASÍLIA, 2023

REBECA DIAS DOS SANTOS

**DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
MICROBIOLÓGICAS DAS PRÓPOLIS DE JATAÍ E MANDAÇAIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia, na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

Orientadora: Farmacêutica Esp. Karolina Oliveira Gomes

Coorientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi

BRASÍLIA, 2023

REBECA DIAS DOS SANTOS

**DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
MICROBIOLÓGICAS DAS PRÓPOLIS DE JATAÍ E MANDAÇAIA**

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Farmacêutica Esp. Karolina Oliveira Gomes
(PPGCTS/ Universidade de Brasília)

Coorientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi
(Membro PPGCTS/Universidade de Brasília)

Farmacêutica Mestre Esp. Letícia Fernandes Silva Rodrigues
(PPGCTS/Universidade de Brasília)

Farmacêutica Esp. Carla Azevedo Bilac
(PPGCTS/Universidade de Brasília)

Farmacêutica Marta Oliveira de Araújo
(PPGCTS/ Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, 2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me sustentado até aqui! Pelas inúmeras bênçãos que Ele tem derramado sobre minha vida. Por ter me dado a oportunidade de passar na UnB e o privilégio de conhecer pessoas maravilhosas durante minha graduação. Agradeço, pois em meio as dificuldades, Ele esteve ao meu lado, ajudando-me a enfrentá-las sem nunca me deixar só!

Aos meus pais, Denivaldo e Kelen, por tudo o que vocês fizeram e fazem por mim. Tenho plena convicção de que sem vocês eu não estaria aqui, concluindo mais essa etapa! Muito obrigada por todo amor e pelos inúmeros esforços que vocês têm feito e por sempre me acompanharem onde quer que eu esteja. Não posso deixar de mencionar as muitas vezes que meu pai abriu mão do carro para que eu pudesse usá-lo no trajeto da faculdade para assistir as aulas mais descansada! Agradeço por ser exemplo de homem amoroso, batalhador e responsável! Mãe, muito obrigada pelos inúmeros conselhos que a senhora deu durante minha caminhada, por toda a ajuda e renúncia! Vocês são como espelho para mim e, se um dia eu conseguir ser metade do que vocês são, terei obtido êxito!

À minha irmã Beatriz, por todo o apoio que você tem me dado e por estar sempre presente.

Às minhas primas Ana Paula e Kelly, por todo amor e por todos os conselhos sobre vida acadêmica e profissional. Vocês fizeram desses anos, os mais divertidos!

À minha tia Olinda (*in memoriam*), pelas inúmeras orações que fez por todas as áreas da minha vida e por ter sido tão amorosa. Fico feliz por saber que nos últimos dias de sua vida, já internada, se alegrou com minhas conquistas da faculdade. Sou muito agradecida por ter tido a honra da senhora se alegrar, como meus pais, quando entrei na Universidade! A senhora faz muita falta! À minha tia Elcivanni, por todo o amor, apoio e pelas orações que tem feito por mim, amo você!

À minha avó, por ter disponibilizado um cantinho da casa para eu ficar durante as aulas, pelo carinho e pelos almoços, que faz com tanto amor!

Ao meu querido Pastor Elieser, por nunca ter esquecido de mim em suas orações. Por sua amorosidade e bondade! Por sempre se interessar pelos meus estudos, planos para o futuro, dizer que os incluirá em suas orações e ainda, por ter

se alegrado juntamente com a congregação quando soube da minha aprovação na UnB.

Ao Vinde, grupo cristão da Faculdade de Ceilândia, que todas as sextas feiras, no horário do almoço, me trazia para mais perto de Deus. Não posso deixar de mencionar Aninha, César, Hannah, Assis, Gustavo, Gaby e muitos outros que deixaram suas digitais no Vinde, vocês são uma bênção e fizeram diferença não só em minha vida, mas para todos os universitários que nos escutavam! César, muito obrigada por ter sugerido que eu levasse a palavra em dois encontros do Vinde. Confesso que fiquei assustada, com medo do que poderiam pensar se eu dissesse algo errado, mas, o Espírito Santo me guiou e muitos corações foram alcançados naqueles dias!

Agradeço também à Sociedade Cristã Acadêmica (SCA), da qual fui uma das diretoras. Aqui, aprendi muito sobre Cristo, como Ele vê a Igreja, o que eu sou para Ele e ainda, a expor pensamentos e elaborar discussões à despeito da Bíblia. Assis, Michel, Maxwell e Gustavo, agradeço pelo convite à diretoria e pelo tempo que passamos juntos. Abner e Vivi agradeço por terem aceitado meu convite de assumirem o SCA e por terem proposto novas ideias para seguirmos.

À minha professora e coorientadora Daniela, pela oportunidade de fazer pesquisa! Foi você quem me apresentou a esse mundo, ainda na pandemia, e fez-me encantar pela própolis! Muito obrigada pelas oportunidades de apresentações dos meus trabalhos, pelo PIBIC e pelo desafio do meu TCC. Você é uma professora incrível e, todas as vezes que sentamos para conversar, me ensina muita coisa!

Agora, meus agradecimentos à Karol, minha amiga, parceira de laboratório e, minha orientadora. Você é uma pessoa incrível, amorosa e simpática! Agradeço por ter feito dos meus dias mais corridos com estágio e laboratório, mais leves e divertidos! Sem mencionar as inúmeras histórias que contávamos enquanto lavávamos os utensílios da pesquisa! Muito obrigada por ter aceitado ser minha orientadora, pela ajuda quando estava com dificuldades e ainda, pelo incentivo a participar de eventos nacionais e internacionais, dos quais, ganhamos nossas menções honrosas!

Por fim, quero agradecer a todos os pesquisadores do Laboratório de Controle de Qualidade da Faculdade de Ceilândia e a todas as pessoas que participaram direta ou indiretamente de mais essa etapa da minha vida!

"Lembre da minha ordem: Seja forte e corajoso! Não fique desanimado, nem tenha medo, porque eu, o Senhor, seu Deus, estarei com você em qualquer lugar para onde você for!" (Josué 1.9)

Bíblia Sagrada – NTLH

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a atividade antimicrobiana e características físico-químicas de extratos de própolis (EP) das abelhas sem ferrão Jataí e Mandaçaia. Foram avaliadas cinco amostras, sendo Jataí e Mandaçaia *in natura* e três amostras comerciais (uma Jataí e duas Mandaçaia). As amostras são provenientes da região Sul (Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul) e Centro-Oeste (Distrito Federal) do Brasil. A atividade antibacteriana foi verificada por ensaio de disco-difusão, determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Os EP também foram avaliados quanto ao teor de extrato seco, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Os EP de Mandaçaia apresentaram halo de inibição (19-68 mm) para *S. aureus*, *B. cereus* e *S. mutans*, enquanto os EP de Jataí não formaram halo de inibição bacteriana. Os EP apresentaram CBM de 0,03 a 0,50 mg/mL frente às bactérias Gram-positivas (*S. aureus*, *B. cereus* e *S. mutans*) e CBM de 0,15 a 1,00 mg/mL frente às bactérias Gram-negativas (*P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. enterica* e *E. coli*). Os EP apresentaram CIM de <0,01 a 0,40 mg/mL para as Gram-positivas e CIM de 0,10 a 0,20 mg/mL para as Gram-negativas. Os EP comercial de Jataí e Mandaçaia do Distrito Federal apresentaram extrato seco de 2,61 e 2,56%, valores muito abaixo do mínimo de 11% estabelecido pela legislação brasileira, e os demais EP tiveram valores de 12,09 a 16,43%. Em relação aos compostos fenólicos, o valor mínimo estabelecido pela legislação é de 0,50% e os EP comercial e *in natura* de Mandaçaia apresentaram valores superiores a 0,70%. Os EP de Jataí não apresentaram compostos fenólicos na metodologia testada. Os EP de Jataí apresentaram menor ação antioxidante quando comparadas aos EP de Mandaçaia. O EP de Mandaçaia do Rio Grande do Sul obteve a maior concentração de compostos fenólicos (2,56%) e a maior atividade antioxidante (71,28 mM/mg DPPH e 148,20 mM/mg ABTS). Devido à lise que a própolis causa na parede celular das bactérias e por conta das diferenças da parede celular, as bactérias Gram-positivas foram mais sensíveis à ação dos EP quando comparadas as Gram-negativas. Todos os EP de Mandaçaia possuem maior teor de

compostos fenólicos e propriedades antioxidantes, sendo então mais eficazes nos testes de atividade antibacteriana em relação aos EP de Jataí.

Palavras-chave: Abelhas sem ferrão; Atividade Antibacteriana; Bactérias Gram-negativas; Bactérias Gram-positivas; Própolis.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the antimicrobial activity and physicochemical characteristics of propolis extracts (PE) from Jataí and Mandaçaia stingless bees. Five samples were evaluated, being Jataí and Mandaçaia *in natura* and three commercial samples (one Jataí and two Mandaçaia). The samples come from the South (Santa Catarina, Paraná and Rio Grande do Sul) and Midwest (Federal District) regions of Brazil. The antibacterial activity was verified by disc-diffusion assay, determination of the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The PE were also evaluated for dry extract content, phenolic compounds, and antioxidant activity. The PE from Mandaçaia showed a halo of inhibition (19-68 mm) for *S. aureus*, *B. cereus* and *S. mutans*, while the PE from Jataí did not form a halo of bacterial inhibition. The PE showed CBM from 0.03 to 0.50 mg/mL against Gram-positive bacteria (*S. aureus*, *B. cereus* and *S. mutans*) and CBM from 0.15 to 1.00 mg/mL against Gram-negative bacteria (*P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. enterica* and *E. coli*). The PE presented MIC from <0.01 to 0.40 mg/mL for Gram-positive and MIC from 0.10 to 0.20 mg/mL for Gram-negative. The PE commercial and *in natura* from Jataí and Mandaçaia of the Federal District presented dry extract of 2.61 and 2.56%, values well below the minimum of 11% established by Brazilian legislation, and the other PE had values from 12.09 to 16.43%. In relation to phenolic compounds, the minimum value established by legislation is 0.50% and the PE commercial and *in natura* from Mandaçaia presented values greater than 0.70%. The PE from Jataí did not present phenolic compounds in the tested methodology. The PE from Jataí showed less antioxidant action when compared to PE from Mandaçaia. The PE from Mandaçaia from Rio Grande do Sul had the highest concentration of phenolic compounds (2.56%) and the highest antioxidant activity (71.28 mM/mg DPPH and 148.20 mM/mg ABTS). Due to the lysis that propolis causes in the cell wall of bacteria and because of cell wall differences, Gram-positive bacteria were more sensitive to the action of PE when compared to Gram-negative ones. All PE from Mandaçaia have a higher content of phenolic compounds and antioxidant properties, thus being more effective in antimicrobial activity tests compared to PE from Jataí.

Keywords: Antibacterial activity; Gram-negative bacteria; Gram-positive bacteria; Propolis; Stingless bees.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Abelha Jataí (*Tetragonisca angustula*) em sua colmeia.....19
- Figura 2** - Abelha Mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*) em sua colmeia20

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Principais características dos extratos de própolis.....	22
QUADRO 2 - Amostras de extratos de própolis.	27

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Atividade antibacteriana dos extratos de própolis, expressa em diâmetro dos halos (mm), obtida através do ensaio de disco-difusão.....	31
TABELA 2 - Determinação da concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos de própolis.....	31
TABELA 3 - Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos de própolis.....	35
TABELA 4 - Análises físico-químicas dos extratos de própolis	39

LISTA DE ABREVIATURAS

CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DF	Distrito Federal
EP	Extrato de Própolis
Esp.	Especialista
<i>et al.</i>	E outros
J	Jataí (amostra <i>in natura</i> , do Paraná)
° GL	Graus Gay-Lussac
M	Mandaçaia (amostra <i>in natura</i> , de Santa Catarina)
mg	miligramas
mL	mililitros
mm	milímetros
m/m	massa por massa ou, 10 mg em 100 mg
m/v	massa por volume ou seja, 10 mg em 100 mL
nm	Nanômetros
PR	Paraná
RS	Rio Grande do Sul
SC	Santa Catarina
s.d.	Sem data
TSA	Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos
UFC	Unidade Formadora de Colônias
v/v	volume por volume ou, 10 mL em 100 mL
µL	Microlitros

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1	Meliponicultura e a importância das abelhas nativas	18
2.2	Descrição das espécies Jataí e Mandaçaia	18
2.3	Própolis de Jataí e Mandaçaia: características físico-químicas e microbiológicas	20
2.4	Legislação brasileira para a própolis das abelhas nativas	21
2.5	Diferenciação das bactérias e resistência antimicrobiana	23
3	OBJETIVOS	25
3.1	Objetivo geral	25
3.2	Objetivos específicos.....	25
4	JUSTIFICATIVA	26
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
5.1	Obtenção dos extratos da própolis	27
5.2	Preparo dos inóculos microbianos	27
5.3	Estudo da atividade antimicrobiana dos extratos de própolis por ensaio de disco-difusão	28
5.4	Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	28
5.5	Caracterização físico-química de identidade e qualidade dos extratos de própolis	29
5.6	Análises estatísticas	29
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
6.1	Atividade antibacteriana dos extratos por ensaio de disco-difusão dos extratos de própolis	31
6.2	Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos de própolis	32
6.3	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos de própolis	34
6.4	Análises físico-químicas dos extratos de própolis.....	36
7	CONCLUSÃO.....	39

8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
	APÊNDICE 1 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA POR ENSAIO DE DISCO-DIFUSÃO PARA OS MICRORGANISMOS GRAM-POSITIVOS	49
	APÊNDICE 2 – CBM PARA AS BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS	52
	APÊNDICE 3 – CBM PARA AS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS	60
	APÊNDICE 4 – DETERMINAÇÃO DA CIM UTILIZANDO A RESAZURINA COMO INDICADOR DE VIABILIDADE CELULAR.....	71

1 INTRODUÇÃO

Espécies de abelhas nativas das Américas estão sujeitas às práticas de manejo desde os tempos das civilizações pré-colonização europeia. Essa relação é tão íntima que comumente essas abelhas são chamadas de abelhas indígenas (SALATINO; PEREIRA; SALATINO, 2019). O grupo *Meliponini* abriga cerca de 400 espécies catalogadas na região Neotropical (Américas do Sul e Central), e correspondem a cerca de metade dos animais que polinizam as plantas tropicais (BARBOSA *et al.*, 2017; CAMARGO; OLIVEIRA; BERTO, 2017; KOSER *et al.*, 2020; POPOVA; TRUSHEVA; BANKOVA, 2021).

A Meliponicultura, que consiste na criação de abelhas sem ferrão, cresceu muito nos últimos anos no Brasil por causa do investimento em pesquisa e melhoramento das técnicas de manejo (KOSER *et al.*, 2020). O foco dos produtores de abelhas sem ferrão ainda é a produção de mel, porém além do mel, essas abelhas possuem outros produtos com potencial interessante, como o pólen, a cera e a própolis (VENTURIERI *et al.*, 2012).

A própolis é uma substância natural produzida pelas abelhas a partir da coleta de secreções resinosas de diferentes tipos de plantas, com adição de enzimas salivares e cera em sua composição, visando vedar e proteger as colmeias de organismos invasores (BAYRAM *et al.*, 2018). Diversas propriedades biológicas são atribuídas à própolis, dentre elas um potencial de atividade antimicrobiana que vem sendo amplamente estudado (ANDRADE *et al.*, 2017).

As própolis das abelhas sem ferrão têm composição química variável de acordo com espécie da abelha e principalmente fonte vegetal (especificidade da flora local e época de colheita). Sendo assim, a composição química da própolis influencia sua atividade biológica (SANCHES *et al.*, 2017).

Amplamente distribuída no território brasileiro, a meliponínea da espécie *Tetragonisca angustula*, conhecida popularmente por Jataí, é uma das espécies mais abundantes nos neotrópicos. É considerada uma espécie de pequeno porte, importante para os ecossistemas devido seu alto potencial polinizador e considerada alvo de pesquisas científicas pela produção de mel e própolis com relevantes propriedades medicinais (DOS SANTOS *et al.*, 2017; JACOB *et al.*, 2019).

Também bastante distribuída no Brasil, a meliponínea popularmente conhecida como Mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*) é bastante utilizada para produção de mel e é polinizadora dos grandes ecossistemas brasileiros. A abelha Mandaçaia é dócil e de fácil manejo, características que a torna bastante atrativa para a criação em caixas (BARTELLI; SANTOS; NOGUEIRA-FERREIRA, 2014; DOS SANTOS *et al.*, 2017; TOMPOROSKI DITTRICH; SCHUHLI, 2016).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Meliponicultura e a importância das abelhas nativas

Em 1953, Paulo Nogueira Neto, um dos primeiros pesquisadores dos estudos sobre abelhas sem ferrão no Brasil, cunhou o termo meliponicultura, que é dado à criação racional¹ das abelhas sem ferrão (BARBIÉRI; FRANKOY, 2020) e que é associado principalmente às espécies com maior capacidade de fabricar e armazenar mel, como as do gênero *Melipona* (VENTURIERI *et al.*, 2012).

Também conhecidas como “abelhas indígenas” ou “abelhas nativas”, as abelhas sem ferrão possuem um ferrão pequeno, atrofiado, o que as tornam incapazes de ferocar (SILVA; PAZ, 2012). Encontram-se no Brasil mais de 300 espécies catalogadas dessas abelhas que estão distribuídas em 27 gêneros. Por conta da criação racional de várias espécies de abelhas sem ferrão, a região Norte e Nordeste possuem uma maior concentração dessas espécies (LAVINAS *et al.*, 2019; SILVA; PAZ, 2012).

A criação das abelhas sem ferrão surge como uma alternativa, altamente sustentável, para a manutenção e renovação da diversidade genética de plantas, seja em ambientes naturais ou agrícolas (BARBOSA, A. D. L. *et al.*, 2007; VENTURIERI *et al.*, 2012). Infelizmente, por conta da degradação dos ambientes naturais, demasiado uso de agrotóxicos e expansão das zonas urbanas, as abelhas sem ferrão estão em processo de declínio de suas populações (BARBIÉRI; FRANKOY, 2020). Por esse motivo, os meliponários (coleção de ninhos de abelhas sem ferrão) possuem elevada importância, não só pela preservação das colônias, mas também para a polinização das florestas, manutenção da diversidade natural, e ainda, rentabilidade dos criadores (VENTURIERI, 2004).

2.2 Descrição das espécies Jataí e Mandaçaia

¹ Criação racional de abelhas é quando o apicultor não polui o meio ambiente e ainda, gera renda para seu sustento e de sua família (BARBOSA, A. D. L. *et al.*, 2007).

Existem mais de 500 espécies de abelhas sem ferrão espalhadas pelo mundo (ABDULLAH *et al.*, 2020). A espécie *Tetragonisca angustula* é encontrada desde o sul do México até o Sul do Brasil (DOS SANTOS *et al.*, 2017).

A abelha Jataí é de pequeno porte, tendo em média de 4 a 5 mm de comprimento, seu corpo é longo e estreito, possui uma barriga amarelada sendo sua cabeça e tórax preto brilhante (BARREIRAS *et al.*, 2020; DOS SANTOS *et al.*, 2017; FUENMAYOR *et al.*, 2012). É uma espécie fácil de se encontrar porque além de construir suas colmeias em árvores, costuma também construir em buracos nas paredes e em cavidades vazias (VENTURIERI, 2004). O mel e a própolis das abelhas jataí são bastante estudados pela comunidade científica por possuírem relevantes propriedades medicinais (BARREIRAS *et al.*, 2020).

Figura 1 - Abelha Jataí (*Tetragonisca angustula*) em sua colmeia.



FONTE: LAVINAS *et al.*, 2019.

A espécie *Melipona quadrifasciata* é encontrada em diversos estados do Brasil, como Paraíba, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Rio de Janeiro, São Paulo e em regiões secas da Bahia, compreendendo então as regiões Nordeste, Sul e Sudeste do país (DOS SANTOS *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2015; TEIXEIRA *et al.*, 2017). A abelha Mandaçaia tem aproximadamente 11 mm de comprimento, é uma abelha de cor escura, suas colônias possuem entre 500 a 900 indivíduos e, procura fazer suas colmeias em lugares altos,

como em árvores (DOS SANTOS *et al.*, 2017). Em relação à produção de mel, cada colmeia das abelhas Mandaçaia conseguem produzir de 2 a 3 litros de mel por ano tornando-o um produto muito bem valorizado (BRITO *et al.*, 2013).

Figura 2 - Abelha Mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*) em sua colmeia



FONTE: LAVINAS *et al.*, 2019.

2.3 Própolis de Jataí e Mandaçaia: características físico-químicas e microbiológicas

Sobre a definição do conceito de própolis:

O anexo VI, da Instrução Normativa nº 03, de 19 de janeiro de 2001, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, define a própolis como produto oriundo de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, colhidas pelas abelhas, de brotos, flores e exsudados de plantas, nas quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto (BRASIL, 2001, p. 5).

É com a própolis que as abelhas Jataí e Mandaçaia constroem suas colmeias, protegem a entrada das colônias e as fixam nas árvores ou nas cavidades que encontram (MACIEL *et al.*, 2015). Como a própolis é uma mistura de resinas naturais e secreções salivares das abelhas (BARREIRAS *et al.*, 2020; FIKRI *et al.*, 2020), sua composição química depende da vegetação presente ao redor de suas colmeias, o que afeta as características físico-químicas e microbiológicas das própolis (FIANCO *et al.*, 2013; FIKRI *et al.*, 2020; TEIXEIRA *et al.*, 2017).

Abdullah e colaboradores (2020) trouxeram que a composição das própolis também depende da região em que as abelhas se encontram, o que acaba impactando as propriedades microbiológicas das própolis.

Existem diferenças entre as própolis produzidas pelas espécies Jataí e Mandaçaia. A própolis de Jataí é composta por ácidos, terpenóides e flavonoides. Já a própolis de Mandaçaia, é composta por ácidos, ésteres, álcoois, compostos fenólicos, flavonoides, aldeídos, terpenos, hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos. (DOS SANTOS *et al.*, 2017; SANCHES *et al.*, 2017; BITTENCOURT *et al.*, 2015).

Devido a esses componentes presentes nas própolis dessas abelhas, principalmente aos compostos fenólicos e os flavonoides, a própolis possui atividade antitumoral, imunomoduladora, antiviral, antibacteriana, antioxidante, cicatrizante, antileishmania e ainda, propriedades anti-inflamatórias (BARREIRAS *et al.*, 2020; FIANKO *et al.*, 2013; FIKRI *et al.*, 2020; LAVINAS *et al.*, 2019).

As propriedades antissépticas da própolis são tão conhecidas que na antiguidade, era utilizada na medicina e nos medicamentos (ABDULLAH *et al.*, 2020), sendo até hoje vendida em diferentes preparações farmacêuticas para a prevenção de doenças cardíacas, câncer, diabetes e ainda potencializa o sistema imunológico (DOS SANTOS *et al.*, 2017).

Em relação ao mecanismo para inibição das bactérias, Fikri e colaboradores (2020) e Salazar e colaboradores (2018), trazem que a grande quantidade de terpenóides presente na própolis, possui um efeito bacteriostático e bactericida.

Assim, ocorre a lise celular, através da abertura de poros na camada celular. Dessa forma, há um aumento da permeabilidade celular, e todo o líquido intersticial irá sair da célula, tornando inviável a vida celular (FIKRI *et al.*, 2020; SALAZAR *et al.*, 2018).

2.4 Legislação brasileira para a própolis das abelhas nativas

De acordo com Salatino, Pereira e Salatino (2019), a Rússia, a China e o Brasil são os maiores exportadores de própolis a nível mundial. O Brasil exporta cerca de 50 a 100 toneladas por ano sendo que, aproximadamente 75% desse total é exportado para o Japão (DOS SANTOS *et al.*, 2017).

Com o alto valor de mercado, a meliponicultura vem crescendo a cada dia no Brasil (SILVA *et al.*, 2012), principalmente no Estado de Santa Catarina, e de acordo com Koser e colaboradores (2020), cerca de 70 famílias são sustentadas por esse trabalho, criando mais de 10.000 colônias de abelhas sem ferrão.

Segundo Rauber e Ciriato (2017), a meliponicultura gera impacto ambiental positivo, é viável economicamente, é aceita pela sociedade e ainda, faz parte da cultura, sendo então, uma das poucas atividades no mundo que se encaixam nos quatro eixos de sustentabilidade propostos pela Organização das Nações Unidas (ONU)².

Porém, na busca de legislações que definam a identidade e requisitos de qualidade mínimos dos extratos de própolis das abelhas sem ferrão, observa-se que ainda há uma deficiência de políticas públicas voltadas para essa atividade tão grande no território brasileiro (KOSER *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2012).

A Instrução Normativa nº 03, de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geleia Real, Geleia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. O anexo VII dessa Instrução Normativa (BRASIL, 2001), define que o extrato de própolis é um “produto proveniente da extração dos componentes solúveis da própolis em álcool neutro, utilizando processos tecnológicos adequados”.

No Quadro 1, encontram-se as principais características regulamentadas pela IN 03/2001 (BRASIL, 2001), para o extrato de própolis.

QUADRO 1 - Principais características dos extratos de própolis.

Características sensoriais	
Aroma	Depende da origem botânica (pode ser balsâmico e resinoso)
Cor	Variável por conta da origem onde foram coletados os insumos pelas abelhas, podendo ir desde tons de âmbar, para avermelhada e até esverdeada
Sabor	Variável, podendo ser de suave a forte, amargo e picante
Principais requisitos físico-químicos	

² Para Barbière e colaboradores (2020), a meliponicultura se encaixa nos quatro eixos de sustentabilidade proposto pela ONU: Ambiental, o Social, o Cultural e o Econômico pois, alimenta famílias, traz interação social, geração de renda e ainda, impacta positivamente o meio ambiente já que, as abelhas polinizarão as plantas ao redor de suas colmeias.

Principais requisitos físico-químicos	
Extrato seco	Mín. 11% (m/v)
Compostos fenólicos	Mín. 0,50% (m/m)
Atividade de oxidação	Máx. 22 segs.
Teor alcoólico	Máx. 70° GL (v/v)
Acondicionamento	Embalado em material apto bromatologicamente que proteja o produto.
Aditivos	Não deve conter aditivos.

Fonte: Instrução Normativa nº 03, de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Notas: m/v = massa por volume ou seja, 10 mg em 100 mL; m/m = massa por massa ou, 10 mg em 100 mg; v/v = volume por volume ou, 10 mL em 100 mL; ° GL = graus Gay-Lussac.

Através da Resolução nº 496, de 19 de agosto de 2020 (BRASIL, 2020a), o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) regulamenta como deve ser o uso e manejo sustentáveis das abelhas-nativas-sem-ferrão, onde o meliponicultor necessita de autorização de um órgão ambiental competente para exercer sua atividade e ainda, o meliponário deverá ser inscrito no Cadastro Técnico Federal de Atividades Potencialmente Poluidoras ou Utilizadoras de Recursos Ambientais - CTF.

Por fim, há na Câmara dos Deputados o Projeto de Lei nº 4.449-A de 2020 (BRASIL, 2020b), que regulamenta o transporte das colmeias das abelhas-nativas-sem-ferrão, e fala sobre a comercialização dos produtos e subprodutos oriundos da meliponicultura mas, que ainda não foi aprovado.

2.5 Diferenciação das bactérias e resistência antimicrobiana

As bactérias são microrganismos unicelulares que se reproduzem por divisão celular e possuem uma estrutura relativamente simples (DIK; FISHER; MOBASHERY, 2018; MURRAY, 2018). Em 1844, o dinamarquês Hans Christian Joachim Gramem, observando as estruturas da parede celular das bactérias, desenvolveu a coloração de Gram que colore de roxo as bactérias Gram-positivas e de rosa, as Gram-negativas (ANDREA; VILLALOBOS, 2014).

A parede celular tanto das bactérias Gram-positivas quanto das Gram-negativas é formada por uma camada de peptidoglicanos, porém nas bactérias Gram-negativas, essa camada é bem mais fina e está unida por lipoproteínas à uma

membrana externa sobrejacente (MURRAY, 2018; ANDREA; VILLALOBOS, 2014; DIK; FISHER; MOBASHERY, 2018).

Muitas bactérias, sejam Gram-positivas ou Gram-negativas, são patogênicas aos humanos (DIK; FISHER; MOBASHERY, 2018) podendo causar sepse, infecções cardiovasculares, infecções do trato urinário, infecções de ouvidos, olhos do sistema-nervoso-central, gastrointestinais, genitais e até mesmo, infecções ósseas (MURRAY, 2018; DE CASTRO, 2019).

Os antimicrobianos são utilizados em larga escala para o tratamento das doenças infecciosas (BARREIRAS, 2020) porém, seu uso excessivo pode causar resistência antimicrobiana, um fenômeno natural que ocorre quando os microrganismos desenvolvem mecanismos de combate quando são expostos repetidas vezes aos antimicrobianos (Organização Pan-Americana da Saúde; DIK; FISHER; MOBASHERY, 2018; BARREIRAS, 2020; FICA, 2014; MOTA; DE OLIVEIRA; SOUTO, 2018).

Algumas cepas de bactérias Gram-positivas como *Streptococcus pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*, já desenvolveram mecanismos de resistência aos antimicrobianos, principalmente à classe dos beta-lactâmicos (FICA, 2014; BARREIRAS, 2020). Como principal causa das infecções que estão presentes no ambiente hospitalar, os microrganismos Gram-negativos como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* (BARREIRAS, 2020; FICA, 2014), já apresentam resistência à vários antimicrobianos por exemplo, as penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos, dificultando assim, o tratamento das infecções (BARREIRAS, 2020; FICA, 2014; MOTA; DE OLIVEIRA; SOUTO, 2018).

Devido ao avanço dos mecanismos de resistências dos microrganismos aos antibióticos já existentes, novas estratégias para busca de potenciais agentes antimicrobianos com menor toxicidade e maior eficácia, se fazem necessárias para auxiliar os profissionais de saúde e ampliar as alternativas de combate à infecções potencialmente graves (NAVARRO-PÉREZ, 2021; OSTROSKY, 2008; VERAS; NASCIMENTO, 2020).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo determinar atividade antimicrobiana e características físico-químicas de extratos de própolis das abelhas sem ferrão Jataí e Mandaçaia.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar estudo da atividade antimicrobiana dos extratos de própolis empregando ensaio de difusão em disco;
- Determinar a Concentração Bactericida Mínima (CBM) e a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos de própolis;
- Determinar as características físico-químicas dos extratos de própolis

4 JUSTIFICATIVA

A fonte vegetal é o principal determinante da composição química da própolis e influencia sua atividade biológica. As diferentes própolis brasileiras possuem propriedades biológicas e composição química distintas. Tal variação é explicada pela vasta biodiversidade brasileira, bem como, até certo ponto, a capacidade das abelhas em modificar e adicionar seus componentes próprios à própolis. Na literatura, está descrito que a própolis possui várias atividades terapêuticas como antitumoral, imunomoduladora, antiviral, antibacteriana, antioxidante, cicatrizante, antileishmania e ainda, propriedades anti-inflamatórias. Diante das propriedades biológicas evidenciadas das diferentes própolis brasileiras, este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana e as características físico-químicas de extratos de própolis das abelhas sem ferrão Jataí e Mandaçaia.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Obtenção dos extratos da própolis

No total, cinco extratos de própolis (EP) foram avaliados. Duas amostras de própolis *in natura* (um EP de Mandaçaia e um EP de Jataí), foram obtidas em meliponários localizados na região Sul do Brasil. Para obtenção do EP, 30g das amostras foram trituradas com auxílio do almofariz com pistilo; o material triturado foi embebido em 100mL de solvente etanol 96°GL, e sob agitação mecânica ocorreu a extração em temperatura ambiente (agitação contínua por 2 horas). Posteriormente, a solução foi filtrada e acondicionada em frasco de vidro de coloração âmbar, devidamente higienizado, tendo como concentração final, 30% p/v de EP. Todo o processo foi realizado no Laboratório de Controle de Qualidade da Universidade Federal de Brasília, Faculdade de Ceilândia. As outras três amostras de EP utilizadas, são extratos alcoólicos comerciais obtidos de meliponários do Centro-Oeste e Sul do Brasil (Quadro 2).

QUADRO 2 - Amostras de extratos de própolis.

Amostras	Sigla	Tipo	Procedência
1 Jataí	1 PR / J	Própolis bruta	Paraná
2 Jataí	2 DF/ JPC	Extrato comercial	Distrito Federal
3 Mandaçaia	3 SC / M	Própolis bruta	Santa Catarina
4 Mandaçaia	4 DF / MPC	Extrato comercial	Distrito Federal
5 Mandaçaia	5 RS / MM	Extrato comercial	Rio Grande do Sul

Fonte: autoria própria, 2023.

5.2 Preparo dos inóculos microbianos

Os inóculos utilizados foram bactérias Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1706, *Salmonella enterica* ATCC 14028 e *Escherichia coli* ATCC 25922) e bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 14579 e *Streptococcus*

mutans ATCC 25175). Os inóculos foram preparados através de suspensão direta do crescimento microbiano em caldo Luria Bertani (LB) com turvação equivalente à 0,5 da escala de Mc Farland ($1,0 \times 10^6$ - $1,0 \times 10^8$ UFC/mL) sendo ajustada entre 0,08 – 0,10 de densidade óptica a 625 nm em espectrofotômetro.

5.3 Estudo da atividade antibacteriana dos extratos de própolis por ensaio de disco-difusão

O método de ensaio de disco-difusão foi realizado utilizando protocolo recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012). Para realizar o ensaio de disco-difusão, utilizou-se inóculo das bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 14579 e *Streptococcus mutans* ATCC 25175). Com auxílio de alça bacteriológica, o inóculo bacteriano foi semeado na superfície de uma placa de ágar Muller-Hinton, até a obtenção de um espalhamento uniforme. Após a secagem do inóculo, foram aplicados discos de papel de filtro, com 6 mm de diâmetro, impregnados com 20 µL dos EP. Os testes foram realizados em triplicata e as leituras foram realizadas após 24 horas de incubação à 37°C, por meio da medição dos halos de inibição do crescimento em milímetros de diâmetro.

5.4 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) é definida como a menor concentração de um agente antimicrobiano capaz de reduzir a contagem microbiana em 99,9% (CLSI, 1999). Foram realizadas diluições em caldo LB dos inóculos na concentração de 0,5 na escala de Mc Farland na ordem de 1:150, resultando em uma concentração de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL. Então, adicionou-se em tubos tipo eppendorff 0,2 mL do inóculo na concentração de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL e 0,2 mL das diferentes concentrações de EP, resultando em uma concentração final de bactérias de $5,0 \times 10^5$ UFC/mL. Como controle positivo (com crescimento das bactérias), utilizou-se 0,2 mL do inóculo na concentração de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL e 0,2 mL de caldo LB. Como controle negativo (inibição do crescimento das bactérias), 0,2 mL do inóculo na concentração

de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL e 0,2 mL de EP. Os tubos foram incubados à 37°C por 18 horas e então as diluições foram plaqueadas em ágar Mueller-Hinton e incubadas à 37°C por 18 a 24 horas. Assim, a CBM foi determinada na menor concentração dos extratos de própolis onde não foram observadas colônias nas placas.

A metodologia para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi modificada de acordo com Ristivojević e colaboradores (2018), e após o período de incubação das diferentes diluições do agente antimicrobiano com o inóculo bacteriano, o método colorimétrico da resazurina sódica à 0,01% foi utilizado. Para tanto, utilizando placas de poços com correta identificação de todos os poços, inclusive o campo positivo (+) e negativo (-), transferiu-se 100 µL de cada teste. Após, aplicou-se 20 µL da solução de resazurina em cada teste, para ser possível a realização da leitura visual dos resultados, em que a cor azul caracteriza a inatividade bacteriana e a cor rosa, o crescimento das bactérias. Portanto, a CIM foi definida como a menor concentração dos extratos de própolis que inibem o crescimento microbiano e apresentam cor azul na presença da resazurina.

5.5 Caracterização físico-química de identidade e qualidade dos extratos de própolis

As amostras foram colocadas em cadinhos (previamente secos e pesados) e mantidas em estufa à 105°C até se obter peso constante, sendo determinado o teor de extrato seco (IAL, 2008). Esta análise foi realizada em triplicata e o teor de resíduo seco (sólidos solúveis em etanol) foi calculado pela razão entre a massa de resíduo depositada no cadinho e a massa inicial de própolis bruta extraída, em porcentagem. Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Denis (FOLIN & DENIS, 1912). A atividade antioxidante *in vitro* foi determinada pelos métodos de redução dos radicais 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) (KIM *et al.*, 2002) e ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS) (RE *et al.*, 1999).

5.6 Análises estatísticas

Os resultados foram expressos como média de análises em triplicata. O valor de *p* calculado foi obtido por meio do teste de ANOVA não pareado e quando as

médias foram significativamente diferentes a $p < 0,05$, o teste de *Tukey* foi usado para comparação das médias. O coeficiente de variação foi determinado, em porcentagem, a fim de analisar a dispersão dos dados em torno da média. Os dados foram analisados com uso do software STATISTICA[®], versão 10.0.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Atividade antibacteriana dos extratos por ensaio de disco-difusão dos extratos de própolis

Para os ensaios de disco-difusão, foram avaliadas cinco amostras de EP, sendo duas das amostras (Jataí e Mandaçaia) *in natura* e três amostras comerciais (duas Mandaçaia e uma Jataí). As amostras são provenientes da região Sul (Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul) e Centro-Oeste (Distrito Federal) do Brasil. Das cinco amostras analisadas, apenas os EP de Mandaçaia (M, MPC e MM) apresentaram halo de inibição microbiana (19-68 mm) para as bactérias *S. aureus*, *B. cereus* e *S. mutans* (Tabela 1), mostrando que no teste de disco-difusão, os EP de Mandaçaia apresentaram maior atividade antibacteriana em relação aos EP de Jataí.

TABELA 1 - Atividade antibacteriana dos extratos de própolis, expressa em diâmetro dos halos (mm), obtida através do ensaio de disco-difusão.

Amostras de própolis Procedência / Tipo	Extrato	Bactérias Gram-positivas		
		<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. mutans</i>
1 PR / J	<i>in natura</i>	N	N	N
2 DF / JPC	comercial	N	N	N
3 SC / M	<i>in natura</i>	19,00±0,01 ^a	23,00±0,01 ^a	24,00±0,14 ^a
4 DF / MPC	comercial	68,00±0,91 ^b	30,00±0,14 ^b	30,00±0,14 ^b
5 RS / MM	comercial	26,00±0,01 ^c	N	24,00±0,14 ^a

Fonte: autoria própria, 2023.

Notas: N = não houve halo de inibição microbiana, PR = Paraná, SC = Santa Catarina, DF = Distrito Federal, RS = Rio Grande do Sul. J = Jataí (PR), JPC = Jataí (DF), M = Mandaçaia (SC), MPC = Mandaçaia (DF), MM = Mandaçaia (RS). Os resultados foram expressos como médias dos diâmetros dos halos (mm) ± desvio padrão de três repetições. As médias na mesma coluna com letras distintas (a, b e c) apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

O EP de Mandaçaia proveniente do Distrito Federal (MPC) apresentou a maior atividade antibacteriana contra as bactérias *S. aureus*, *B. cereus* e *S. mutans* (halos

de inibição de 68,00; 30,00 e 30,00 mm, respectivamente). Dentre os EP de Mandaçaia, a amostra comercial do RS (MM) se mostrou menos eficaz, pois não houve atividade antibacteriana contra *B. cereus*.

Provavelmente o EP de Mandaçaia proveniente do Distrito Federal (MPC) apresentou os maiores halos de inibição para as bactérias testadas porque tem uma menor concentração de própolis em sua composição se comparado aos outros EP de mandaçaia, conforme pode ser verificado na Tabela 4 deste estudo. Um ponto importante a ser considerado é que os extratos de própolis apresentam dificuldade de se difundir uniformemente pelo meio de cultura devido à natureza hidrofóbica da própolis, que mesmo em solução alcoólica, precipita ao entrar em contato com meio aquoso, tornando o método de difusão em ágar questionável na determinação da sua atividade antimicrobiana (INOUE et al., 2006).

Os EP de Jataí (JPC e J) não formaram halo de inibição bacteriana. A diferença de ação antibacteriana dos EP de Mandaçaia e Jataí pode ser explicada pela composição das própolis dessas abelhas, que varia de acordo com as espécies de plantas presentes na região em que a colmeia se encontra, influenciando assim, seu potencial de ação antibacteriana (SANCHES et al., 2017; SUREK et al., 2021).

Os EP de Mandaçaia provenientes do estado de Paraná (Brasil) são compostos por ácidos fenólicos, flavonoides, diterpenos, triterpenos, polifenóis e lipídeos fenólicos (SUREK et al., 2021). Dentre os compostos químicos presentes no EP de Jataí, destaca-se os ácidos fenólicos, principalmente o ácido gálico, que é conhecido por suas propriedades antibacterianas (BARREIRAS et al., 2020; PETER, 2015).

Waller et al. (2017) encontraram quantidades bem menores de ácidos fenólicos (3,93%) e flavonoides (2,05%) em EP das abelhas Jataí comparado aos resultados obtidos para os EP verde de *Apis mellifera* (ácidos fenólicos de 41,84% e flavonoides de 11,40%). Os autores concluíram que os EP de Jataí apresentaram atividade antibacteriana, porém bem inferior, quando comparada aos EP verde.

6.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos de própolis

Todos os EP testados no estudo apresentaram CBM frente às bactérias Gram-positivas (0,03-0,50 mg/mL) e frente às bactérias Gram-negativas (0,15-1,00 mg/mL) (Tabela 2).

TABELA 2 - Determinação da concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos de própolis.

Cepas	Amostras de própolis (Procedência / Tipo)				
	CBM (mg/mL)				
	1 PR/J (J)	2 DF/J (JPC)	3 SC/M (M)	4 DF/M (MPC)	5 RS/M (MM)
Gram-positivas					
<i>S. aureus</i>	0,30 ^a	0,50 ^b	0,06 ^c	0,20 ^d	0,30 ^a
<i>S. mutans</i>	0,30 ^a	0,25 ^{a,b}	0,20 ^b	0,25 ^{a,b}	0,20 ^b
<i>B. cereus</i>	0,20 ^a	0,20 ^a	0,03 ^b	0,10 ^c	0,10 ^c
Gram-negativas					
<i>K. pneumoniae</i>	0,30 ^a	0,50 ^b	0,30 ^a	0,30 ^a	0,50 ^b
<i>P. aeruginosa</i>	0,30 ^a	0,30 ^a	0,50 ^b	1,00 ^c	0,20 ^d
<i>S. enterica</i>	0,30 ^a	0,50 ^b	0,30 ^a	0,30 ^a	0,50 ^b
<i>E. coli</i>	0,30 ^a	0,30 ^a	0,50 ^b	0,50 ^b	0,15 ^c

Fonte: autoria própria, 2023.

Notas: PR = Paraná, SC = Santa Catarina, DF = Distrito Federal, RS = Rio Grande do Sul. J = Jataí e M = Mandaçaia. J = Jataí (PR), JPC = Jataí (DF), M = Mandaçaia (SC), MPC = Mandaçaia (DF), MM = Mandaçaia (RS). O valor de *p* calculado foi obtido por meio do teste de ANOVA não pareado. As médias na mesma linha com letras diferentes (*a*, *b* e *c*) são significativamente diferentes a $p < 0,05$ de acordo com o teste de Tukey.

Em relação às bactérias Gram-positivas testadas, o EP *in natura* de Mandaçaia (M/SC) apresentou os menores valores de CBM para *S. aureus* (0,06 mg/mL) e *B. cereus* (0,03 mg/mL). O maior valor de CBM (0,50 mg/mL) para *S. aureus* foi obtido para o EP comercial de Jataí (JPC). Para *S. aureus* e *B. cereus* os EP de Mandaçaia apresentaram menores valores de CBM que os EP de Jataí. Para *S. mutans* os menores valores de CBM (0,20 mg/mL) foram obtidos para o EP *in natura* de Mandaçaia (M/SC) e o EP comercial de Mandaçaia (MM/RS).

Rocha *et al.* (2013) reportaram CBM de 0,34 mg/mL para *S. aureus* ATCC 25923, e esses resultados se aproximam dos valores obtidos no presente estudo para o EP de Jataí (J) e de Mandaçaia (MM), ambos, com CBM de 0,30 mg/mL.

Em relação às bactérias Gram-negativas testadas, a *E. coli* foi mais sensível frente à ação do EP de Mandaçaia (MM/RS), com CBM de 0,15 mg/mL. As bactérias *K. pneumoniae* e *S. enterica* obtiveram valores de CBM de 0,30-0,50 mg/mL para todas os EP testados. A *P. aeruginosa* foi a bactéria mais resistente à ação do EP Mandaçaia do DF (MPC), e obteve o maior valor de CBM (1,00 mg/mL), sendo que o EP de Mandaçaia (MM/RS) obteve o menor valor de CBM para *P. aeruginosa* de 0,20 mg/mL.

6.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos de própolis

Os EP testados no estudo apresentaram CIM frente às bactérias Gram-positivas variando de <0,01-0,40 mg/mL e CIM frente às bactérias Gram-negativas variando de 0,10-0,20 mg/mL (Tabela 3). O EP *in natura* de Mandaçaia (M), proveniente de SC, obteve os menores valores de CIM frente às bactérias Gram-positivas *S. aureus*, *B. cereus* e *S. mutans* (<0,01 mg/mL). O EP comercial de Mandaçaia (MM/RS) também obteve valores de CIM <0,01 mg/mL para *B. cereus* e *S. mutans*. O maior valor de CIM (0,40 mg/mL) para *S. aureus* foi obtido para o EP comercial de Jataí (JPC). *B. cereus* foi o microrganismo mais sensível, com os menores valores de CIM (<0,01 mg/mL a 0,03 mg/mL) para os EP testados.

Os valores de CIM dos EP de Mandaçaia foram menores que dos EP de Jataí frente às bactérias Gram-positivas *S. aureus*, *B. cereus* e *S. mutans*. Isso se deve muito provavelmente às diferenças de composição dessas própolis que varia conforme as plantas encontradas ao redor das colmeias das abelhas, dependendo da região, clima e tipo de abelha que as polinizam (ABDULLAH *et al.*, 2020; TEIXEIRA *et al.*, 2017).

Em relação às bactérias Gram-negativas, o EP *in natura* de Mandaçaia (M), proveniente de SC, obteve o menor valor de CIM frente a *E. coli* (0,03 mg/mL). *E. coli* foi o microrganismo mais sensível à ação dos EP, com CIM entre 0,03 mg/mL e 0,08 mg/mL. Os EP M, MM e JPC obtiveram o menor valor de CIM (0,13 mg/mL) para *K.*

pneumoniae. Os EP MPC e MM e obtiveram os menores valores de CIM (0,08 e 0,10 mg/mL) para *P. aeruginosa*. E os EP MPC e M obtiveram os menores valores de CIM (0,10 e 0,13 mg/mL) para *S. enterica*.

TABELA 3 - Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos de própolis.

Cepas ATCC	Amostras de própolis (Procedência/ Tipo)				
	CIM (mg/mL)				
	1 PR/J (J)	2 DF/J (JPC)	3 SC/M (M)	4 DF/M (MPC)	5 RS/M (MM)
Gram-positivas					
<i>S. aureus</i>	0,13 a	0,40 b	< 0,01 c	0,06 d	0,02 e
<i>S. mutans</i>	0,06 a	0,08 a	< 0,01 b	0,03 c	< 0,01 b
<i>B. cereus</i>	0,03 a	0,03 a	< 0,01 b	< 0,01 b	< 0,01 b
Gram-negativas					
<i>K. pneumoniae</i>	0,20 a	0,13 b	0,13 b	0,20 a	0,13 b
<i>P. aeruginosa</i>	0,13 a	0,13 a	0,13 a	0,08 b	0,10 b
<i>S. enterica</i>	0,20 a	0,20 a	0,13 b	0,10 b	0,20 a
<i>E. coli</i>	0,10 a	0,08 a	0,03 b	0,08 a	0,10 a

Fonte: autoria própria, 2023.

Notas: PR = Paraná, SC = Santa Catarina, DF = Distrito Federal, RS = Rio Grande do Sul. J = Jataí e M = Mandaçaia. J = Jataí (PR), JPC = Jataí (DF), M = Mandaçaia (SC), MPC = Mandaçaia (DF), MM = Mandaçaia (RS). O valor de *p* calculado foi obtido por meio do teste de ANOVA não pareado. As médias na mesma linha com letras diferentes (*a*, *b* e *c*) são significativamente diferentes a $p < 0,05$ de acordo com o teste de *Tukey*.

Veloz *et al.* (2015), estudaram três amostras de EP chilenas ricas em polifenóis, identificadas como CEP1, CEP2 e CEP3, e encontraram valor de CIM <0,001 mg/mL para *S. mutans*. Alaerjani *et al.* (2022), analisaram própolis coletadas de 25 colmeias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*), localizadas na Arábia, e o extrato alcoólico de própolis apresentou CIM de 1,25 mg/mL para *E. coli* e *S. aureus*.

Peter (2015) relatou para própolis de Jataí, CIM de 67,1 mg/mL para *E. coli* e CIM de 30,7 mg/mL para *S. aureus*. Dos Santos *et al.* (2017) observaram para EP de

Mandaçaia, CIM de >1 mg/mL para *E. coli*, 0,5 mg/mL para *P. aeruginosa* e 0,25 mg/mL para *S. aureus*.

Com exceção do EP comercial de Jataí (JPC) (valor de CIM de 0,40 mg/mL para *S. aureus*), os EP apresentaram menores valores de CIM para as bactérias Gram-positivas em comparação com as Gram-negativas. De Pontes *et al.* (2018) descrevem que a ruptura da membrana citoplasmática (lise celular) das bactérias pelos EP, podem ser causados por inibição da topoisomerase, que inibirá a síntese de ácido nucleotídico, além de inibir a formação de biofilme e inibir a NADH-citocromo c redutase.

É possível que a diferença de CIM para as bactérias ocorra por conta das diferenças das paredes bacterianas, assim, bactérias Gram-positivas possuem uma densa camada de peptidoglicanos, mas, com baixa lipofilicidade, o que ajuda na permeabilidade da própolis na parede bacteriana causando lise celular (ANDREA; VILLALOBOS, 2014; DIK; FISHER; MOBASHERY, 2018; MURRAY, 2018). Já as bactérias Gram-negativas, também possuem essa camada de peptidoglicanos, porém, bem mais fina e com uma estrutura bem complexa, pois está ligada, por lipoproteínas, à uma outra membrana externa sobrejacente (ANDREA; VILLALOBOS, 2014; DIK; FISHER; MOBASHERY, 2018; MURRAY, 2018), dificultando assim, a permeabilidade da própolis na membrana celular, tornando-as menos sensíveis à sua ação inibitória.

Pesquisadores, buscam novos usos para os EP que auxiliem no tratamento de infecções causadas por bactérias ou, que maximize os tratamentos já existentes (AL-WAILI, 2018; LIEW *et al.*, 2022; WIECZOREK *et al.*, 2022). Al-waili (2018) concluíram que a junção de dois EP diferentes, potencializa a ação antibacteriana do EP, pois a junção foi capaz de inibir todos os microrganismos testados em seu estudo.

Por fim, Wieczorek *et al.* (2022), fizeram um levantamento de literatura com os principais achados de atividade antimicrobiana, composição das própolis e seus usos, objetivando trazer à indústria farmacêutica uma base para produção e desenvolvimento de produtos como sprays, cremes, comprimidos e cápsulas, além de enxaguantes e cremes dentais, usando a própolis como princípio ativo.

6.4 Análises físico-químicas dos extratos de própolis

A Tabela 4 apresenta os resultados da caracterização físico-química dos EP de Jataí e Mandaçaia obtidos no estudo.

TABELA 4 - Análises físico-químicas dos extratos de própolis.

Amostras de própolis Procedência/ Tipo	Extrato Seco (% m/v)	Compostos Fenólicos (% m/m)	TEAC_{DPPH} (mM/mg)	TEAC_{ABTS} (mM/mg)
1 PR/J (J)	16,43±0,18 a	N	0,20±0,04 a	2,22±0,14 a
2 DF/J (JPC)	2,61±0,43 b	N	0,12±0,03 b	1,88±0,39 a
3 SC/M (M)	12,09±2,06 c	0,73±0,07 a	17,14±0,38 c	42,33±4,54 b
4 DF/M (MPC)	2,56±0,48 d	0,88±0,02 a	1,62±0,02 d	35,32±7,45 c
5 RS/M (MM)	15,54±0,58 a	2,56±0,13 b	71,28±0,70 e	148,20±1,41 d
Valores de referência	Mínimo 11,00%	Mínimo 0,50%	-	-

Fonte: autoria própria, 2023; Valores de referência (BRASIL, 2001).

Notas: N = não foi possível realizar método de quantificação. PR = Paraná, SC = Santa Catarina, DF = Distrito Federal, RS = Rio Grande do Sul. J = Jataí e M = Mandaçaia. J = Jataí (PR), JPC = Jataí (DF), M = Mandaçaia (SC), MPC = Mandaçaia (DF), MM = Mandaçaia (RS). Atividade antioxidante em equivalente em Trolox (TEAC), expressa em milimolar por miligrama de amostra (mM/mg). Os resultados foram expressos como média de análises em triplicata ± desvio padrão. As médias na mesma coluna com letras diferentes (*a*, *b* e *c*) são significativamente diferentes a $p < 0,05$ de acordo com o teste de *Tukey*.

A Instrução Normativa nº 03, de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), que traz as principais características dos EP, define que a própolis deverá ter no mínimo 11% (m/v) de extrato seco. Os EP de Jataí e Mandaçaia provenientes do Distrito Federal (JPC e MPC) apresentaram extrato seco de 2,61% m/v e 2,56% m/v, valores muito abaixo do mínimo de 11% m/v, e assim, não estão de acordo com o valor

estabelecido pela legislação. Os demais EP tiveram valores de 12,09% m/v a 16,43% m/v, mostrando que foram elaborados com pelo menos 30% de própolis *in natura*.

Em relação aos compostos fenólicos, o valor mínimo estabelecido pela legislação é de 0,50% m/m e, todos os EP de Mandaçaia (M, MPC e MM), apresentaram valores superiores a 0,70% m/m, estando dentro do que a legislação preconiza. Os EP de Jataí não apresentaram compostos fenólicos na metodologia testada.

Todas as amostras de EP apresentaram atividade antioxidante. Os EP de Jataí apresentaram menor ação antioxidante quando comparadas aos EP de Mandaçaia. O EP de Mandaçaia do RS (MM), obteve a maior concentração de compostos fenólicos (2,56% m/m) e a maior atividade antioxidante (71,28mM/mg DPPH) e (148,20mM/mg ABTS), evidenciando uma relação positiva entre o aumento de compostos fenólicos e, ação antioxidante dos EP.

Ao contrário do presente estudo, Devequi-Nunes *et al.* (2018), analisando características físico-químicas de EP verde, vermelha e marrom de diferentes estados do Brasil, encontraram compostos fenólicos de 24,9% m/m para própolis marrom, 37,4% m/m para própolis verde e, 48,1% m/m para própolis vermelha. Também analisaram a ação antioxidante usando DPPH e, para a própolis marrom encontraram 159,74mM/mg, para própolis verde, 133,25mM/mg e, para própolis vermelha, 89,90mM/mg.

É importante analisar as características físico-químicas dos extratos de própolis, pois assim pode-se conhecer ainda mais as preferências das espécies das abelhas e ainda, saber como será a eficácia da própolis frente aos microrganismos ou situação a ser usada.

Atualmente, não existem estudos suficientes na literatura que pesquisem EP de abelhas sem ferrão, principalmente de Jataí e Mandaçaia e que, utilizem bactérias Gram-positivas e Gram-negativas utilizadas nesse estudo. Portanto, vale ressaltar a característica inovadora do presente estudo.

Os diferentes resultados encontrados entre as própolis se dão devido aos locais de coleta pelas abelhas de material para a confecção da própolis e ainda, às diferenças biológicas existentes entre as abelhas (TORRES *et al.*, 2018).

7 CONCLUSÃO

Todos os EP de Jataí e Mandaçaia apresentaram ação antibacteriana frente às bactérias Gram-positivas e Gram-negativas testadas no presente estudo. Devido à lise que a própolis causa na parede celular das bactérias e ainda, devido às diferenças da parede celular existentes entre elas, as bactérias Gram-positivas foram mais sensíveis à ação das amostras de EP quando comparadas às Gram-negativas. Os EP de Mandaçaia possuem compostos fenólicos que dão a elas propriedades antioxidantes e antimicrobianas, sendo então os EP de Mandaçaia mais eficazes nos testes de atividade antibacteriana em relação aos EP de Jataí.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, N. A. *et al.* Phytochemicals, mineral contents, antioxidants, and antimicrobial activities of propolis produced by Brunei stingless bees *Geniotrigona thoracica*, *Heterotrigona itama*, and *Tetrigona binghami*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 11, p. 2902- 2911, 2020.

ALAERJANI, W. M. A. *et al.* Chemical Profiling, Antioxidant, and Antimicrobial Activity of Saudi Propolis Collected by Arabian Honey Bee (*Apis mellifera jemenitica*) Colonies. **Antioxidants**, v. 11, n. 7, p. 1413, 2022.

AL-WAILI, N. Mixing two different propolis samples potentiates their antimicrobial activity and wound healing property: A novel approach in wound healing and infection. **Veterinary world**, v. 11, n. 8, p. 1188, 2018.

ANDRADE, J. K. S.; DENADAI, M.; DE OLIVEIRA, C. S.; NUNES, M. L.; NARAIN, N. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, p. 129–138, 2017.

ANDREA, M. P. M.; VILLALOBOS, C. G. Bacterias gram negativas. **Revista de Actualización Clínica Investiga**, v. 49, p. 2609, 2014.

BARBIÉRI, C.; FRANCOY, T. M. Modelo teórico para análise interdisciplinar de atividades humanas: A meliponicultura como atividade promotora da sustentabilidade. **Ambiente & Sociedade**, v. 23, 2020.

BARBOSA, A. D. L. *et al.* Criação de abelhas (apicultura). **EMBRAPA**. 2007. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/11943/2/00081610.pdf>>. Acesso em: 11 fev. 2023.

BARBOSA, D. B. *et al.* As abelhas e seu serviço ecossistêmico de polinização. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v. 3, n. 4, p. 694-703, 2017.

BARREIRAS, D. G. *et al.* Eficácia da ação antimicrobiana do extrato de própolis de abelha jataí (*Tetragonisca angustula*) em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 12, p. 1-5, 2020.

BARTELLI, B. F.; SANTOS, A. O. R.; NOGUEIRA-FERREIRA, F. H. Colony performance of *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Meliponina) in a greenhouse of *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). **Sociobiology**, v. 61, n. 1, p. 60–67, 2014.

BAYRAM, N. E. *et al.* Chemical characterization of 64 propolis samples from Hakkari, Turkey. **Records of Natural Products**, v. 12, n. 6, p. 569 - 581, 2018.

BITTENCOURT, M. L. F. *et al.* Metabolite profiling, antioxidant and antibacterial activities of Brazilian propolis: Use of correlation and multivariate analyses to identify potential bioactive compounds. **Food Research International**, v. 76, p. 449-457, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 03, de 19 jan. 2001. **Regulamento Técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 jan. 2001.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente / Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 496, de 19 ago. 2020. **Disciplina o uso e o manejo sustentáveis das abelhas-nativas-sem- ferrão em meliponicultura**. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 20 ago. 2020a.

BRASIL. Câmara dos Deputados. Projeto de Lei nº 4.429-A, de 2020. **Criação, manejo, o transporte e o comércio de colônias de abelhas nativas sem ferrão, ou de suas partes, e dos produtos, subprodutos e serviços oriundos da Meliponicultura**. Brasília: Câmara dos Deputados, 2020b.

BRITO, B. B. P. *et al.* Parâmetros biométricos e produtivos de colônias em gerações de melipona *Quadrifasciata anthidioides*. **Archivos de zootecnia**, v. 62, n. 238, p. 265-273, 2013.

CAMARGO, R. C. R.; OLIVEIRA, K. L.; BERTO, M. I. Stingless bee honey: technical regulation proposal. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, n. e2016157, p. 1-6, 2017.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; Approved Guideline M26-A Wayne, Pennsylvania, USA, 1999.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard, Eleventh Edition. CLSI document M02-A1, Wayne, Pennsylvania, USA, 2012.

DE CASTRO, B. G. Prevalência de bactérias Gram-positivas em infecção do trato urinário. **RBAC**, Goiânia, v. 51, n. 4, p. 322-7, 2019.

DE PONTES, M. L. C. *et al.* Chemical characterization and pharmacological action of Brazilian red propolis. **Acta Brasiliensis**, v. 2, n. 1, p. 34-39, 2018.

DEVEQUI-NUNES, Danielle *et al.* Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. **PLoS One**, v. 13, n. 12, p. e0207676, 2018.

DIK, D. A.; FISHER, J. F.; MOBASHERY, S. Cell-wall recycling of the Gram-negative bacteria and the nexus to antibiotic resistance. **Chemical reviews**, v. 118, n. 12, p. 5952-5984, 2018.

DOS SANTOS, L. *et al.* Chemical characterization, antioxidant, cytotoxic and antibacterial activity of propolis extracts and isolated compounds from the Brazilian

stingless bees *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula*. **Journal of Apicultural Research**, v. 56, n. 5, p. 543- 558, 2017.

FIANCO, A. B. L. *et al.* Determinação da atividade antimicrobiana e teor de polifenóis totais de extratos etanólicos de própolis das abelhas sem ferrão *Tetragonisca angustula* (Jataí) e *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna). **Revista Liberato (Novo Hamburgo)**, 2013.

FICA, C. A. Resistencia antibiótica en bacilos gram negativos, cocáceas gram positivas y anaerobios. Implicancias terapéuticas. **Revista Médica Clínica Las Condes**, v. 25, n. 3, p. 432-444, 2014.

FIKRI, A. M. *et al.* Stingless bees and *Mangifera indica*: A close relationship? **Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR) [Formerly Natural Product Radiance (NPR)]**, v. 11, n. 2, p. 130-134, 2020.

FOLIN, O.; DENIS, W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. **The Journal of Biological Chemistry**, v. XII, p. 239-243, 1912.

FUENMAYOR, C. A. *et al.* 'Miel de Angelita': nutritional composition and physicochemical properties of *Tetragonisca angustula* honey. **Interciencia**, v. 37, n. 2, p. 142-147, 2012.

IAL, Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 1. ed. digital São Paulo: IMESP, 2008. Disponível em: http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf

INOUE, S.; UCHIDA, K.; MARUYAMA, N.; YAMAGUCHI, H.; ABE, S. A novel method to estimate the contribution of the vapor activity of essential oils in agar diffusion assay. **Japanese Journal of Medical Micrology**, v.47, n.2, 2006.

JACOB, C. R. O.; ZANARDI, O. Z.; MALAQUIAS, J. B.; SILVA, C. A. S.; YAMAMOTO, P. T. The impact of four widely used neonicotinoid insecticides on *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Hymenoptera: Apidae). **Chemosphere**, v. 224. p. 65–70, 2019.

KIM, D-O.; LEE, K.W.; LEE, H.J.; LEE, C.Y. Vitamin C equivalent antioxidant capacity of phenolics phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3713-3717, 2002.

KOSER, J. R. *et al.* Legislação sobre meliponicultura no Brasil: demanda social e ambiental. **Sustainability in Debate**, v. 11, n.1, p. 179-194, 2020.

LAVINAS, F. C. *et al.* Brazilian stingless bee propolis and geopropolis: promising sources of biologically active compounds. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 389-399, 2019.

LIEW, K. Y. *et al.* Anti-allergic properties of propolis: Evidence from preclinical and clinical studies. **Frontiers in pharmacology**, v. 12, p. 4027, 2022.

MACIEL, C. R. *et al.* Atividade antimicrobiana da geoprópolis da abelha jataí (*Tetragonisca angustula*) contra bactérias isoladas em leite de vacas mestiças leiteiras com mastite. **Archives of Veterinary Science**, v. 20, n. 2, 2015.

MOTA, F. S.; DE OLIVEIRA, H. A.; SOUTO, R. C. F. Perfil e prevalência de resistência aos antimicrobianos de bactérias Gram-negativas isoladas de pacientes de uma unidade de terapia intensiva. **RBAC**, v. 50, n. 3, p. 270-277, 2018.

MURRAY, P. R. **Microbiologia Médica Básica**. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, Grupo GEN, 2018.

NAVARRO-PÉREZ, M. L. *et al.* Antimicrobial activity of a novel Spanish propolis against planktonic and sessile oral *Streptococcus* spp. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2021.

OKIŃCZYC, Piotr *et al.* Antimicrobial activity of *Apis mellifera* L. and *Trigona* sp. propolis from Nepal and its phytochemical analysis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 129, p. 110435, 2020.

OLIVEIRA, K. N. *et al.* Parâmetros genéticos para características produtivas e biométricas em abelha melipona *Quadrifasciata anthidioides* LEPELETIER. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 819-826, 2015.

Organização Pan-Americana da Saúde. **OPAS/OMS: Resistência Antimicrobiana**, [s.d.]. Disponível em: < <https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>>. Acesso em: 11 nov. 2022.

OSTROSKY, E. A. *et al.* Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 301-307, 2008.

PETER, C. M. **Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de própolis marrom, verde e de abelhas jataí (*Tetragonisca angustula*) frente a micro-organismos infecciosos de interesse em Medicina Veterinária e Humana**. 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas.

POIREL, L. *et al.* Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 4, p. 6.4. 14, 2018.

POPOVA, M.; TRUSHEVA, B.; BANKOVA, V. Propolis of stingless bees: A phytochemist's guide through the jungle of tropical biodiversity. **Phytomedicine**, v. 86, p. 153098, 2021.

RAUBER, T. A.; CIRIATO, A. **Meliponicultura e seus desafios: Proposta de uma nova alternativa com sustentabilidade**. UNIEDU, 2017. Disponível em: <http://www.uniedu.sed.sc.gov.br/wp->

content/uploads/2015/02/Artigo-Thiago-Andr%C3%A9- Rauber.pdf. Acesso em: 08 set. 2022.

RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical Cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231–1237, 1999.

RISTIVOJEVIĆ, P. *et al.* Profiling of Turkish propolis subtypes: Comparative evaluation of their phytochemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities, **LWT - Food Science and Technology**, v. 95, p. 367–379, 2018.

ROCHA, B. A. *et al.* Evaluation of a Propolis Water Extract Using a Reliable RP-HPLC Methodology and *In Vitro* and *In Vivo* Efficacy and Safety Characterisation. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-11, 2013.

SALATINO, A.; PEREIRA, L. R. L.; SALATINO, M. L. F. The emerging market of propolis of stingless bees in tropical countries. **MOJ Food Processing and Technology**, v. 7, n. 2, p. 27- 29, 2019.

SALAZAR, G. J. T. *et al.* Phytochemical characterization of the *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) essential oil and antibacterial activity evaluation. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 591-595, 2018.

SANCHES, M. A. *et al.* Pharmacological actions of extracts of propolis of stingless bees (Meliponini). **Journal of Apicultural Research**, p. 1-8, 2017.

SILVA, W. P.; PAZ, J. R. L. Abelhas sem ferrão: muito mais do que uma importância econômica. **Natureza on line**, v. 10, n. 3, p. 146-152, 2012.

SUREK, M. *et al.* Chemical composition, cytotoxicity, and antibacterial activity of propolis from Africanized honeybees and three different Meliponini species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 269, p. 113662, 2021.

TEIXEIRA, I. R. V. *et al.* Physicochemical characteristics of honey produced by colonies of the stingless bee *Melipona quadrifasciata*: seasonal variations and influence of food supplementation. **International Journal of Agriculture Innovations and Research**, v. 6, n. 1, p. 202-208, 2017.

TOMPOROSKI, K. R. O.; DITTRICH, J. R. SCHUHLI, G. S. **Modelos de colmeias racionais para a criação de mandaçaia (*Melipona quadrifasciata quadrifasciata* L.)**. Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 6 p., 2016.

TORRES, A. R. *et al.* Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula* stingless bees. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, 2018.

VELOZ, J. J. *et al.* Antibiofilm activity of Chilean propolis on *Streptococcus mutans* is influenced by the year of collection. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

VENTURIERI, G. C. *et al.* **Meliponicultura no Brasil: situação atual e perspectivas futuras para o uso na polinização agrícola. Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para a biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. Tradução. São Paulo, SP: EDUSP, 2012.

VENTURIERI, G. **Meliponicultura: criação de abelhas indígenas sem ferrão** Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado técnico, 118, 4p., 2004.

VERAS, T. F.; NASCIMENTO, G. P. V.;. Atividade antimicrobiana e antifúngica de amostras comerciais de extrato alcoólico de própolis verde e própolis vermelho contra cepas causadoras de lesões cutâneas. **REVISTA IBERO-AMERICANA DE PODOLOGIA**, v. 2, n. 2, p. 182-189, 2020.

WALLER, S. B. *et al.* Composição química e atividade in vitro da própolis brasileira verde e jataí sobre isolados clínicos de *Sporothrix brasiliensis*. **Science and animal health**, v. 5, n. 2, p. 151-165, 2017.

WIECZOREK, P. P. *et al.* Chemical Variability and Pharmacological Potential of Propolis as a Source for the Development of New Pharmaceutical Products. **Molecules**, v. 27, n. 5, p. 1600, 2022.

APÊNDICE 1 – Atividade antibacteriana por ensaio de disco-difusão para as bactérias Gram-positivas

1.1 Atividade antibacteriana por disco-difusão dos EP comerciais (MPC, JPC e MM) e dos EP *in natura* (J e M) de Jataí e Mandaçaia para bactérias Gram-positivas: *S. mutans* ATCC 25175, *S. aureus* ATCC 25923 e *B. cereus* ATCC 14579

IMAGEM 1 - ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EP JPC CONTRA *S. AUREUS*, *S. MUTANS* E *B. CEREUS*.



FONTE: autoria própria.

IMAGEM 2 - ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EP MPC CONTRA *S. AUREUS*, *S. MUTANS* E *B. CEREUS*.



FONTE: autoria própria.

IMAGEM 3 - ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EP J CONTRA *S. AUREUS*, *S. MUTANS* E *B. CEREUS*.



FONTE: autoria própria.

IMAGEM 4 - ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EP M CONTRA *S. AUREUS*, *S. MUTANS* E *B. CEREUS*.



FONTE: autoria própria.

IMAGEM 5 - ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EP MM CONTRA *S. AUREUS*, *S. MUTANS* E *B. CEREUS*.

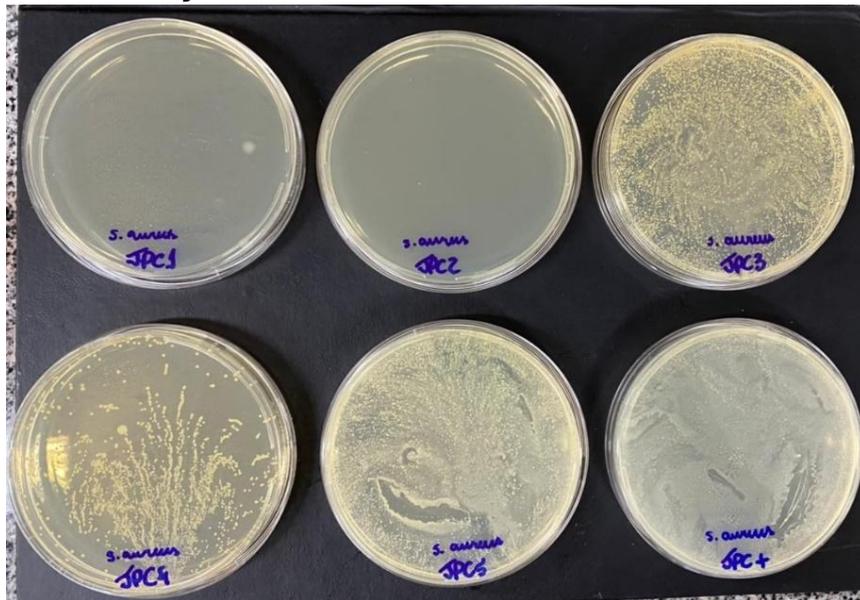


FONTE: autoria própria.

APÊNDICE 2 – CBM para as bactérias Gram-positivas

2.1 Determinação da CBM para *S. aureus* ATCC 25923

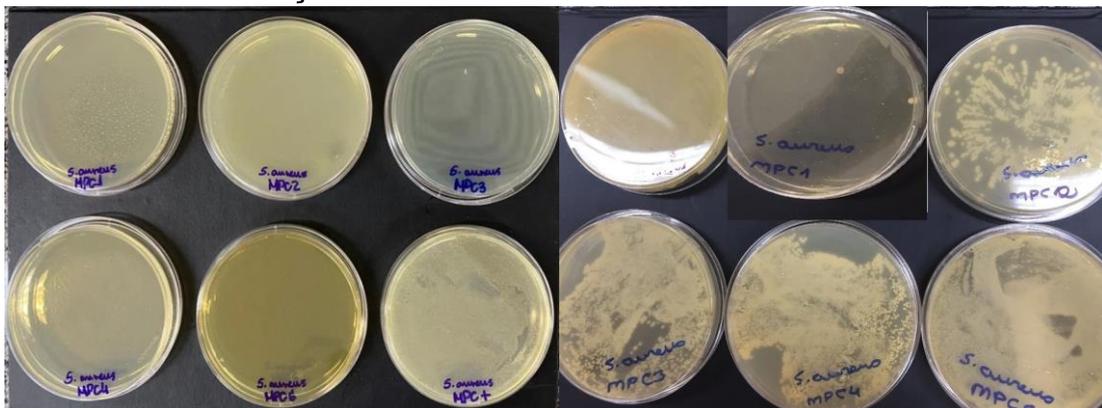
IMAGEM 1 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP JPC CONTRA *S. AUREUS*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis JPC utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

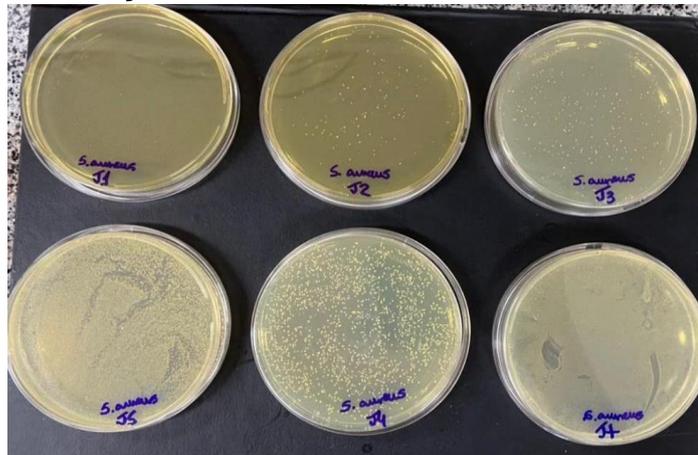
IMAGEM 2 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MPC CONTRA *S. AUREUS*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MPC utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; 0,10 mg/mL; 0,06 mg/mL; 0,03 mg/mL; 0,01 mg/mL (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

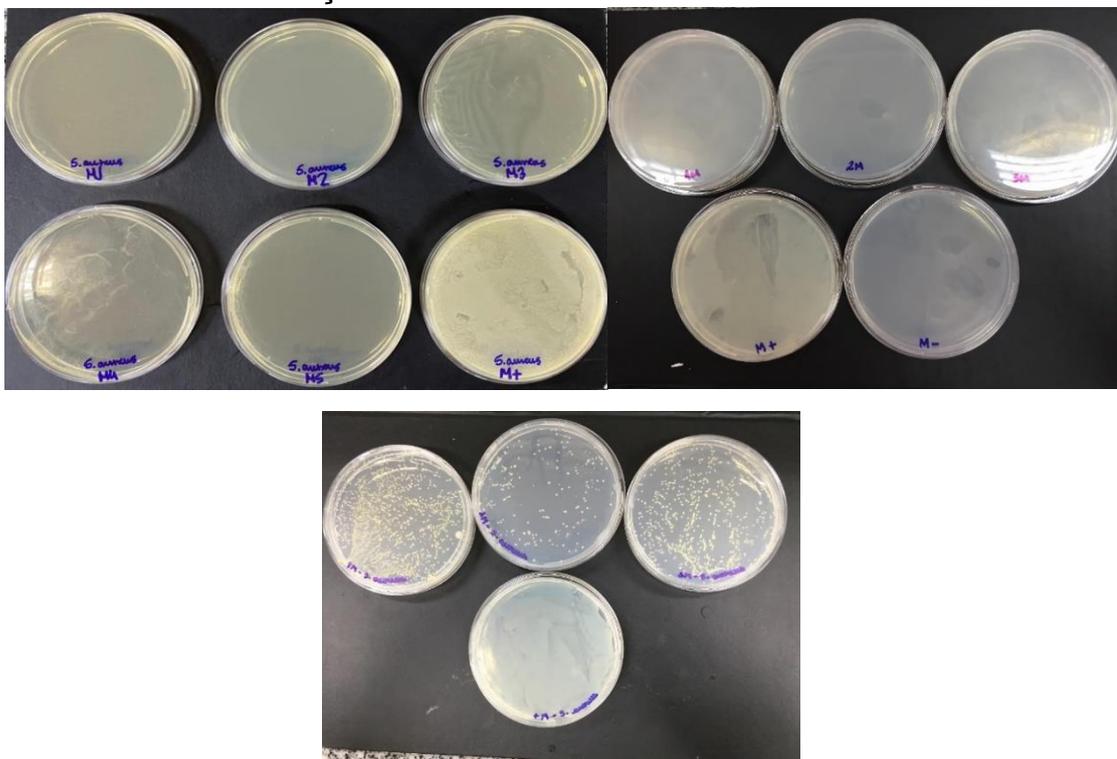
IMAGEM 3 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP J CONTRA *S. AUREUS*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis J utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

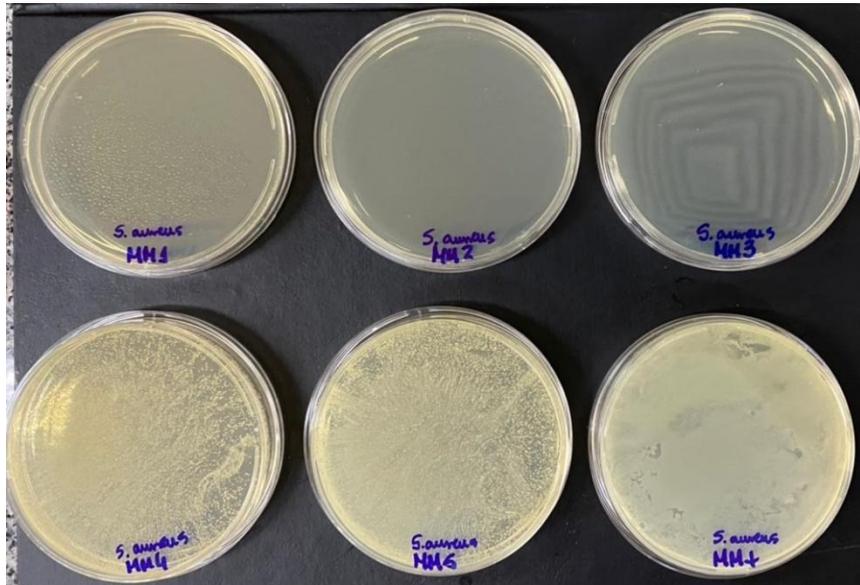
IMAGEM 4 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP M CONTRA *S. AUREUS*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis M utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; 0,15 mg/mL; 0,10 mg/mL; 0,06 mg/mL; 0,03 mg/mL; 0,02 mg/mL; 0,01 mg/mL (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

IMAGEM 5 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MM CONTRA *S. AUREUS*.

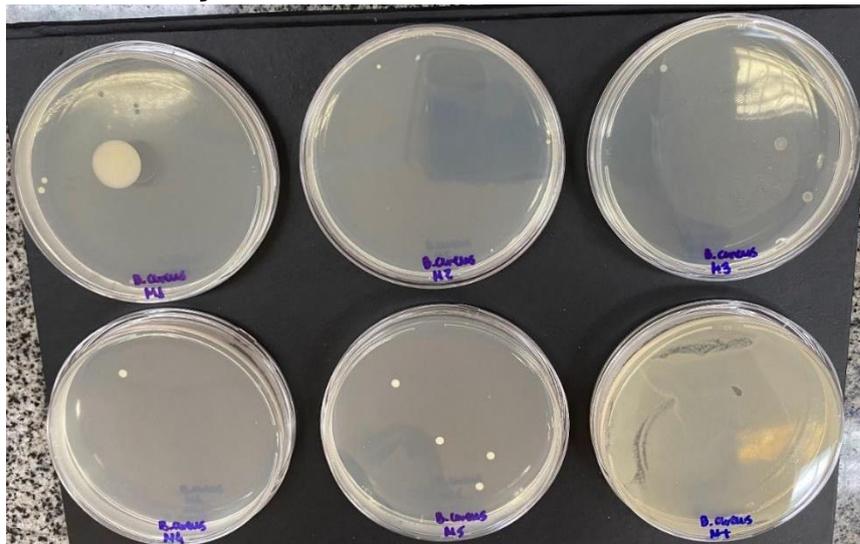


FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MM utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

2.2 Determinação da CBM para *B. cereus* ATCC 14579

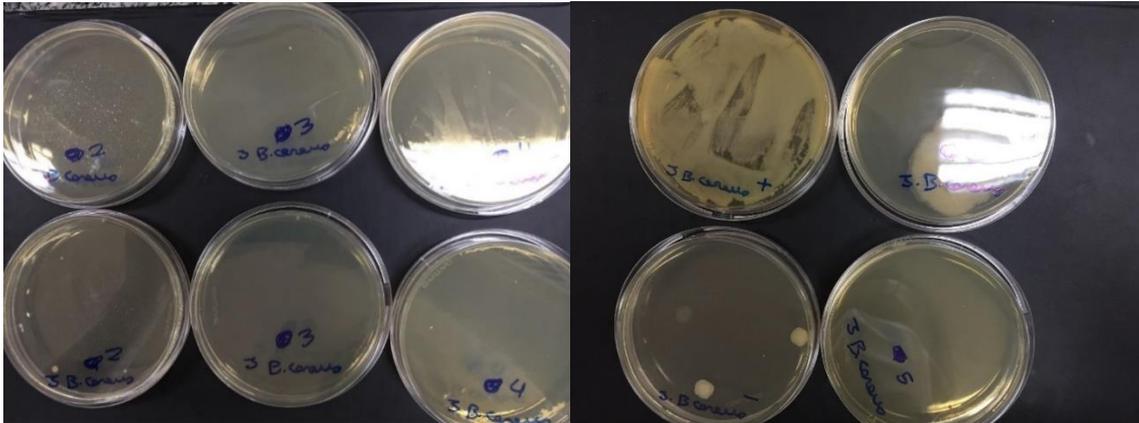
IMAGEM 6 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP M CONTRA *B. CEREUS*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis M utilizadas: 9 mg/mL; 6 mg/mL; 4 mg/mL; 2 mg/mL; 1,5 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

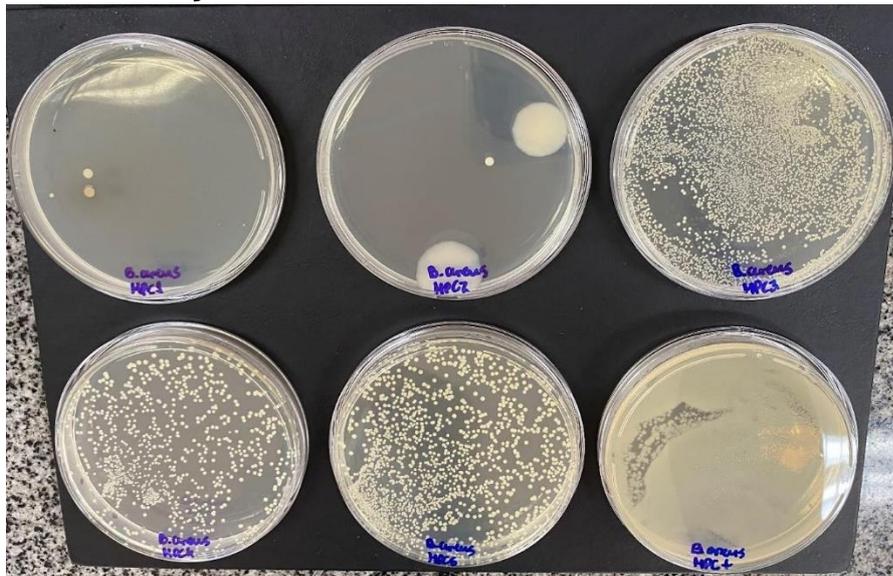
IMAGEM 7 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP J CONTRA *B. CEREBUS*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis J utilizadas: 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

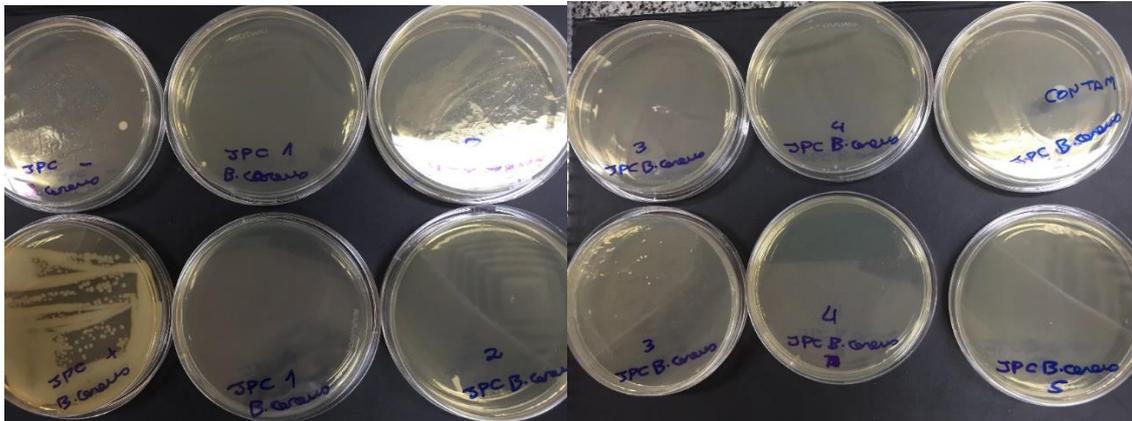
IMAGEM 8 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MPC CONTRA *B. CEREBUS*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MPC utilizadas: 0,15 mg/mL; 0,10 mg/mL; 0,06 mg/mL; 0,03 mg/mL; 0,02 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

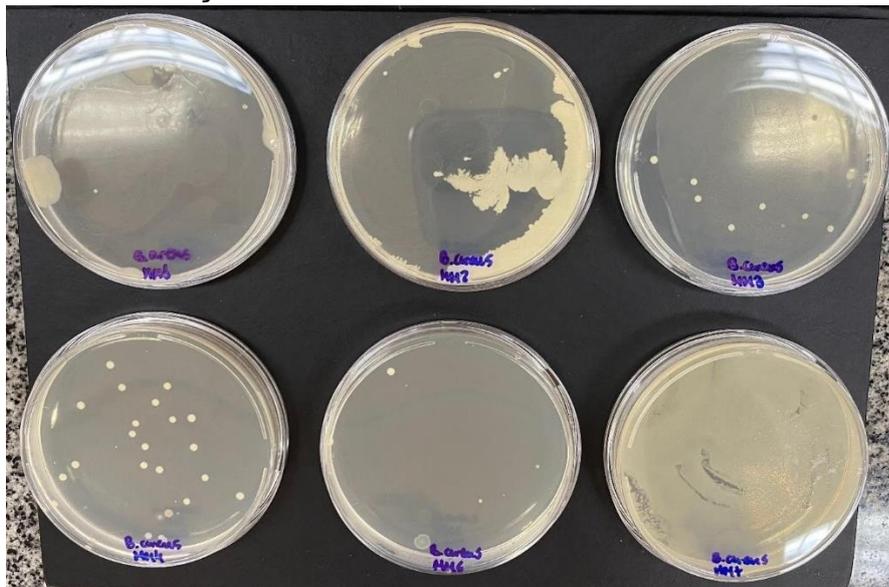
IMAGEM 9 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP JPC CONTRA *B. CEREBUS*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis JPC utilizadas: 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

IMAGEM 10 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MM CONTRA *B. CEREBUS*.

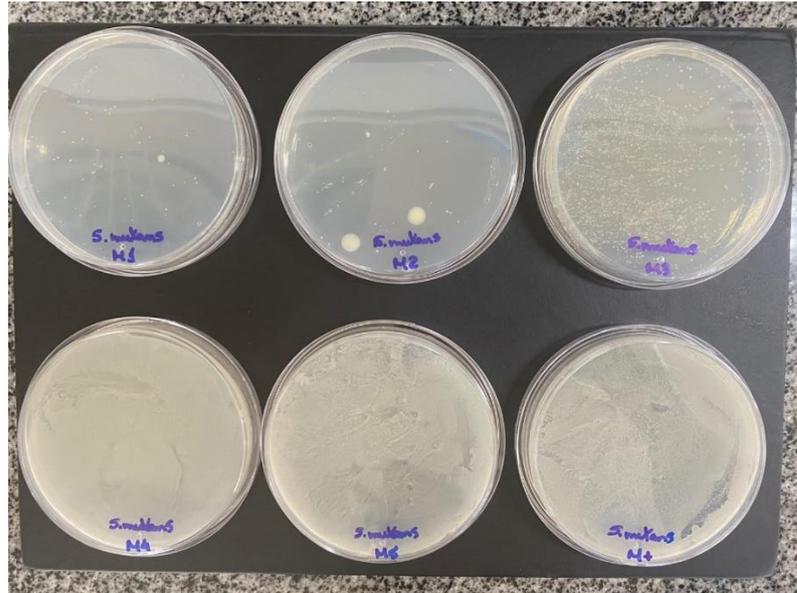


FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MM utilizadas: 0,15 mg/mL; 0,10 mg/mL; 0,06 mg/mL; 0,03 mg/mL; 0,02 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

2.3 Determinação da CBM para *S. mutans* ATCC 25175

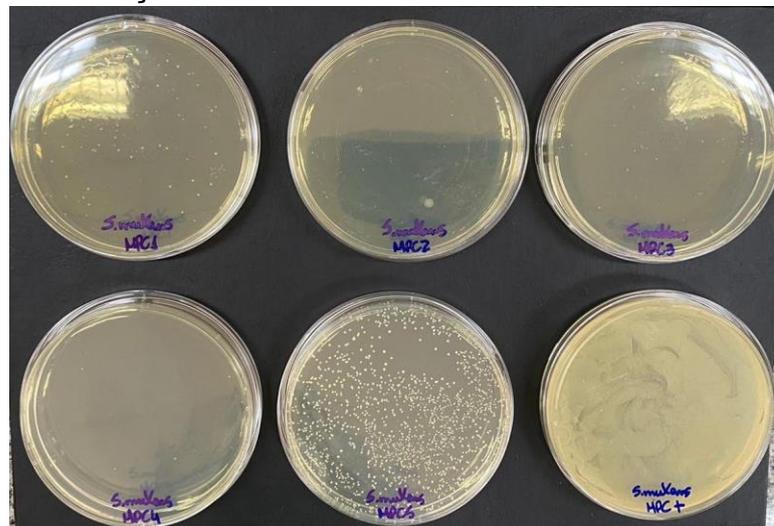
IMAGEM 11 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP M CONTRA *S. MUTANS*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis M utilizadas: 0,15 mg/mL; 0,10 mg/mL; 0,06 mg/mL; 0,03 mg/mL; 0,025 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

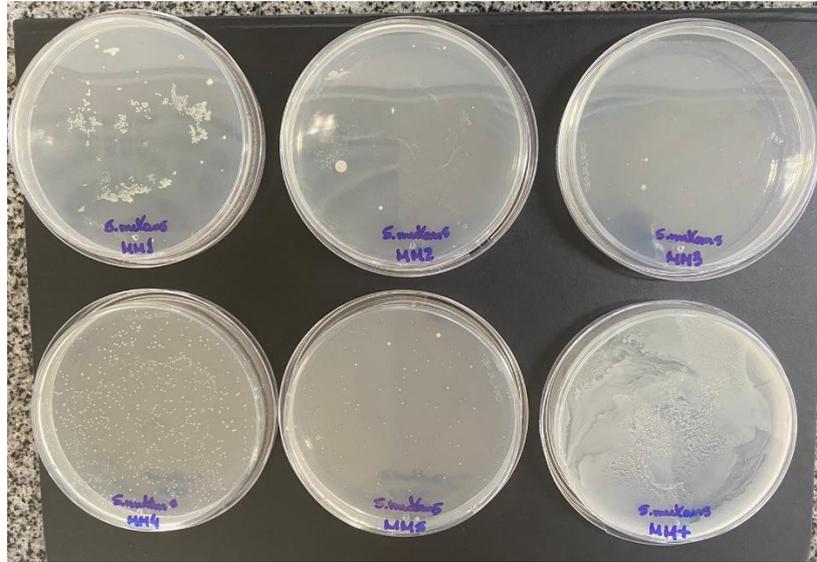
IMAGEM 12 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MPC CONTRA *S. MUTANS*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MPC utilizadas: 1 mg/mL; 0,5 mg/mL; 0,3 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,2 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

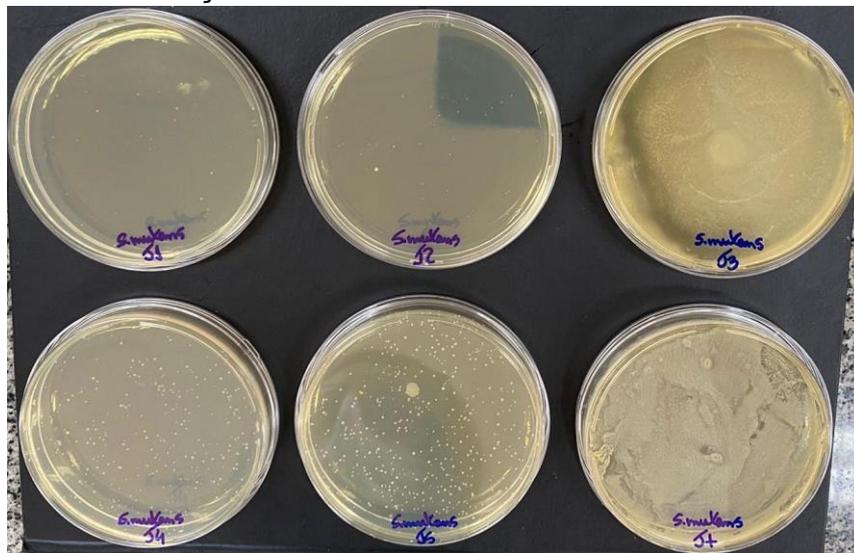
IMAGEM 13 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MM CONTRA *S. MUTANS*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MM utilizadas: 0,15 mg/mL; 0,10 mg/mL; 0,06 mg/mL; 0,03 mg/mL; 0,025 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

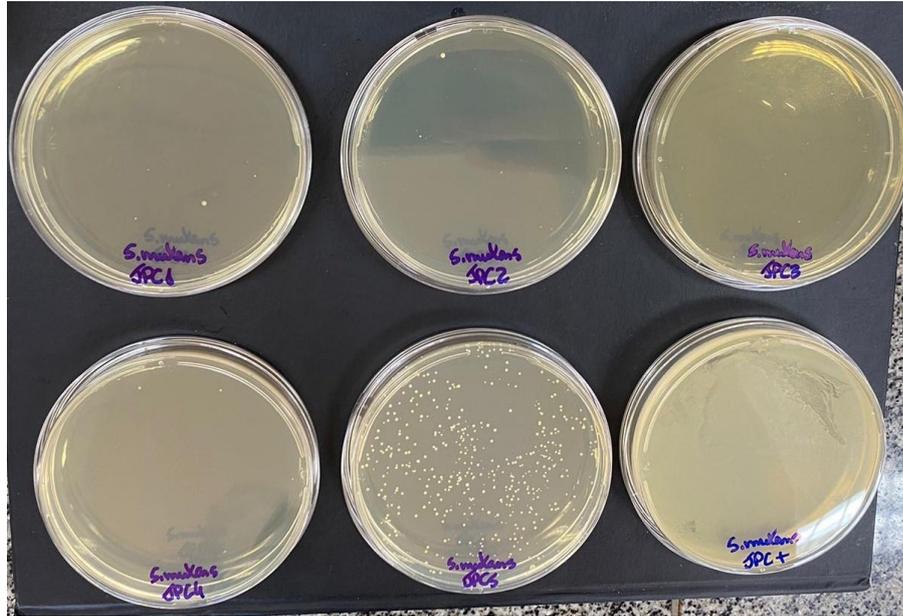
IMAGEM 14 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP J CONTRA *S. MUTANS*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis J utilizadas: 1 mg/mL; 0,5 mg/mL; 0,3 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,2 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

IMAGEM 15 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP JPC CONTRA *S. MUTANS*.



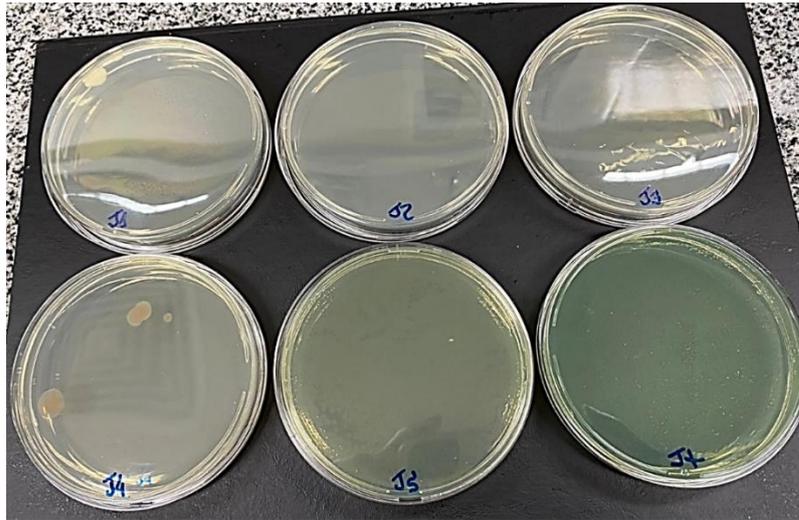
FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis JPC utilizadas: 1 mg/mL; 0,5 mg/mL; 0,3 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,2 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

APÊNDICE 3 – CBM para as bactérias Gram-negativas

3.1 Determinação da CBM para *P. aeruginosa* ATCC 27853

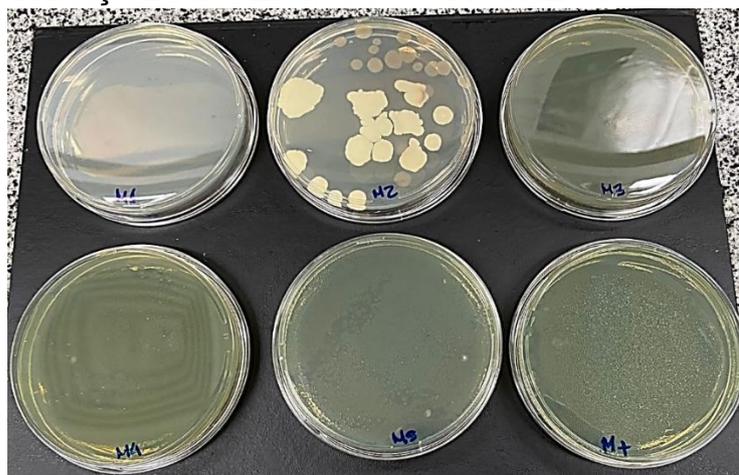
IMAGEM 1 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP J CONTRA *P. AERUGINOSA*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis J utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

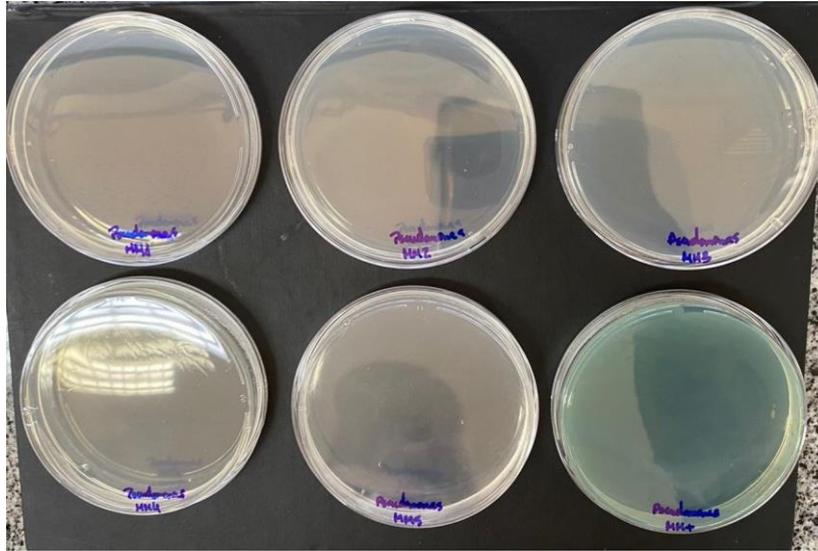
IMAGEM 2 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP M CONTRA *P. AERUGINOSA*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis M utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

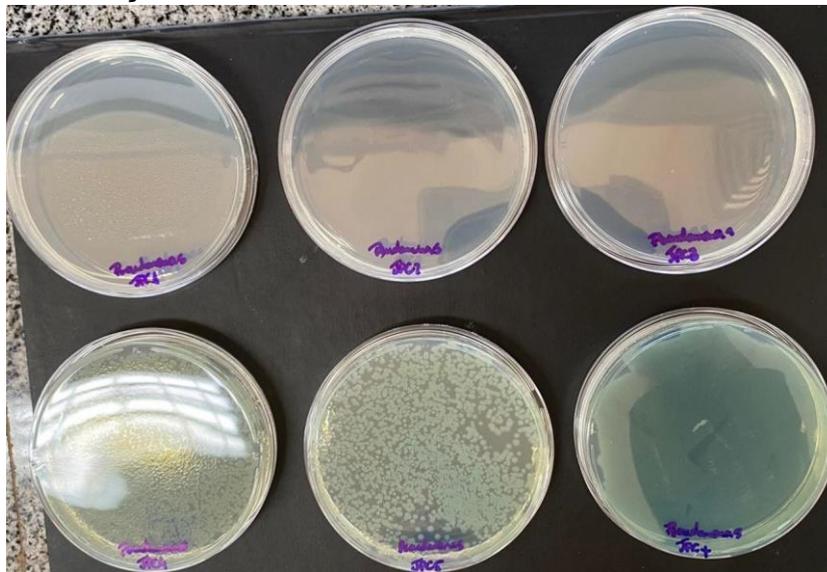
IMAGEM 3 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MM CONTRA *P. AERUGINOSA*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MM utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

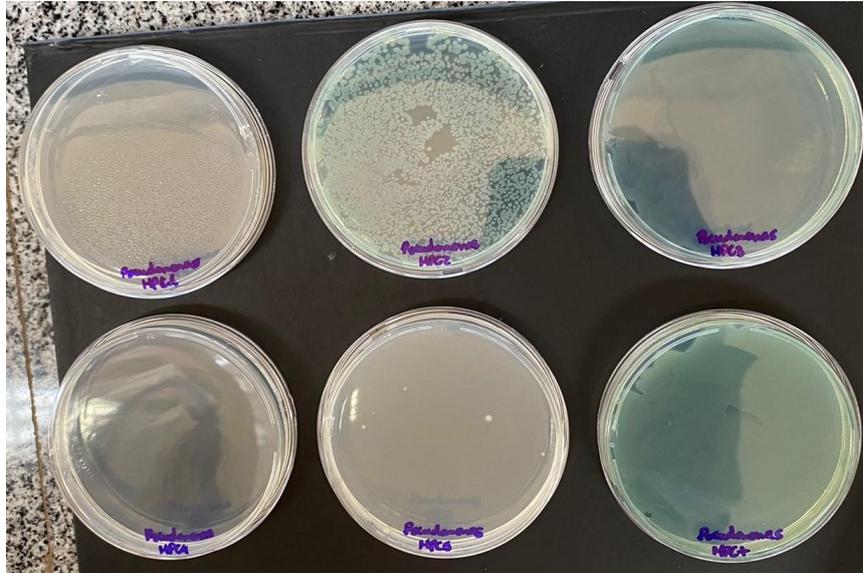
IMAGEM 4 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP JPC CONTRA *P. AERUGINOSA*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis JPC utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

IMAGEM 5 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MPC CONTRA *P. AERUGINOSA*.

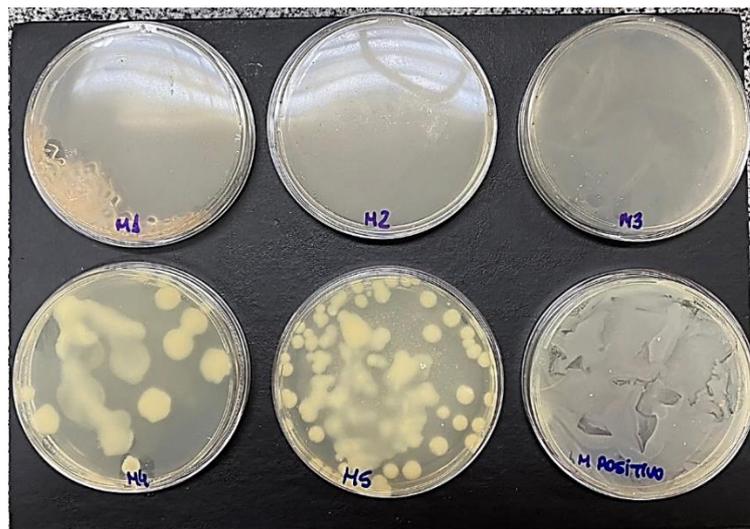


FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MPC utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

3.2 Determinação da CBM para *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706

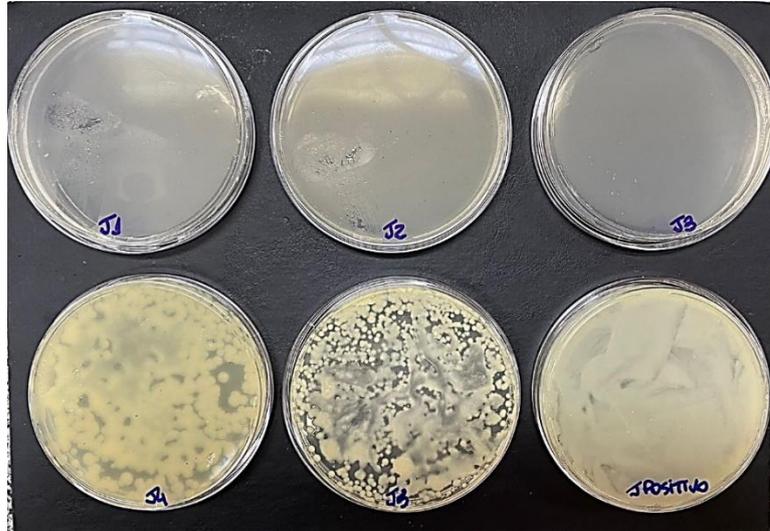
IMAGEM 6 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP M CONTRA *K. PNEUMONIAE*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis M utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

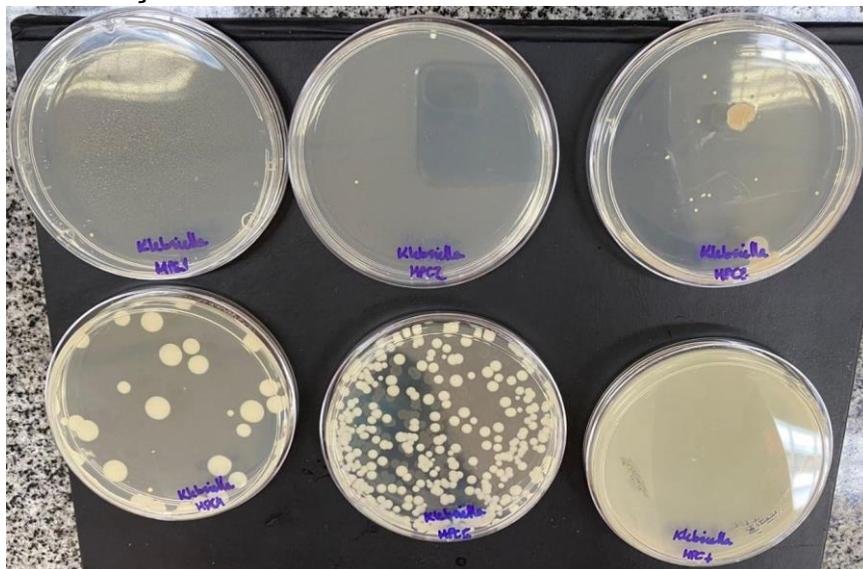
IMAGEM 7 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP J CONTRA *K. PNEUMONIAE*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis J utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

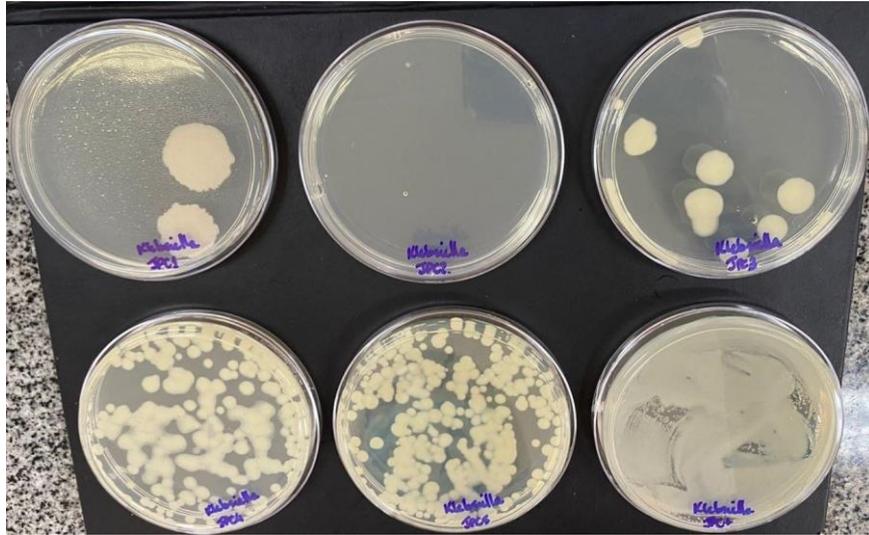
IMAGEM 8 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MPC CONTRA *K. PNEUMONIAE*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MPC utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

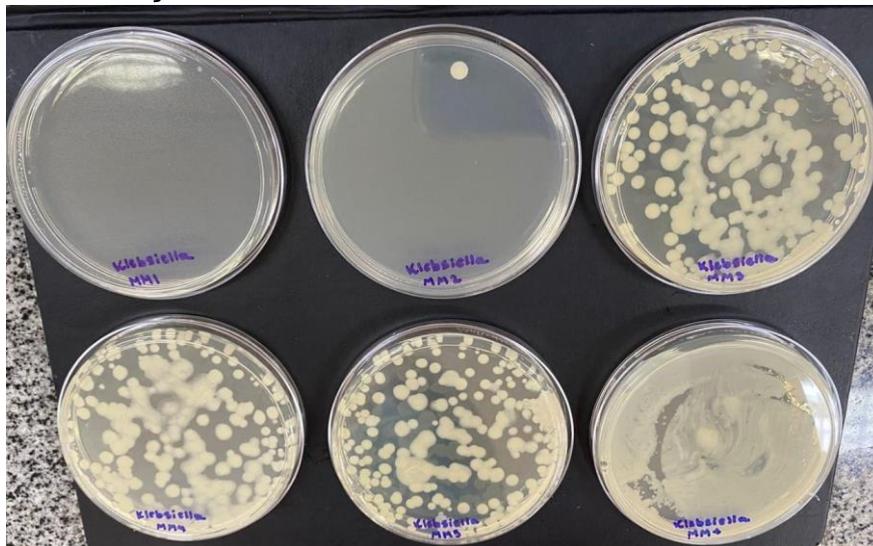
IMAGEM 9 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP JPC CONTRA *K. PNEUMONIAE*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis JPC utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

IMAGEM 10 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MM CONTRA *K. PNEUMONIAE*.

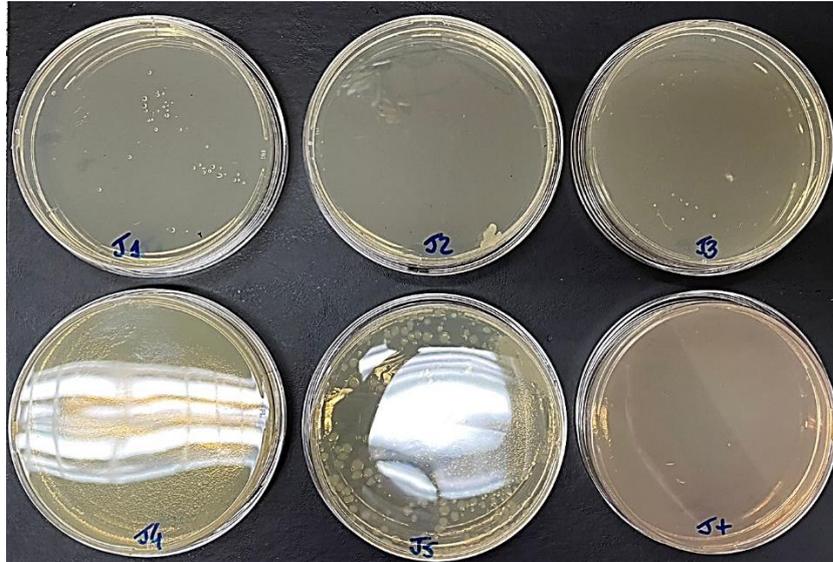


FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MM utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

3.3 Determinação da CBM para *S. enterica* ATCC 14028

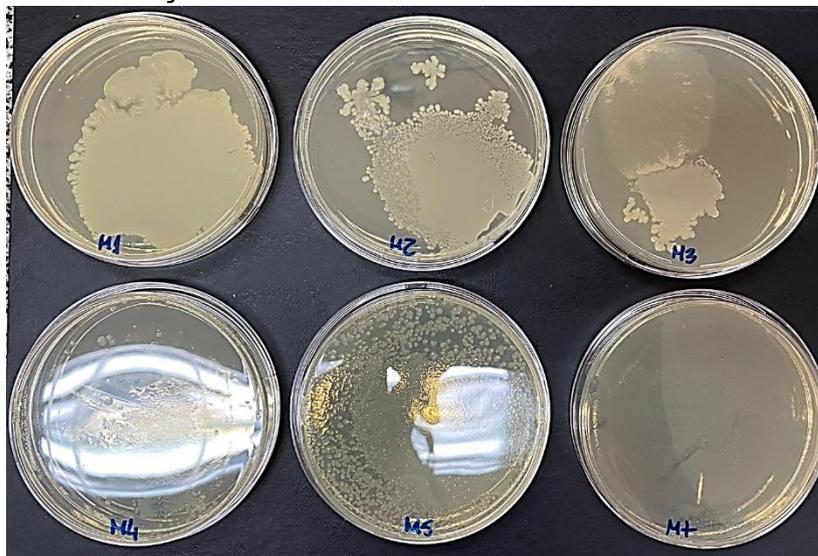
IMAGEM 11 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP J CONTRA *S. ENTERICA*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis J utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

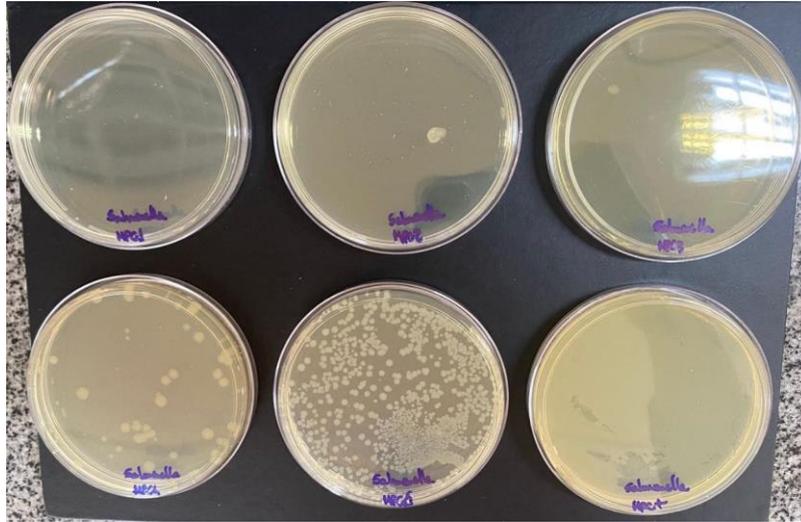
IMAGEM 12 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP M CONTRA *S. ENTERICA*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis M utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

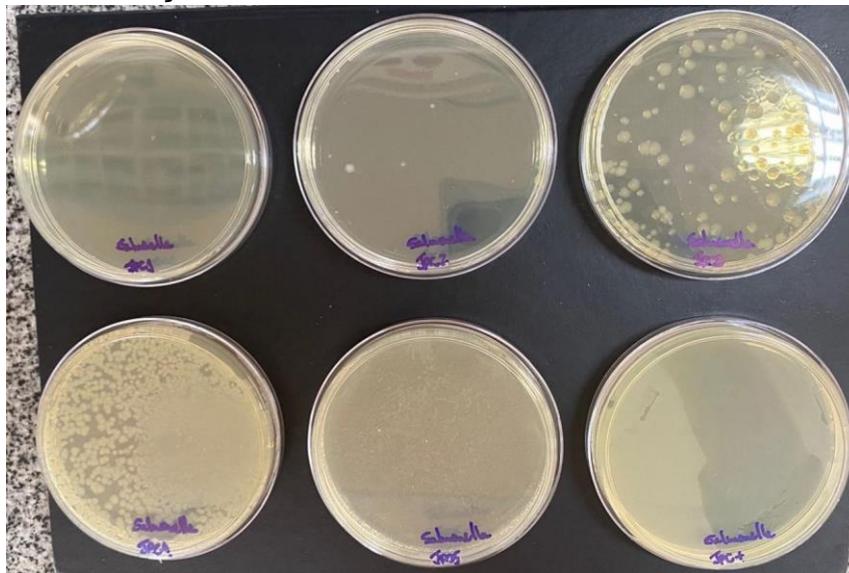
IMAGEM 13 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MPC CONTRA *S. ENTERICA*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MPC utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

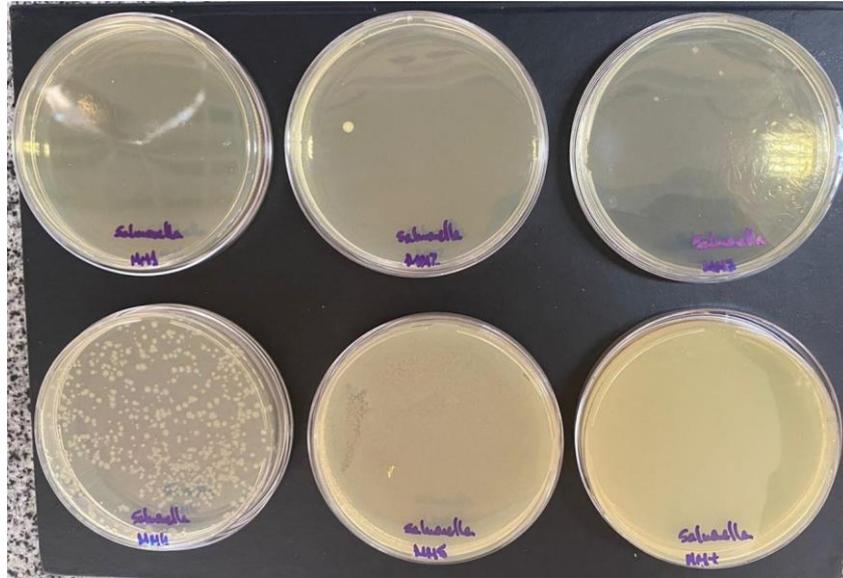
IMAGEM 14 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP JPC CONTRA *S. ENTERICA*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis JPC utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

IMAGEM 15 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MM CONTRA *S. ENTERICA*.

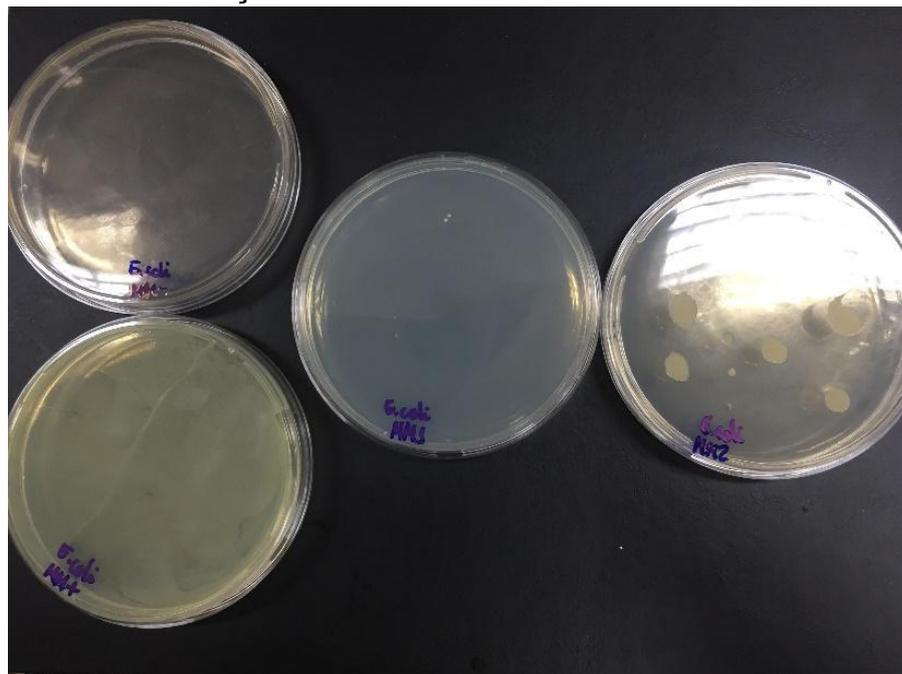


FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MM utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

3.4 Determinação da CBM para *E. coli* ATCC 25922

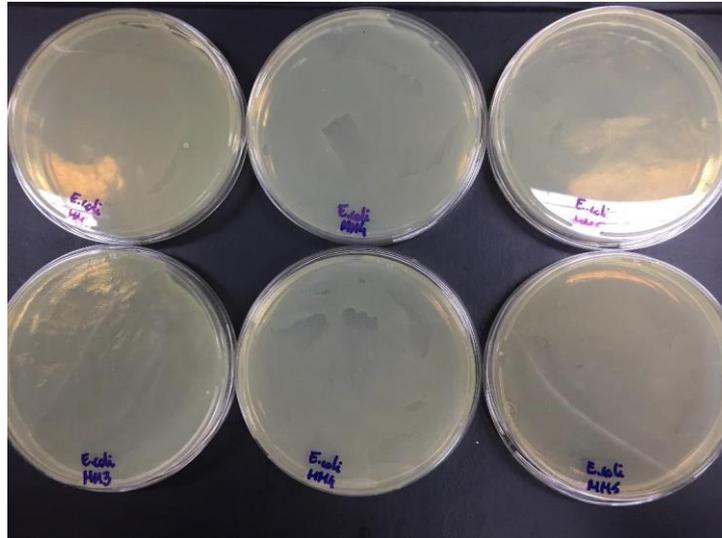
IMAGEM 16 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MM CONTRA *E. COLI*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MM utilizadas: 0,20 mg/mL; 0,15 mg/mL; (+) = controle positivo; (-) = controle negativo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

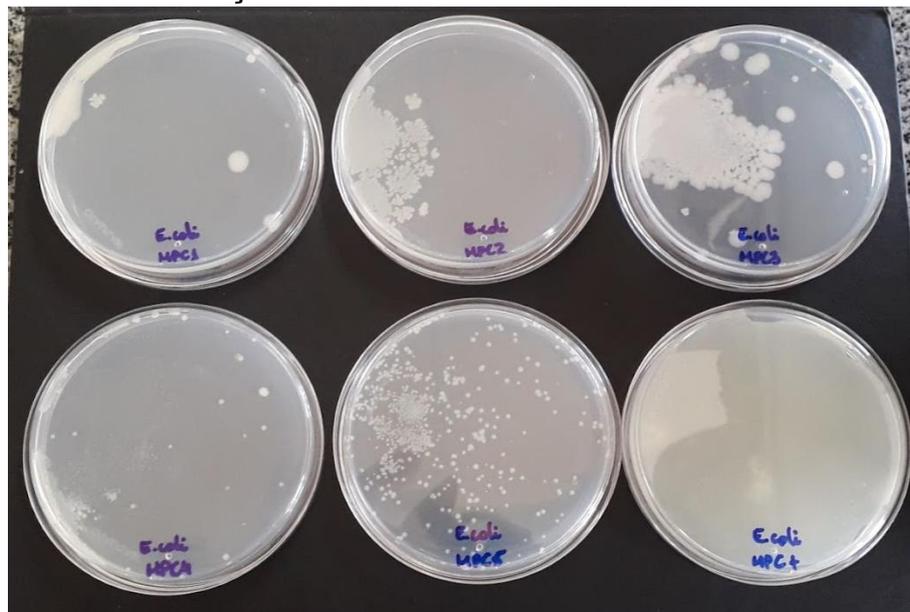
IMAGEM 16.1 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MM CONTRA *E. COLI*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MM utilizadas: 0,10 mg/mL; 0,07 mg/mL; 0,06 mg/mL. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

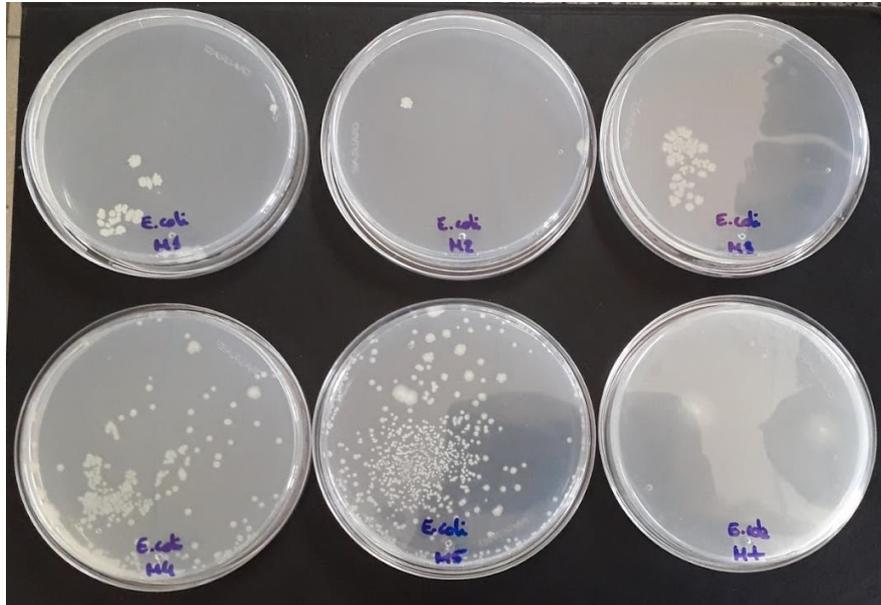
IMAGEM 17 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP MPC CONTRA *E. COLI*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis MPC utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo. Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

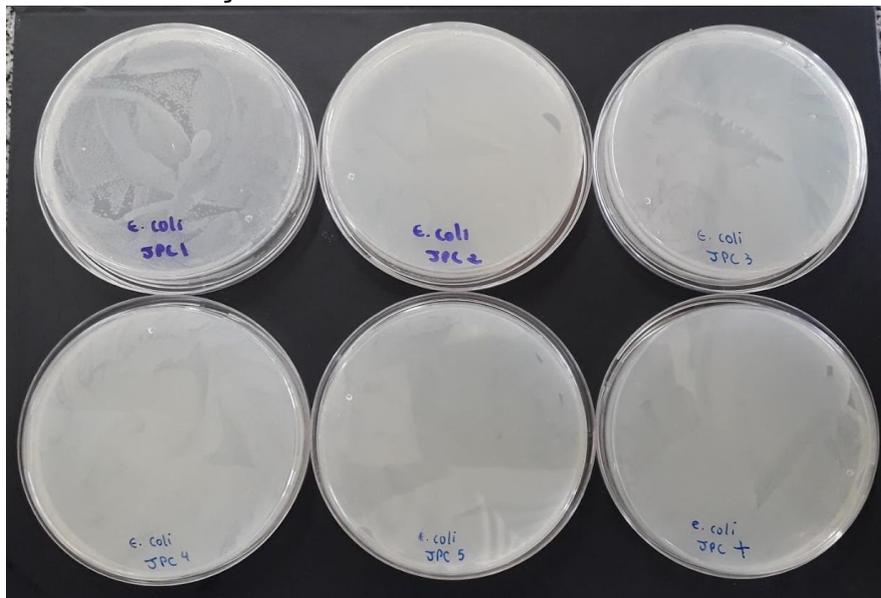
IMAGEM 18 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP M CONTRA *E. COLI*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis M utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

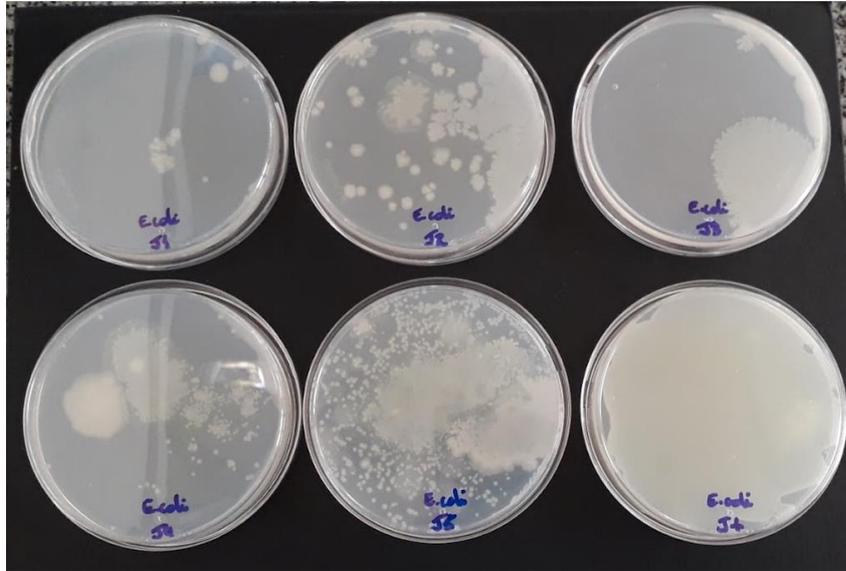
IMAGEM 19 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP JPC CONTRA *E. COLI*.



FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis JPC utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

IMAGEM 20 - DETERMINAÇÃO CBM APÓS TRATAMENTO COM DIFERENTES DILUIÇÕES DO EP J CONTRA *E. COLI*.



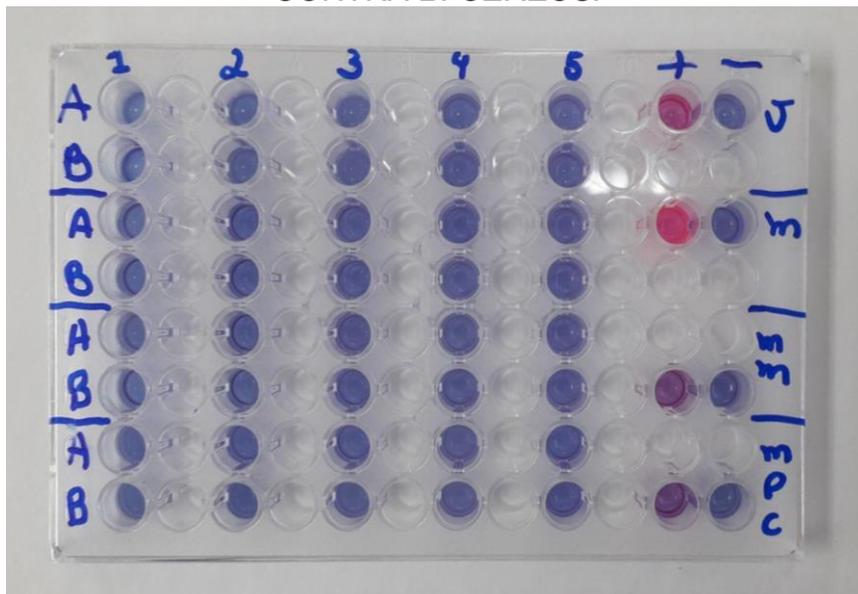
FONTE: autoria própria.

Notas: Diluições de própolis J utilizadas: 1,00 mg/mL; 0,50 mg/mL; 0,30 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,20 mg/mL; (+) = controle positivo Todas as diluições foram realizadas em duplicata.

APÊNDICE 4 – Determinação da CIM utilizando a resazurina como indicador de viabilidade celular

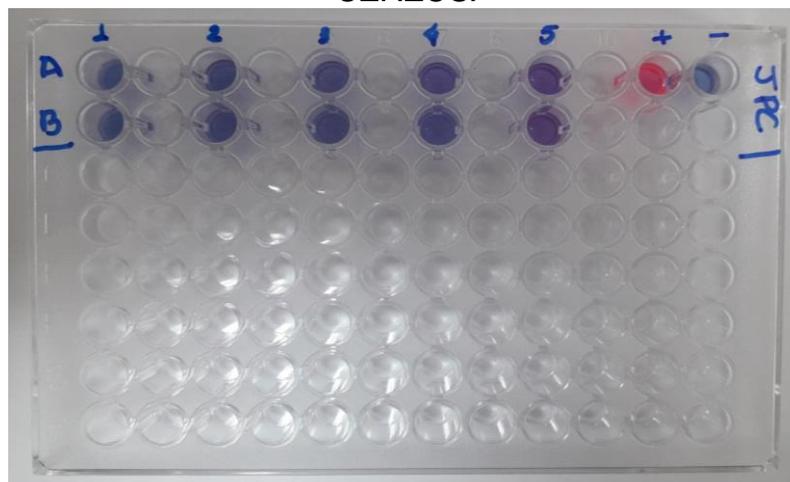
4.1 Determinação da CIM para *B. cereus* ATCC 14579, em microplaca utilizando a resazurina como indicador de viabilidade celular

IMAGEM 1 - DETERMINAÇÃO CIM DAS AMOSTRAS DE EP J, M, MM E MPC CONTRA *B. CEREBUS*.



FONTE: autoria própria.

IMAGEM 2 - DETERMINAÇÃO CIM DA AMOSTRA DE EP JPC CONTRA *B. CEREBUS*.



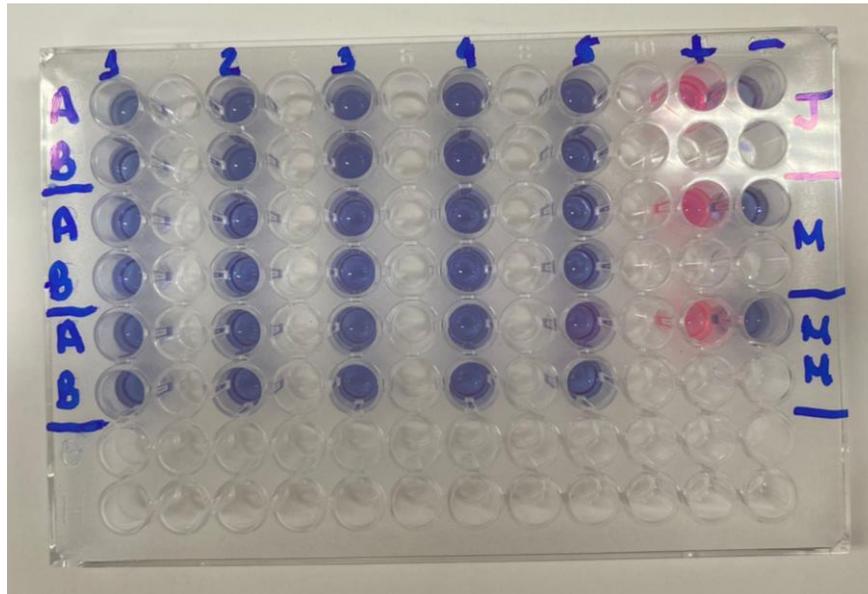
FONTE: autoria própria.

Nota: Os testes foram realizados em duplicatas, indicados pelas letras A e B. O controle positivo está indicado pelo sinal “+” e o controle negativo, pelo sinal “-“. Cor Azul, significa morte celular e não houve

crescimento de microrganismo. Cor Rosa, significa crescimento bacteriano; a resazurina foi reduzida à resorufina pelas enzimas óxido-redutases presentes nas células vivas.

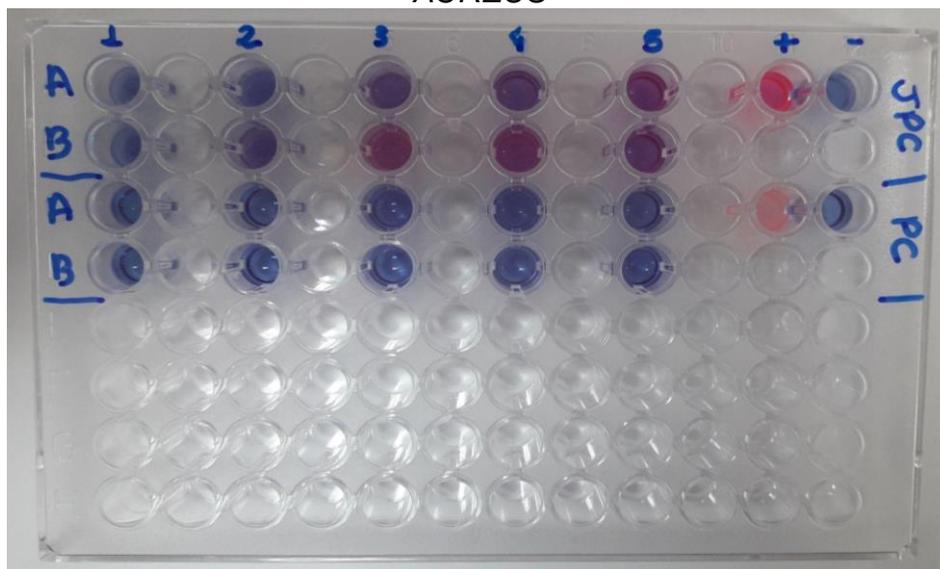
4.2 Determinação da CIM para *S. aureus* ATCC 25923, em microplaca utilizando a resazurina como indicador de viabilidade celular

IMAGEM 3 - DETERMINAÇÃO CIM DAS AMOSTRAS DE EP J, M, JPC E MPC CONTRA *S. AUREUS*.



FONTE: autoria própria.

IMAGEM 4 - DETERMINAÇÃO CIM DA AMOSTRA DO EP DE JPC CONTRA *S. AUREUS*

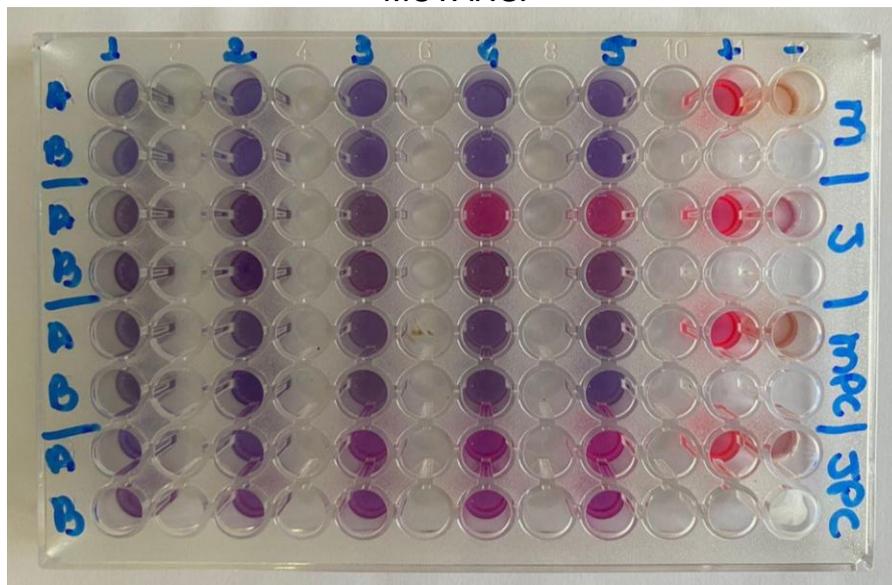


FONTE: autoria própria.

Nota: Os testes foram realizados em duplicatas, indicados pelas letras A e B. O controle positivo está indicado pelo sinal “+” e o controle negativo, pelo sinal “-“. Cor Azul, significa morte celular e não houve crescimento de microrganismo. Cor Rosa, significa crescimento bacteriano; a resazurina foi reduzida à resorufina pelas enzimas óxido-redutases presentes nas células vivas.

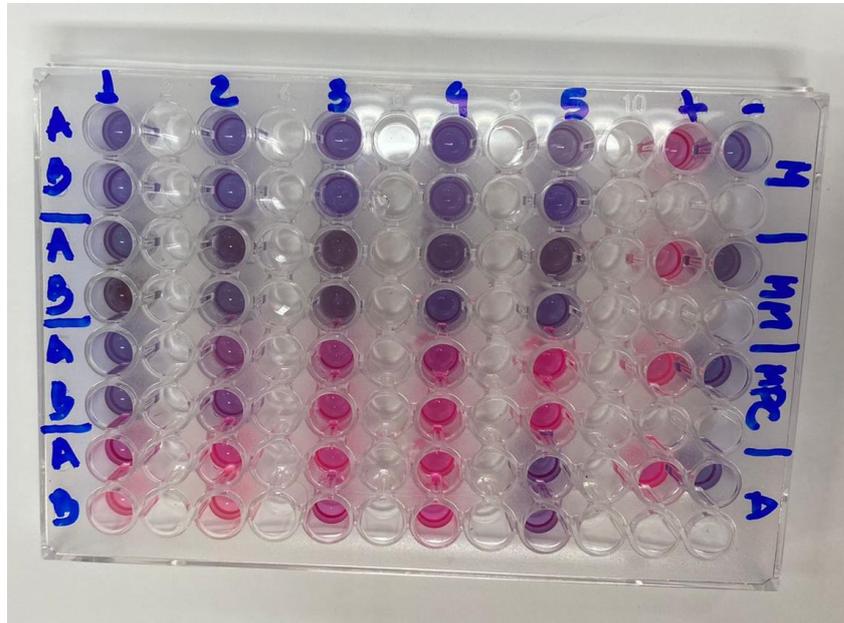
4.3 Determinação da CIM para *S. mutans* ATCC 25175, em microplaca utilizando a resazurina como indicador de viabilidade celular

IMAGEM 6 - DETERMINAÇÃO CIM DAS AMOSTRAS DE EP J E JPC CONTRA *S. MUTANS*.



FONTE: autoria própria.

IMAGEM 7 - DETERMINAÇÃO CIM DAS AMOSTRAS DE EP M, MM E MPC CONTRA *S. MUTANS*.

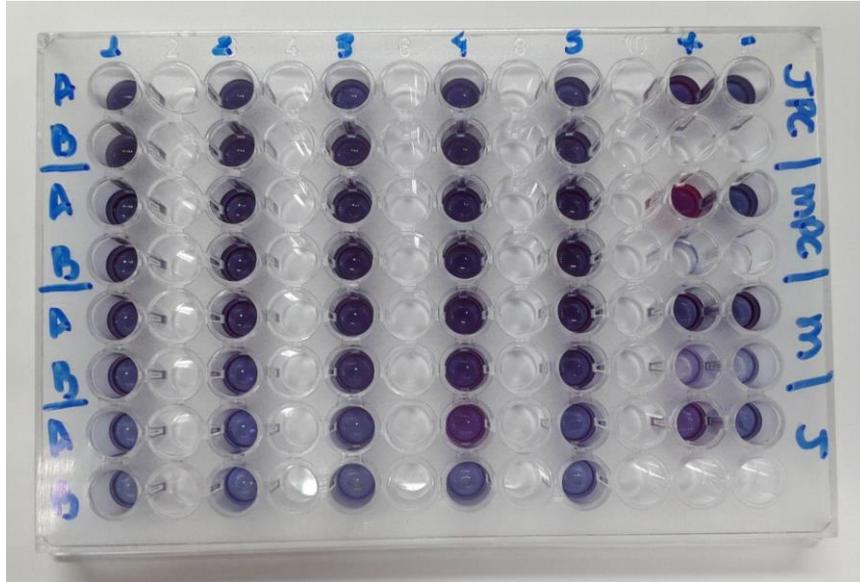


FONTE: autoria própria.

Nota: Os testes foram realizados em duplicatas, indicados pelas letras A e B. O controle positivo está indicado pelo sinal “+” e o controle negativo, pelo sinal “-”. Cor Azul, significa morte celular e não houve crescimento de microrganismo. Cor Rosa, significa crescimento bacteriano; a resazurina foi reduzida à resorufina pelas enzimas óxido-redutases presentes nas células vivas.

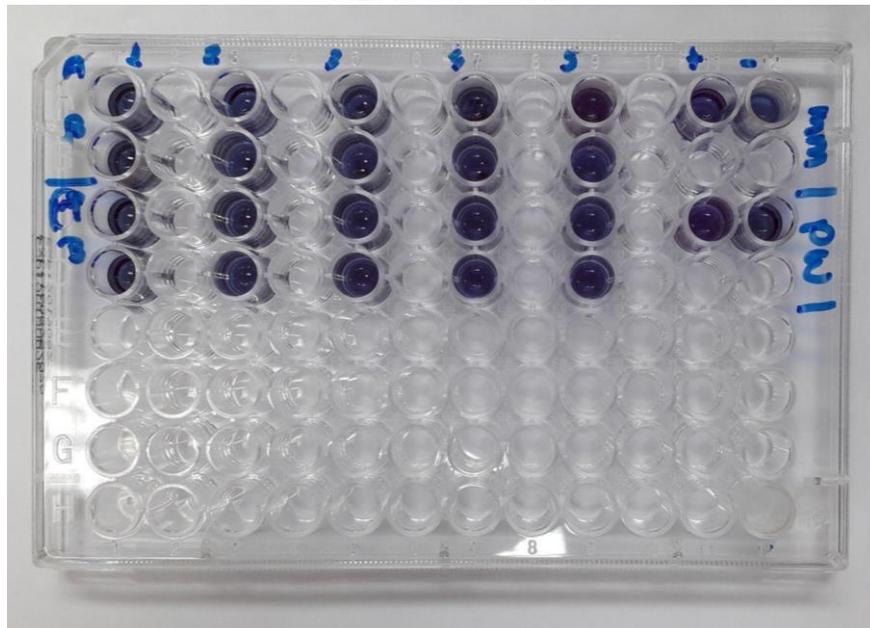
4.4 Determinação da CIM para *P. aeruginosa* ATCC 27853, em microplaca utilizando a resazurina como indicador de viabilidade celular

IMAGEM 8 - DETERMINAÇÃO CIM DAS AMOSTRAS DE EP JPC, MPC, M E J CONTRA *P. AERUGINOSA*.



FONTE: autoria própria.

IMAGEM 9 - DETERMINAÇÃO CIM DA AMOSTRA DE EP MM CONTRA *P. AERUGINOSA*.

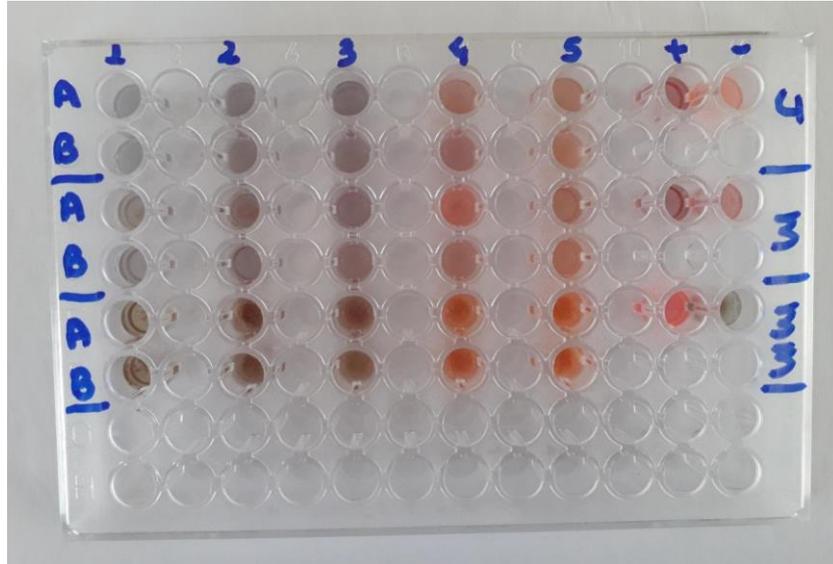


FONTE: autoria própria.

Nota: Os testes foram realizados em duplicatas, indicados pelas letras A e B. O controle positivo está indicado pelo sinal “+” e o controle negativo, pelo sinal “-“. Cor Azul, significa morte celular e não houve crescimento de microrganismo. Cor Rosa, significa crescimento bacteriano; a resazurina foi reduzida à resorufina pelas enzimas óxido-redutases presentes nas células vivas.

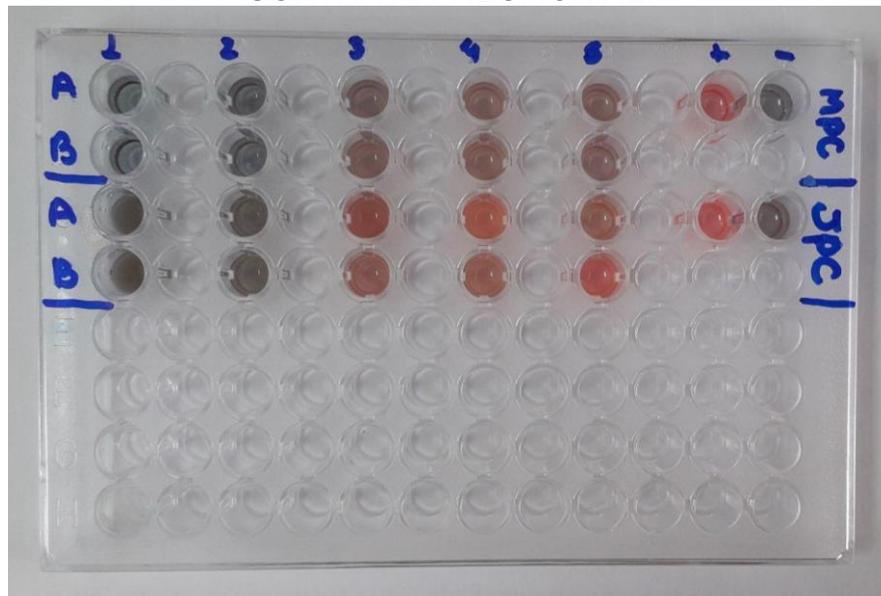
4.5 Determinação da CIM para *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706, em microplaca utilizando a resazurina como indicador de viabilidade celular

IMAGEM 10 - DETERMINAÇÃO CIM DAS AMOSTRAS DE EP J, M E MM CONTRA *K. PNEUMONIAE*.



FONTE: autoria própria.

IMAGEM 11 - DETERMINAÇÃO CIM DAS AMOSTRAS DE EP MPC E JPC CONTRA *K. PNEUMONIAE*.

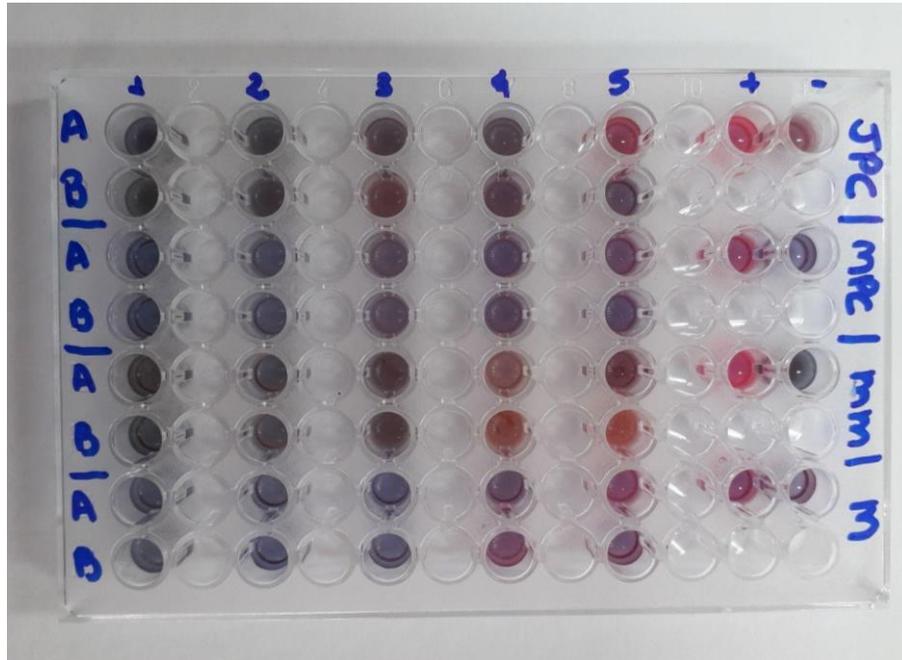


FONTE: autoria própria.

Nota: Os testes foram realizados em duplicatas, indicados pelas letras A e B. O controle positivo está indicado pelo sinal “+” e o controle negativo, pelo sinal “-“. Cor Azul, significa morte celular e não houve crescimento de microrganismo. Cor Rosa, significa crescimento bacteriano; a resazurina foi reduzida à resorufina pelas enzimas óxido-redutases presentes nas células vivas.

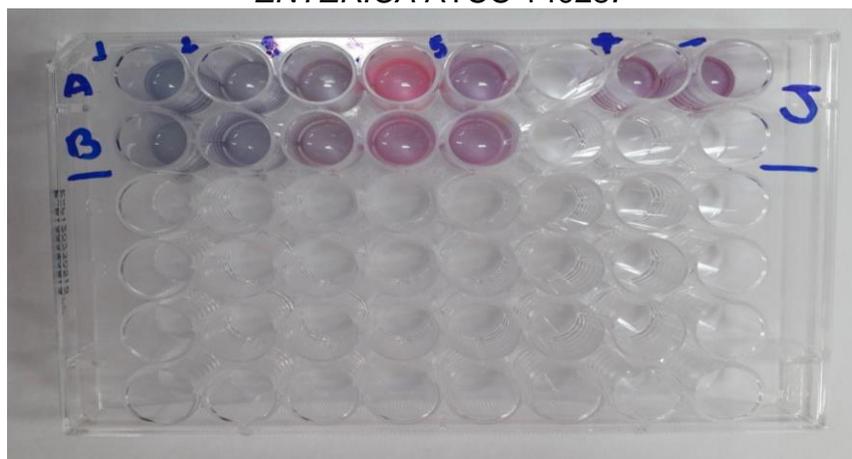
4.6 Determinação da CIM para *S. enterica* ATCC 14028, em microplaca utilizando a resazurina como indicador de viabilidade celular

IMAGEM 12 - DETERMINAÇÃO CIM DAS AMOSTRAS DE EP JPC, MPC, MM E M CONTRA *S. ENTERICA* ATCC 14028



FONTE: autoria própria.

IMAGEM 13 - DETERMINAÇÃO CIM DA AMOSTRA DE EP J CONTRA *S. ENTERICA* ATCC 14028.

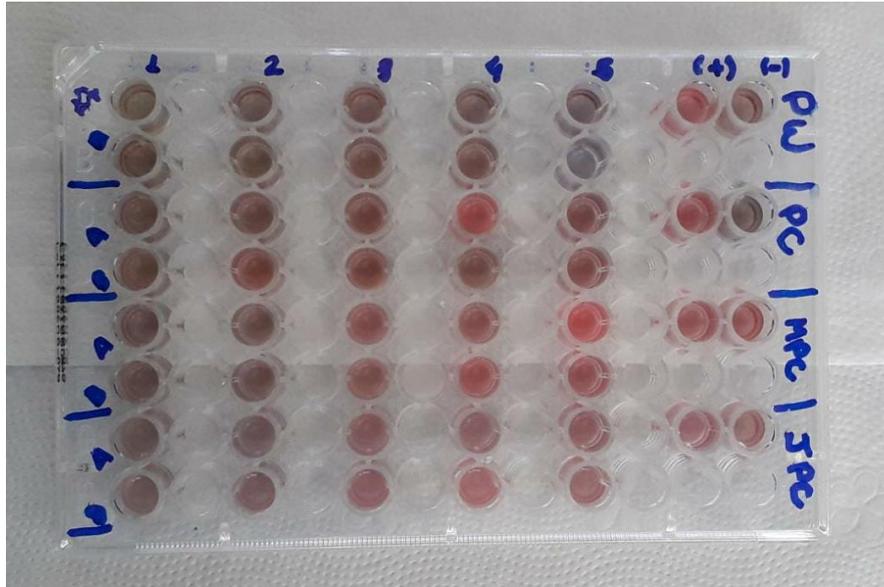


FONTE: autoria própria.

Nota: Os testes foram realizados em duplicatas, indicados pelas letras A e B. O controle positivo está indicado pelo sinal “+” e o controle negativo, pelo sinal “-“. Cor Azul, significa morte celular e não houve crescimento de microrganismo. Cor Rosa, significa crescimento bacteriano; a resazurina foi reduzida à resorufina pelas enzimas óxido-redutases presentes nas células vivas.

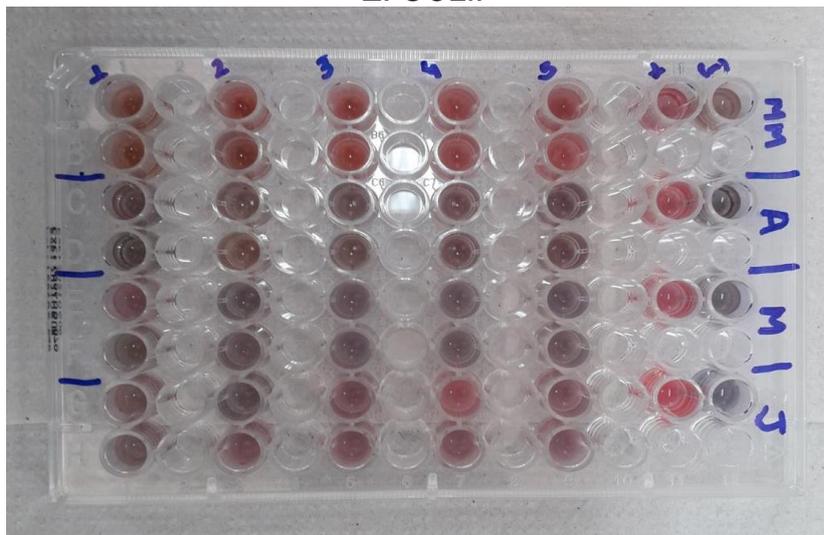
4.7 Determinação da CIM para *E. coli* ATCC 25922, em microplaca utilizando a resazurina como indicador de viabilidade celular

IMAGEM 14 - DETERMINAÇÃO CIM DAS AMOSTRAS DE EP MPC E JPC CONTRA *E. COLI*.



FONTE: autoria própria.

IMAGEM 15 - DETERMINAÇÃO CIM DAS AMOSTRAS DE EP MM, M E J CONTRA *E. COLI*.



FONTE: autoria própria.

Nota: Os testes foram realizados em duplicatas, indicados pelas letras A e B. O controle positivo está indicado pelo sinal “+” e o controle negativo, pelo sinal “-“. Cor Azul, significa morte celular e não houve crescimento de microrganismo. Cor Rosa, significa crescimento bacteriano; a resazurina foi reduzida à resorufina pelas enzimas óxido-redutases presentes nas células vivas.