



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO PROFISSIONAL
CIÊNCIA E TECNOLOGIA EM SISTEMAS AGROINDUSTRIAIS**

HELENA KAROLYNE ARRUDA GUEDES

AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DO MEL E DA GEOPRÓPOLIS DA *Plebeia aff. flavocincta* AOS AGENTES *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*

POMBAL – PB
2018

HELENA KAROLYNE ARRUDA GUEDES

AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DO MEL E DA GEOPRÓPOLIS DA *Plebeia aff. flavocincta* AOS AGENTES *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Sistemas Agroindustriais da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Sistemas Agroindustriais.

Orientadores: D.Sc. José Cezário de Almeida
D.Sc. Patrício Borges Maracajá

G924a Guedes, Helena Karolyne Arruda.

Avaliação antimicrobiana do mel e da geoprópolis da *Plebeia aff. flavocincta* aos agentes *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* / Helena Karolyne Arruda Guedes. – Pombal, 2019.

29 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2018.

"Orientação: Prof. Dr. José Cezário de Almeida".

"Co-orientação: Prof. Dr. Patrício Borges Maracajá".

1. Mel de abelha. 2. Geoprópolis. 3. Atividade antimicrobiana. 4. Abelhas sem ferrão. 5. Meliponicultura. I. Almeida, José Cezário de. II. Maracajá, Patrício Borges. III. Título.

CDU 638.162(043)

HELENA KAROLYNE ARRUDA GUEDES

AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DO MEL E DA GEOPRÓPOLIS DA *Plebeia aff. flavocincta* AOS AGENTES *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*

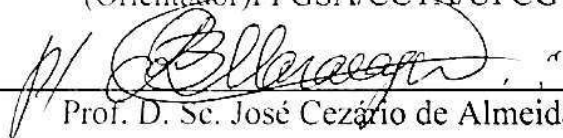
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Sistemas Agroindustriais da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Sistemas Agroindustriais.

Aprovada em 17 / 12 / 2018

COMISSÃO EXAMINADORA



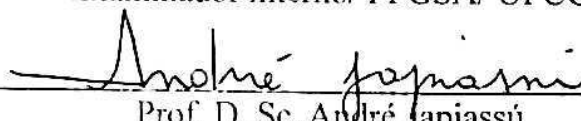
Prof. D. Sc. Patricio Borges Maracajá
(Orientador) PPGSA/CCTA/UFCG



Prof. D. Sc. José Cezário de Almeida
Orientador/ PPGSA/ UFCG



Prof. D. Sc. Aline Costa Ferreira
Examinador interno/ PPGSA/ UFCG



Prof. D. Sc. André Japiassú
Examinador externo/ UAGRA – CCTA – UFCG

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar todos os dias ao meu lado, conduzindo todos os meus passos. Por todas as oportunidades e vitórias conquistadas até hoje.

Aos meus pais Heleno e Lêda (*in memoriam*), por todos os ensinamentos, carinho, amor, respeito, além de tantos valores que me foram passados ao longo do tempo que pude estar na presença de vocês. Sei que estão em um lugar muito melhor que eu, sei que mesmo distante, posso contar com a força de vocês. Com certeza, não sei como explicar, mas posso senti-los

Todos os dias perto de mim. Tenho dois anjos no céu agora, olhando sempre por mim.

Á minha filha, Maria Clara. Anjo que deus também colocou em minha vida! Você é a melhor filha que eu poderia ter. Obrigada, por todas as vezes que foi comigo à Universidade, para fazer o pré-projeto, para assistir as aulas quando não tinha com quem deixá-la em casa, ou mesmo pela sua maturidade e compreensão, que aos 6 anos, ficava com as avós para mamãe assistir as aulas, muitas vezes à noite. Fomos guerreiras! Conseguimos a vitória.

Ao meu esposo Segundo, pela força e incentivo, por sempre estudar e acreditar em meu potencial. Mesmo distante, sua ajuda foi importante para cumprir essa etapa.

Ao meu grande mestre, Prof. orientador José Cezário de Almeida. Obrigada por todas as orientações, incentivos, ensinamentos e oportunidades concedidas. Me sinto como uma filha, assim, tenho o respeito de um pai. Com palavras, não posso agradecer, Por isso, peço que Deus cubra o senhor e sua família de bênçãos.

Ao grande mestre, orientador Patrício Borges Maracajá. O senhor é um grande sábio agraciado por Deus. Com certeza, carrega consigo o maior mandamento de todos: Amarás a Deus sobre todas as coisas e o teu próximo como a ti mesmo. Quem passa pela sua vida seja como seu aluno, ou como seu amigo, sente-se imensamente amado pelo amor de Deus. Com o senhor, aprendi não só coisas científicas, mas valores que levarei comigo para sempre. Pode ter certeza, que hoje, sou um ser humano melhor.

A minha orientadora Aline, você é luz onde passa. Também tem um coração enorme, cheio de amor, respeito, compreensão para com todos que a procuram. Com você, aprendi que o conhecimento é para todos. Que todos são capazes de progredir e de transformarem a história de suas vidas. Muito obrigada por todas as orientações e todas as oportunidades. Deus te abençoe grandemente!

Á minha querida tia, Norma e às primas Jucileide e Sheila, por terem sido imprescindíveis para o cumprimento desse sonho. A vocês, todo o meu respeito e admiração.

Deus cubra vocês de bênçãos. Vocês fazem parte dessa vitória!

Ao Ilustre Prefeito do Município de Paulista, Valmar Arruda, por ter me concedido a licença para cursar o mestrado. Sem sua ajuda, não teria realizado esse sonho! Não teria me aperfeiçoado. Deus continue fazendo de você essa pessoa humana, que se preocupa com o outro. Deus abençoe a você e a sua família sempre!

Ás grandes amigas, Pretinha e Juliana! Esse título também é de vocês!! Sem a força, incentivo e compreensão para que eu pudesse me afastar do trabalho para realizar esse aperfeiçoamento, nada seria possível. Muito obrigada por tudo!!!! Peço a Deus que cubra com seu manto santo a vida de vocês sempre. Meus pais se foram, mas tenham a certeza de que vocês duas são como mães para mim. Sinto a sinceridade do amor de vocês em minha vida! Obrigada!!!

Á tia Nady e Josa, pela força e por ter cuidado de minha filha todas as vezes que precisava assistir as aulas. Agradeço muito! Sem vocês, não teria conseguido ir tão longe.

Á minha colega de turma e irmã Anna Karyne Arruda Guedes. Obrigada por ter me incentivado a cursar o mestrado e a lutar por esse sonho. Obrigada por ter sido minha companheira, nas aulas, principalmente à noite! Obrigada por ter vindo para casa comigo, dormido comigo, sofrido comigo quando íamos depois das 23:00 ainda para o sítio da nossa tia Nady, para dormir lá, sozinhas, muitas vezes na chuva! Superamos todas as dificuldades.

Á todos os meus colegas de turma, em especial a Jordany. Obrigada por ter me incentivado, me ajudado nos trabalhos, por ter sido também companheira e amiga.

A Marília, Thalyla e Daniele, por todo o apoio e trocas de experiências durante a pesquisa desse trabalho. Apesar de todas as dificuldades, sinto que valeu à pena!

Enfim, a todos os professores, colegas funcionários que fizeram parte da minha vida por quase 2 anos de muito aprendizado e troca de experiências. Meus sinceros agradecimentos, em especial, á Normando e Geruza.

A Viviane, pelas orientações e paciência, e por corrigir meu trabalho com tanta dedicação! Meus agradecimentos e admiração!!

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse sonho!

Muito obrigada!

RESUMO

As abelhas sem ferrão ou meliponíneos compõe o grupo mais diversificado de abelhas sociais e estão distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do mundo. A utilização dos diversos produtos da meliponicultura é milenar entre os povos das Américas. Alguns estudos destacam a atividade anti-inflamatória e antioxidante do mel e da geoprópolis, atribuídas aos diversos compostos polifenólicos que os compõem. Nas últimas décadas, devido ao aparecimento de patógenos resistentes a antibióticos e à incidência de efeitos colaterais ocasionados por medicamentos, estudiosos têm investigado as propriedades antimicrobianas de diferentes produtos naturais, a exemplo do mel e geoprópolis. Este estudo teve como objetivo avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana do mel de abelha Jati (*Plebeia aff. Flavocincta*), em bioensaios para o controle de *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. O método utilizado foi o teste de difusão em ágar, também chamado de difusão em placas. Os resultados desta pesquisa demonstraram que o extrato de geoprópolis formou halo de inibição contra *Escherichia coli*, bem como contra *Pseudomonas aeruginosa*, tendo atividade bacteriostática, mesmo após 8 dias de observação. O extrato do mel, não apresentou atividade antibacteriana em nenhuma das cepas deste estudo, não apresentando nenhum halo de inibição, ocorrendo assim, crescimento bacteriano.

Palavras-chave: Abelhas sem ferrão. Atividade antimicrobiana. Geoprópolis. Mel. Meliponicultura.

ABSTRACT

The stingless bees or meliponines make up the most diverse group of social bees, distributed in tropical and subtropical regions of the world. The use of the various products of meliponicultura is millenarian among the peoples of the Americas. Some studies highlight the anti-inflammatory and antioxidant activity of honey and geopropolis, attributed to the various polyphenolic compounds that make them up. In the last decades, due to the appearance of antibiotic-resistant pathogens and the incidence of side effects caused by drugs, researchers have investigated the antimicrobial properties of different natural products, such as honey and geopropolis. This study aimed to evaluate *in vitro* the antimicrobial activity of the honeybee Jati (*Plebeia* aff. *Flavocincta*) in bioassays for the control of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. The method used was the agar diffusion test, also called plate diffusion. The results of this research demonstrated that the geopropolis extract formed inhibition halo against *Escherichia coli*, as well as against *Pseudomonas aeruginosa*, having bacteriostatic activity, even after 8 days of observation. Honey extract did not present antibacterial activity in any of the strains of this study, showing no inhibition halo, thus occurring bacterial growth.

Keywords: Stingless bees. Antimicrobial activity. Geopropolis. Honey. Meliponicultura.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Escherichia coli/Extrato mel.....	21
Figura 2. Escherichia coli/Extrato própolis.....	21
Figura 3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> /Extrato mel.....	23
Figura 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> /Extrato própolis.....	23

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 OBJETIVO.....	11
2.1 OBJETIVO GERAL.....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICO.....	12
3.1 AS ABELHAS: HISTÓRICO E IMPORTÂNCIA.....	12
3.2 MEL E GEOPRÓPOLIS DE ABELHAS SEM FERRÃO: COMPOSIÇÃO E EFEITOS MEDICINAIS.....	14
3.4 RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA COMO UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA.....	15
3.5 CARACTERIZANDO OS MICROORGANISMOS DO ESTUDO.....	15
3.3 A ABELHA JATI (<i>Plebeia aff. Flavocincta</i>).....	16
4 METODOLOGIA.....	18
4.1 OBTENÇÃO DA GEOPRÓPOLIS E DO MEL.....	18
4.2 PREPARAÇÃO E OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	18
4.3 MATERIAIS.....	18
4.4 CULTIVO E MANUTENÇÃO DOS MICROORGANISMOS EM LABORATÓRIO....	19
4.5 ANTIBIOGRAMA E BIOENSAIOS in vito.....	19
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
6 CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

As abelhas podem ser reunidas na superfamília Apoidea, a qual é constituída por várias famílias. As abelhas com características mais sociais estão reunidas na família Apidae, a qual é subdividida em quatro subfamílias: Apíneos, Meliponíneos, Bombíneos e Euglossíneos (NOGUEIRA-NETO, 1997). No Brasil, além da espécie *Apis mellifera*, abelhas que foram introduzidas pelos Europeus, existem as abelhas da tribo Meliponini, conhecidas como abelhas-indígenas-sem-ferrão (GONÇALVES; ALVES FILHO; MENEZES, 2005).

As abelhas sem ferrão, ou meliponíneos, compõem o grupo mais diversificado de abelhas sociais e estão distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do mundo. O Brasil contém a maior diversidade de meliponíneos do planeta, e é na Amazônia que essa diversidade alcança a sua plenitude, podendo ser encontrados em outras regiões, como a região Nordeste. (VENTURIERI, 2012).

A utilização dos diversos produtos da meliponicultura é milenar entre os povos das Américas. Desses, o mel é considerado o mais importante e conhecido, principalmente pelo seu uso como alimento, desde a antiguidade, assim como pelo seu valor nutricional e medicinal (SILVA et al., 2006). A sua ação biológica inibe várias espécies de micro-organismos, incluindo-se alguns fungos, bactérias e vírus, como exemplo, espécies filamentosas de fungos como *Aspergillus* e *Penicilium*, além de algumas bactérias aeróbicas e anaeróbicas, Gram-positivas e Gram-negativas (MOLAN, 1992 apud HENRIQUES, 2004).

Além do mel, as Meliponas fornecem o pólen, cerume e a geoprópolis, que consiste em um material resultante da composição de barro, cera e resinas que essas abelhas utilizam para a construção de seus ninhos, para se protegerem de seus inimigos. Alguns estudos destacam ainda a atividade anti-inflamatória e antioxidante do mel e da geoprópolis, atribuídas aos diversos compostos polifenólicos que os compõem (MATOS et al., 2013).

Nas últimas décadas, devido ao aparecimento de patógenos resistentes a antibióticos e à incidência de efeitos colaterais ocasionados por medicamentos, estudiosos têm investigado as propriedades antimicrobianas de diferentes produtos naturais, a exemplo do mel.

Acredita-se que tal produto possua propriedades curativas específicas, sendo empregados para a cura de um amplo espectro de doenças, dentre as quais, micoses –doenças infecciosas causadas por fungos, assim como em doenças bacterianas (BROWN; BANUCHJ; SELESNICK, 2013).

Sabendo-se que muitos microrganismos apresentam resistência aos antibióticos e antifúngicos comerciais e que estes medicamentos possuem reações adversas conhecidas na literatura, percebe-se nos produtos de origem natural, como o mel de abelha, uma solução importante a ser estudada como futura opção terapêutica.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana do mel da abelha Jati (*Plebeia aff. Flavocincta*), em bioensaios para o controle de *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Obter os extratos do mel e da geoprópolis da abelha *Plebeia aff. Flavocincta*;
- ✓ Avaliar por antibiograma o potencial antimicrobiano do extrato do mel e da geoprópolis da abelha *Plebeia aff. flavocincta* em testes de bioensaios contra as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC) e *Escherichia coli* (ATCC);
- ✓ Propor alternativas de uso e aplicação do mel e da geoprópolis contra as atividades dos agentes microbianos *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* como alternativas à antibióticoterapia.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 AS ABELHAS: HISTÓRICO E IMPORTÂNCIA

Os insetos estão entre os mais diversos e bem-sucedidos animais do planeta Terra, ocorrendo em praticamente todos os tipos de ambientes, tendo sido catalogadas cerca de um milhão de espécies de insetos, o que corresponde a quase $\frac{3}{4}$ de todas as espécies animais conhecidos (GRIMALDI; ENGEL, 2005).

Dentre os insetos da Ordem Hymenoptera, podemos destacar as abelhas como um dos grupos mais diversos, com registro de cerca de 20.000 espécies já descritas, porém com estimativa de que, pelo menos, 3.000 delas ocorram no Brasil (SILVEIRA *et al.*, 2002, MICHENER, 2007). As abelhas podem ser reunidas na superfamília Apoidea, a qual é constituída por várias famílias. As abelhas com características mais sociais estão reunidas na família Apidae, a qual é subdividida em quatro subfamílias: Apíneos, Meliponíneos, Bombíneos e Euglossíneos (NOGUEIRA-NETO, 1997).

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

A tribo das abelhas que inclui os meliponíneos (Meliponini) é composta por 59 grupos de abelhas atuais (não incluindo as espécies fósseis), os quais, a depender da classificação adotada, são reconhecidos como gêneros, subgêneros (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Seu tamanho varia desde aproximadamente 2 mm em *Leurotrigona pusilla* (MOURE *et al.*, 1988) a até 15 mm em *Melipona*, como por exemplo *M. fuliginosa* Lepeletier, 1836. Embora sua distribuição geográfica seja basicamente pantropical, a maior diversidade de formas ocorre nos trópicos das regiões Neotropicais (com 32 gêneros exclusivos) e Indo-Malaia, com alguns táxons restritos às regiões subtropicais do hemisfério sul (CAMARGO, 1989; CAMARGO; PEDRO, 2008).

Morfologicamente, os meliponíneos podem ser facilmente distinguidos dentre as outras

abelhas pela redução da venação alar, a redução do ferrão (apenas vestigial), a ausência de esporão nas tíbias posteriores e a presença do lobo jugal nas asas posteriores Logo, é importante lembrar também que as abelhas do grupo dos meliponíneos fazem parte do grupo das abelhas corbiculadas (Família Apidae), e que exibem comportamento verdadeiramente social, possuindo colônias perenes e apresentando divisão de castas/trabalho, sendo os habitantes dos ninhos representados por várias gerações de operárias (sobreposição de gerações), alguns machos, rainhas virgens e, geralmente, apenas uma rainha fisiogástrica (rainha fecundada e com abdome dilatado (OLIVEIRA et al., 2013).

De acordo com Camargo e Pedro (2007 *apud* Vilas Boas, 2010, p. 12), a diversidade de Meliponini na região neotropical envolve 33 gêneros, compreendendo um extinto (*Proplebeia*) e 391 espécies. Porém, existem muitas espécies ainda não descritas. Uma operária é facilmente reconhecida pela presença da corbícula, localizada no terceiro par de pernas, a qual é utilizada para o transporte do pólen, resina e outros materiais de construção coletados nas flores, outras partes das plantas ou diferentes materiais como barro. A corbícula é formada por uma depressão na tíbia cercada por cerdas especiais (e às vezes pelos plumosos), que no conjunto ajudam a segurar o pólen e outros materiais durante seu transporte (OLIVEIRA et al., 2013).

Elas são responsáveis por todas as atividades de manutenção da colônia, tais como: cuidado com as crias, coleta e processamento do alimento, cuidado com a própria higiene para evitar doenças, construção dos favos de cria, potes de armazenamento, invólucro, limpeza do ninho, defesa da colônia e da rainha, dentre outras atividades. As tarefas desenvolvidas pelas operárias variam de acordo com a idade e as necessidades da própria colônia, sendo que em média estes indivíduos vivem de 30 a 40 dias. Em algumas espécies de Meliponini, as operárias podem realizar postura de ovos, seja na presença ou na ausência de rainha fisiogástrica, e, como esses ovos são haploides, somente dão origem aos zangões (um fenômeno biológico conhecido como partenogênese). Esses ovos postos pelas operárias podem servir de alimento para a rainha, e, por isso, são chamados de “ovos tróficos” (OLIVEIRA et al., 2013).

Machos (Zangões): Os machos ou zangões são facilmente reconhecidos por apresentarem a cabeça mais arredondada do que a das operárias e mais estreita inferiormente, por não possuírem corbícula, por apresentarem o escapo mais curto e largo e as mandíbulas menores (que nas operárias e rainhas), sendo que o abdômen difere por apresentar um segmento visível a mais (n=7) a cópula, podendo apresentar desenhos amarelos na cabeça mais destacados, diferentemente das operárias e da rainha. Geralmente, os zangões não coletam néctar nas flores (OLIVEIRA et al., 2013).

Rainhas: Na grande maioria das espécies de abelhas existe apenas uma rainha fisiogástrica por colônia, sendo poucos os casos de ocorrência natural de poliginia. As rainhas da maioria das espécies de meliponíneos nascem em células reais, que são células de cria maiores, geralmente construídas nas periferias dos favos, ou nascem de casulos reais (pela junção de duas células de cria normais); essas rainhas que eclodem de células reais são bem maiores que as operárias (OLIVEIRA et al., 2013).

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

3.2 MEL E GEOPRÓPOLIS DE ABELHAS SEM FERRÃO: COMPOSIÇÃO E EFEITOS MEDICINAIS

A utilização dos diversos produtos da meliponicultura é milenar entre os povos das Américas. O Brasil contém a maior diversidade de meliponíneos do planeta, e é na Amazônia que essa diversidade alcança a sua plenitude, podendo ser encontrados em outras regiões do Brasil como a região Nordeste. (VENTURIERI, 2008).

O mel é produzido a partir do néctar e outras exsudações naturais das plantas que são coletadas, processadas e armazenadas pelas abelhas. O néctar é processado com o uso de enzimas digestivas desses insetos, transformando em mel, sendo armazenado em potes para servir-lhes de alimento. O mel de meliponíneos apresenta elevado valor medicinal, teor de água maior do que o mel produzido pelo gênero *Apis* (abelhas com ferrão) e é propício à fermentação, assim, deve ser consumido rapidamente. O aroma e o sabor desses méis possuem características únicas, dependendo da florada e da espécie de abelha que os produziu (OLIVEIRA et al., 2013).

Embora a produção de mel das abelhas sem ferrão seja inferior à da abelha italiana, os meliponíneos possuem vantagens muito importantes em relação às outras espécies, especialmente pelo fato de elas estarem muito mais adaptadas à polinização das árvores de nossa floresta e à nossa cultura e realidade. O mel das abelhas indígenas obtém melhor preço no mercado, por se tratar de um produto especial, orgânico e raro (VENTURIERI, 2008).

Além do mel, as Meliponas fornecem o pólen, cerume e a geoprópolis, que é um material resultante da composição de barro, cera e resinas que essas abelhas utilizam para a construção de seus ninhos, para se protegerem de seus inimigos. Alguns estudos destacam a atividade anti-inflamatória e antioxidante do mel e da geoprópolis. Os efeitos terapêuticos da geoprópolis e

do mel dessas abelhas têm sido atribuídos aos diversos compostos polifenólicos que a compõem. Entre eles, os flavonoides e ácidos fenólicos podem ser considerados os principais compostos. O mel e a geoprópolis tem sido utilizada também no tratamento de doenças pulmonares, como gripes, resfriados e no tratamento de algumas doenças microbianas, queimaduras e feridas (OLIVEIRA et al., 2013).

3.3 A ABELHA JATI (*Plebeia aff. Flavocincta*)

A classificação da *Plebeia aff. Flavocincta* de forma taxonômica no Reino Animália, filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Hymenoptera, superfamília Apoidea, família Apidae, e gênero *Plebeia* apresenta 39 espécies diferentes (INTEGRATED TAXONOMIC INFORMATION SYSTEM, 2011).

As *Plebeia aff. flavocincta*, são as abelhas nativas sem ferrão adaptadas a condição semiárida nordestina. Costa et al. (2013), em um estudo sobre a origem floral dos recursos coletados por *Melipona subnitida* e *Plebeia aff. Flavocincta (apinae, meliponini)* em ambiente da caatinga no Rio Grande do Norte, revelou que a flora visitada pela Meliponas, foi representada por 28 tipos polínicos e 10 famílias botânicas. Os tipos polínicos identificados foram; *Chamaecrista* sp, *Mimosa arenosa*, *Anandantera colubrina*, *Pityrocarpa moniliformes*, *Senna obtusifolia*, *Citrulus* sp, *Psidium guajava*, *Mimosa* sp, *Eucalipitus* ssp, *Mimosa tenuiflora*, *Mimosa quadrivalvis*, *Senna* sp, *Croton* sp, *Indet sp1*, *Senna macranthera*, *Senna sp1*, *Spermacose verticilata*, *Croton sp2*, *Indet sp2*, *Leucaena*, *Leucocephala*, *Alternanthera tenella*, *Anacardium* sp, *Aracaceae*, *Asteraceae*, *Poinciana bracteosa*, *Chamissoa* sp, *Passiflora* sp e *Turnera melochioides*.

3.4 RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA COMO UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA

A resistência antimicrobiana tornou-se o principal problema de saúde pública no mundo, afetando todos os países, desenvolvidos ou não (NEUSA, 2004). Constitui uma consequência do uso indiscriminado de antibióticos em humanos e animais. Tal prática aumenta o risco de selecionar organismos resistentes, muitos dos quais não serão mais controlados, se causarem futuras infecções. É o caso da *Pseudomonas aeruginosa*, bactérias-antibiótico-resistentes, que têm aumentado dramaticamente, ao passo que outras consideradas no passado inofensivas, como as bactérias que compõem a nossa flora normal (exemplo: *Staphylococcus epidermidis*),

têm sido agora causa de infecções hospitalares nestes recentes anos (NEUSA, 2004).

O impacto das bactérias-resistentes, e o uso indiscriminado de antibióticos no meio hospitalar é um problema mundial que vem preocupando o meio científico. Dessa forma, torna-se importante por parte dos profissionais e da população o uso prudente de antibióticos como medida para minimizar o surgimento de bactérias antibiótico-resistentes no ambiente hospitalar. Além disso, o uso de produtos naturais para tratar as infecções, apresentam-se como uma medida terapêutica alternativa e importantíssima frente a tal realidade (BRAOIOS et al., 2009).

Apesar de sua relevância, pouco se sabe a respeito dos efeitos antibacterianos e antifúngicos do mel e do geoprópolis da abelha *Plebeia aff. flavocincta*. O objetivo proposto foi observar em laboratório a atividade antibacteriana e antifúngica do mel de abelha *Plebeia aff. flavocincta* frente aos microrganismos *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

3.5 CARACTERIZANDO OS MICROORGANISMOS DO ESTUDO

Escherichia Coli constitui um grupo de bactérias que habitam normalmente o intestino humano e de alguns animais, no entanto, nem todas E. Coli são inofensivas. Certos tipos são nocivos e causam gastroenterite com intensa diarreia com muco, ou infecção urinária. Existem 4 tipos de E. coli que causam infecções intestinais: E. coli enterotoxigênica, enteroinvasiva, enteropatogênica e enterohemorrágica. Os sintomas da infecção surgem, geralmente, de 5 a 7 horas após a entrada dessa bactéria no sistema digestório e são: diarreia forte, com muco ou sangue, intensa dor epigástrica, vômito, febre baixa de até 38,5°C. Em alguns indivíduos, pode levar a complicações mais graves, como um súbito comprometimento renal, podendo causar uma lesão renal permanente. A transmissão dessa bactéria ocorre através da água ou alimentos contaminados, ou através do contato com as fezes da pessoa contaminada, e por isso é de fácil transmissão especialmente entre as crianças em idade escolar (TRABULSI, 1999).

A presença da *E. Coli* na urina causa infecção urinária, e passa do ânus para a vagina, devido a sua proximidade. Alguns exemplos de doenças que podem ser causadas pela contaminação com a E. Coli são: Gastroenterite, quando afeta o intestino; Infecção urinária, quando chega na uretra ou bexiga; Pielonefrite, quando afeta os rins depois de uma infecção urinária; Apendicite, quando afeta o apêndice do intestino; Meningite, quando chega no sistema nervoso; Septicemia, quando se espalha pelo sangue em todo corpo (BRAOIOS et al., 2009).

O tratamento inclui ingestão de bastante líquido e sais de reidratação oral, e em alguns casos, aconselha-se o uso de antibióticos, prescritos pelo médico, como: Aminopenicilina,

cefalosporinas, quinolonas, estreptomicina, ácido nalidixico, ampicilina, cefalotina, ciprofloxacina, gentamicina e levofloxacina. Cerca de 10% das pessoas infectadas desenvolvem a Síndrome Hemolítico-Urémico e a Púrpura Trombocitopénica Trombótica, doenças que causam insuficiência renal aguda e trombose. A prevenção contra a contaminação com *E. Coli* consiste em: Lavar as mãos após usar o banheiro, lavar as mãos antes e depois de preparar as refeições, lavar bem os alimentos antes de serem consumidos (TRABULSI, 1999).

O gênero *Pseudomonas* constitui a família Pseudomonadaceae, seus membros caracterizam-se como bacilos gram-negativos retos ou ligeiramente curvos, aeróbios estritos, a maioria das cepas apresenta motilidade através de um ou mais flagelos polares, utiliza glicose e outros carboidratos oxidativamente e em geral são citocromo oxidase positivos (5,9). É um agente patogênico oportunista que causa doenças como: Infecções do Trato Urinário, Infecções no Sistema Respiratório, Infecções da Pele e dos Tecidos Moles, Infecções Oftalmológicas, Infecções Ósseas e Articulares e outras infecções sistêmicas. (TRABULSI, 1999).

Uma característica da espécie é a capacidade de produzir um pigmento azul-esverdeado (piocianina), denominado de bacilo piocianico, encontrado em pacientes com queimaduras ou fibrose cística, estes pacientes são mais propensos a adquirir a infecção por *Pseudomonas aeruginosa* devido ao estado imunodeprimidos (TRABULSI, 1999).

As infecções urinárias estão associadas ao uso de cateteres ou sondas, em alguns pacientes a bactéria provoca pneumonia mortal através do uso de respiradores contaminados. Esta bactéria permanece como um dos mais prevalentes agentes das infecções hospitalares, pela habilidade que possui de se desenvolver no próprio ambiente hospitalar, como no ar, em reservatórios de água e outros fluídos, e em superfícies inanimadas que cercam o paciente, proporcionando focos de contato e de transmissão (BRAOIOS et al., 2009).

Atualmente, essa bactéria é responsável por aproximadamente quinze por cento dos casos (15%) de bacteremia causada por germes Gram-negativos, a mortalidade nestes casos chega a ser de cinquenta por cento (50%), o diagnóstico da infecção é feito pela cultura do material proveniente do processo infeccioso. Esta espécie é naturalmente resistente a vários tipos de antibióticos devido a uma barreira de permeabilidade oferecida por sua membrana exterior Lipopolissacarídeo – L.PS. O Tratamento inclui os seguintes antibióticos: Penicilinas: Piperacilina; Piperacilina + Tozabactam; Ticarcilina+ Clavulanato. -Cefalosporinas: Ceftazidima e Cefepima. -Carbapenems: Imipenem + Cilastina e Meropenem. - Monobactâmico: Aztreonam -Aminoglicosídeos: Gentamicina; Amicacina e Tobramicina. - Quinolonas: Ciprofloxacino e Levofloxacino (TRABULSI, 1999).

4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO DA GEOPRÓPOLIS E DO MEL

Os produtos naturais testados foram o mel e geoprópolis da abelha *Plebeia aff. flavocincta*, coletados em um meliponário no assentamento Quixaba no município de Mossoró-RN e no assentamento Amazona no município da Serra do mel-RN, no período de abril e maio de 2018. As amostras foram acondicionadas e encaminhadas para análises primárias no laboratório de microbiologia da UFCG- campus de Cajazeiras-PB. Após esta etapa, foram produzidos os extratos alcóolicos para utilização nos bioensaios.

4.2 PREPARAÇÃO E OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

A preparação dos extratos seguiu as seguintes etapas: foi pesado em balança analítica 10.1943 g da própolis e adicionadas 81mL de álcool 70°GL, na proporção de 1:8 (amostra: solvente) em seguida foi feita agitação em sheik por 4 horas, e 40 minutos no banho ultrassônico, decorrido esse tempo foi feita a filtração em bomba de vácuo e papel filtro 40 da Whatman, após esta etapa foi realizada a evaporação do solvente em banho maria a 65°C, segundo a metodologia de Torres et al. (2002).

Para obtenção do extrato do mel foi pesado em balança analítica 51.084g do mel e adicionadas 408mL de álcool 70°GL, na proporção de 1:8 (amostra: solvente) em seguida foi feita agitação em sheik por 4 horas, e 40 minutos no banho ultrassônico, decorrido esse tempo foi feita a filtração em bomba de vácuo e papel filtro 40 da Whatman, após esta etapa foi realizada a evaporação do solvente em banho maria a 65°C, segundo metodologia de Torres et al. (2002). Deve-se conservar as amostras sobre refrigeração e proteção da luz.

4.3 MATERIAIS

Os materiais utilizados na pesquisa para a coleta foram: seringas de 10mL com agulha 30 x10 mm e isopor para o transporte do mel coletado in natura. No laboratório foram utilizadas pipeta de 100 µL, água destilada, suporte para tubos de ensaio, tubo de ensaio, suabs, placas de petri de 9mm, antibióticos, alça bacteriológica descartável, pipeta de microtitulação, bico de Bunsen, além de equipamentos como estufa, autoclave.

4.4 CULTIVO E MANUTENÇÃO DOS MICRORGANISMOS EM LABORATÓRIO

Este trabalho foi realizado por meio de observação direta, experimental e de laboratório, analisando o mel e geoprópolis de *Plebeia aff. flavocincta* e sua atividade antibacteriana “in vitro”, frente a dois microrganismos: *Escherichia Coli* e *Pseudomonas Aeruginosa*.

O método utilizado foi o teste de difusão em ágar, também chamado de difusão em placas, é um método físico, no qual um microrganismo é desafiado contra uma substância biologicamente ativa em meio de cultura sólido e relaciona o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo desafiado com a concentração da substância ensaiada (OSTROSKY, et al., 2008).

Para preparação do inóculo, primeiramente as bactérias foram cultivadas em meio de cultura Agar Mueller Hinton, (AMH), que foi pesado e diluído de acordo com instrução do fabricante. Em seguida, o meio foi colocado em erlermaier e aquecido no bico de busen para diluição. Então, foi esterilizado em autoclave a 121° Celsius por 15 minutos. Dessa maneira, o meio foi colocado em placas de petri e feito o repique das bactérias (*E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa*). As bactérias foram semeadas com alça de platina flambada (técnica de estriamento e esgotamento) na superfície das placas e em seguidas incubadas em estufa por 24 horas a 37° Celsius.

Após esse período, as colônias foram transferidas para tubos de ensaio estéreis com 3 ml de solução salina estéril (NaCl 0,85% p/v), e a suspensão feita por suaves agitações e raspagens com auxílio de uma alça de platina em “L”. Após agitação, a turbidez das suspensões foi comparada e ajustada àquela apresentada pela solução de sulfato de bário do tubo 0,5 da escala McFarland, a qual corresponde a um inóculo de aproximadamente 10⁶ unidades formadoras de colônias/mL (UFC/mL). Após a turbidez, as bactérias foram transferidas para placas de petri de 9mm, contendo meio AMH com o auxílio de um suab, sendo feita a técnica de estriamento nas placas.

4.5 ANTIBIOGRAMA E BIOENSAIOS in vitro

Após essa etapa, foram colocados 5 microlitros de extrato de mel e de própolis, respectivamente, para cada tipo de bactéria, com o auxílio de uma pipeta de microtitulação, realizando a técnica de gotejamento direto.

Em seguida, as placas foram incubadas a 37°C e examinadas diariamente para a contagem das colônias, bem como para avaliação da atividade antimicrobiana.

Um controle positivo de microrganismo foi realizado colocando-se antibióticos nas placas para avaliar a inibição das bactérias. Os antibióticos usados foram: ciprofloxacino, meropenem, gentamicina e tobramicina, todos utilizados de acordo com protocolo internacional de antibióticos. Também foi realizado um controle negativo, utilizando placas semeadas apenas com bactérias. Todo o procedimento foi feito paralelamente, seguindo a mesma metodologia para o extrato do mel e para o geoprópolis em triplicata.

A atividade antimicrobiana foi determinada pela análise visual da inibição do crescimento em cada placa, comparando com o controle (ausente de drogas e com antibiótico).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta pesquisa demonstraram que o extrato do geoprópolis formou alo de inibição contra *Escherichia coli*, bem como contra *Pseudomonas aeruginosa*, tendo atividade bacteriostática, mesmo após 8 dias de observação. O extrato do mel, não apresentou atividade antibacteriana em nenhuma das cepas deste estudo, não apresentando nenhum alo de inibição, ocorrendo assim, crescimento bacteriano.



Figura 1. *Escherichia coli*/ extrato mel



Figura 2. *Escherichia coli*/ extrato própolis

Estes dados, corroboram com os de Silva, J.B. et al (2016), em seu estudo que objetivou avaliar a composição química e potencial terapêutico do extrato hidroalcolico de geoprópolis produzidas por abelhas *Plebeia aff. Flavocincta* no semiárido do Rio Grande do Norte. Os extratos foram considerados eficazes no que se refere a atividade antibacteriana, pois, das oito amostras, cinco promoveram a formação de halos de inibição ≥ 9 mm para todas as cepas testadas. Duas amostras (D e G) se destacaram em relação as demais por apresentar excelentes resultados, uma vez que, promoveram a formação de halos de inibição para as bactérias *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*, superiores estatisticamente aos valores dos

antibióticos controles, quando na concentração de 100%. As amostras A e G promoveram, respectivamente, a formação de halos de inibição, que não diferiram significativamente dos halos produzidos pelos antibióticos controles em todas as concentrações testadas para *E. coli* e *Staphylococcus aureus*.

A análise do processo de cicatrização sob os pontos de vista clínico, macroscópico e histológico permitiu concluir, que o uso do creme à base de geoprópolis apresentou influência positiva na cicatrização de feridas cutâneas experimentais, por promover reação inflamatória menos intensa e fechamento mais rápido das feridas em relação ao grupo controle.

Packer e Luz (2016) demonstraram em seu estudo sobre método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural que a própolis apresenta eficiente atividade contra as bactérias Gram-positivas como *E. coli*. A Geoprópolis é uma mistura de material resinoso, coletado das plantas, com cera e argila. É armazenado em grandes quantidades dentro das colmeias e tem a função semelhante à própolis da *A. melífera* (CABRAL, 2014).

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

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

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



Figura 3. *Pseudomonas aeruginosa*/ Extrato mel



Figura 4. *Pseudomonas aeruginosa*/Extrato própolis

Cabral, (2014) em seu estudo sobre a avaliação antimicrobiana do mel e extrato hidroetanólico de geoprópolis (EEGP) da abelha uruçú-nordestina (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811) contra as cepas padrões de *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* e em cepas de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), observou que *S. aureus* foi a cepa mais sensível com halos de inibição de 21 a 39 mm em todas amostras de mel testadas, enquanto que *C. albicans* não apresentou sensibilidade.

Os EEGP inibiram o crescimento de todas as cepas testadas, com exceção de *E. coli*, nos testes de difusão em meio ágar Mueller-Hinton. Os valores de CIM 90 dos EEGP para *B. cereus* e *S. aureus* variaram de 1:10 a 1:640 (diluções do extrato bruto a 30%) em diferentes amostras, enquanto que para *C. albicans* variaram entre o extrato bruto e a diluição de 1:8. Todas as amostras de mel fresco e EEGP da abelha uruçú apresentaram atividade contra as cepas MRSA. Os dados obtidos neste trabalho demonstram que o mel e geoprópolis têm potencial para uso terapêutico no controle e combate de infecções microbianas.

Cunha et al. (2013), sugerem que o geoprópolis apresenta como composto principal benzofenonas poliprenilados, em vez de flavonoides como em outros tipos de própolis. Souza et al. (2013) destacam os fenilpropanoides e flavonoides como principais grupos presentes no extrato de geoprópolis de *Melipona subnitida*, além de demonstrar a atividade antioxidante do extrato.

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

6 CONCLUSÃO

Diante do exposto, conclui-se que o geoprópolis da abelha Jatí para a região constitui uma inovação à pesquisa na área da saúde da população, principalmente de doenças comuns causadas por bactérias e fungos, como os agentes que foram empregados nesse estudo.

Vislumbra-se, posteriormente, aprofundar os estudos com os extratos do mel e a geoprópolis obtidos nas concentrações testadas e que estes apresentem-se como uma alternativa terapêutica no tratamento de patologias humanas, sendo também objeto de solicitação de registro de Patente junto aos órgãos federais de agricultura e saúde.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, C. J. et al. **Isolation by HPLC and characterisation of the bioactive fraction of New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey**. Carbohydrate Research. Hamilton: Elsevier, v. 343, p. 651–659, 2008.
- ARRUDA, EA, Infecção hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa*, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 1998; 31:503-504.
- BANKOVA, V. et al. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. **Apidologie**, v. 29, 361 – 367. 1998.
- BRAOIOS, A. et al. Infecções do trato urinário em pacientes não hospitalizados: etiologia e padrão de resistência aos antimicrobianos, **J Bras Patol Med Lab**, v. 45 • n. 6 • p. 449-456, dezembro 2009.
- BRASIL. **Decreto-Lei nº 214/2003, de 18 de setembro de 2003**. Diário da República – I Série-A, nº 216, p. 6057 – 6060. 18 de setembro de 2003.
- BRASIL. **Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000**. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Diário Oficial da União, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasília, DF, Seção 1, p. 23. 23 out. 2000.
- BRUSCA, R.C.; BRUSCA G.J. **Invertebrados**. 2 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007, 968 p., Ilustrações de Nancy Haver; Coordenador de tradução Fábio Lang da Silveira; tradução Alvaro Esteves Migotto et al. Tradução de Invertebrates, 2nd ed. ISBN 978-85-277-1258-3.
- BURIOL, L. et al. Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. **Quim. Nova**, v. 32, n. 2, p. 296-302. 2009.
- CABRAL, V. A. **Atividade antimicrobiana do mel e geoprópolis de abelha uruçú (*Melipona scutellaris* Latreille, 1811)**. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.
- CAMARGO J. M. F.; PEDRO, S. R. de M. *Meliponini* Lepeletier, 1836, p. 272–578. In: J.S. Moure, D. Urban & G.A.R. Melo (Orgs.). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region**. Curitiba, Sociedade Brasileira de Entomologia, 2007, xiv+1058pp.
- CAMARGO J. M. F.; PEDRO, S. R. de M. **Meliponini Lepeletier, 1836**. In: J.S. Moure, D. Urban & G.A.R. Melo (Orgs.). **Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea)**, 2012.
- CAMARGO J. M. F.; PEDRO, S. R. de M. Revisão das espécies de *Melipona* do grupo fuliginos a (Hymenoptera, Apoidea, Apidae, Meliponini). **Revista Brasileira de Entomologia**, 2008, 52(3): 411-427.
- CAMARGO, J. M. F.; VIT, P. **Historical Biogeography of the Meliponini (Hymenoptera, Apidae, Apinae) of the Neotropical Region**. p. 19-34. In: Vit, P.; 2013.
- COSTA, C.C.A et al. Origem floral dos recursos coletados por *Melipona subnitida* e *Plebeia*

aff. Flavocincta (apinae, meliponini) em ambiente da caatinga. In: Congresso nordestino de apicultura e meliponicultura – abelha e meio ambiente: desenvolvimento com sustentabilidade, 3. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável. Anais...** João Pessoa-PB, 2013.

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

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

FARIA, M. R.G. et al. Avaliação da Capacidade Antifúngica de mel e geoprópolis de *Melipona quadrifasciata*, sobre *Candida albicans*. **Revista Eletrônica da Faculdade Evangélica de Ceres- REFACER** v. 6, n. 1, 2017. ISSN: 2317-1367.

GONÇALVES, A. L.; ALVES-FILHO, A.; MENEZES, H. 2005. **Atividade antimicrobiana do mel da abelha nativa sem ferrão *Nannotrigona testaceicornis* (Hmenoptera: Apidae, Meliponini)**. Arquivos do Instituto de Biologia. 72(4): 455-459. São Paulo.

INTEGRATED TAXONOMIC INFORMATION SYSTEM. ***Plebeia flavocincta* (cockerell, 1912), catalogue of life**. 2011. Disponível em <<http://www.catalogueoflife.org/annualchecklist/2011/details/species/id/6972136/source/tree>> acesso em: 13 jun. 2018.

JARDEL B.S et al. **Quantificação de fenóis, flavonoides totais e atividades farmacológicas de geoprópolis de *Plebeia aff. flavocincta* do Rio Grande do Norte**. Pesquisa de vegetação brasileira, v.9, n.36, p.874-880, 2016.

KONEMAN, EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, **Diagnóstico Microbiológico 5ª Ed.** Medsi, São Paulo, 2001.

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

LIMA, M. V. D. **Geoprópolis produzida por diferentes espécies de abelhas: atividades antimicrobiana e antioxidante e determinação do teor de compostos fenólicos**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará, Belém, 2015.

MDS. **Infecções Ósseas e Articulares** - <http://www.osteomielite.tripod.com/index.html>. Acesso em: 24 nov. 2017.

MDS. Infecções por *Pseudomonas aeruginosa*, seção 17; 177. **Infecções bacilares**. Disponível em: www.msdbrazil.com/msdbrazil/pacientes/manual_merck/mm_sec17_177. Acesso em: 24 nov. 2017.

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

MOLAN, P. C. The antibacterial activity of honey: **The nature of the antibacterial activity.** *Bee World*, Hamilton, New Zealand: [s.n.], v. 73, n.1, p. 5 - 28, 1992a.

MOORE, C. B. et al. Antifungal drug resistance in *Aspergillus*. **Journal of Infection.** v. 41, n. 3, p. 203 - 220, 2000.

NEUSA, Santos. Queiroz. **A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar.** Sistema de informação científica, v.13, n.1, p.64-70, 2004. Disponível em: <http://www.redalyc.org/html/714/71409807/> Acesso em: 12/06/2018.

NOGUEIRA, J. C. R. et al. Identificação e suscetibilidade antimicrobiana de microrganismos obtidos de otite externa aguda. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia.** São Paulo: [s.n.], v. 74, n. 4, 2008.

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

NOGUEIRA-NETO, P. 2009. Árvores para as abelhas e para aves. **Revista Mensagem Doce, APACAME.** Número 100. 9p. Disponível em: <<http://www.apacame.org.br/msgdoce.htm>> Acesso em: 17 mai. 2018.

OLIVEIRA, F.F. et al. **Guia Ilustrado das Abelhas “Sem-Ferrão” das Reservas Amanã e Mamirauá, Brasil (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)** Tefé: IDSM, 2013. 267 p. il.ISBN: 978-85-88758-27-8 in the Neotropical Region-online version. Disponível em: <<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>> Acesso em: 11 mar. 2018.

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.** [S.n.: s.i.], p. 301-307, 2008

PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. (Eds). **Pot-Honey: Alegary of stingless bees.** Media New York. 627p.

PNEUMONIAS HOSPITALARES. **Revista Prática Hospitalar**, Ano X, nº 58, Julho/Agosto 2008. Disponível em: www.praticahospitalar.com.br/pratica%2028.html. Acesso em: 12 jun. 2018.

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

SILVA, A. P. V. et al. Atividade antifúngica do mel de abelha *Plebeia* cf. *Flavocinta* contra *Aspergillus Níger*. **Revista ACTA APICOLA BRASILICA**, Paraiba, v.03, n.1, p.01-09, jan-dez.2015. Disponível em: <<http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/APB>>. Acesso em: 11 jul. 2017.

SILVA, R. A. et al. **Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha.** Alimentos e Nutrição, Araraquara, v. 17, n. 1, p. 113 – 120, 2006.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. 2002. **Abelhas brasileiras: sistemática e identificação**. Belo Horizonte. Min. Meio Ambiente/Fund. Araraucária.253p

TRABULSI, LR, Alterthum F, Gompertz OF, Candeias JAN, **Microbiologia** 3ª Ed. Atheneu, São Paulo, 1999.

USP Revista - **Diagnóstico Bacteriológico** 2001; 134. Disponível em: www.fmrp.usp.br/revista/2001/vol34n1/diagnostico_bacteriologico.pdf/infecções_do_trato_urinário.com.br. Acesso em 27 nov. 2017.

VENTURIERY, G. C, et al. **Meliponicultura no Brasil: situação atual e perspectivas futuras**. In: Imperatriz-Fonseca VL, Canhos DAL, Alves DA, Saraiva AM, editors. São Paulo: EDUSP: 2012. Disponível em: https://scholar.google.com.br/scholar?cites=8649497733892381999&as_sdt=2005&scioldt=0,5&hl=pt-BR. Acesso em: 12 jun. 2018.

VENTURIERY, G. C. Criação de abelhas indígenas sem ferrão / Giorgio Cristino Venturieri. - 2. ed. rev. atual. - **Belém**, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2008.

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

WIN W. Jr. et al. **Diagnóstico Microbiológico** 6ª Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2008.