



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CEILÂNDIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS EM SAÚDE

KAROLINA OLIVEIRA GOMES

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE  
PRÓPOLIS VERDES DE ABELHAS *Apis mellifera* E EXTRATOS DE PRÓPOLIS DE  
DIFERENTES ABELHAS SEM FERRÃO (*Meliponini*)**

Brasília-DF, 2024

KAROLINA OLIVEIRA GOMES

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS VERDES DE ABELHAS *Apis mellifera* E EXTRATOS DE PRÓPOLIS DE DIFERENTES ABELHAS SEM FERRÃO (*Meliponini*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi

Brasília-DF, 2024

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

OG633a Oliveira Gomes, Karolina  
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE  
PRÓPOLIS VERDES DE ABELHAS Apis mellifera E EXTRATOS DE  
PRÓPOLIS DE DIFERENTES ABELHAS SEM FERRÃO (Meliponini) /  
Karolina Oliveira Gomes; orientador Daniela Orsi. --  
Brasília, 2024.  
159 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologias em Saúde)  
-- Universidade de Brasília, 2024.

1. Bactérias Gram-Negativas. 2. Bactérias Gram-Positivas.  
3. Compostos Fenólicos. 4. Ensaio da Capacidade Antioxidante  
de Equivalência Trolox. 5. Testes de Sensibilidade  
Microbiana. I. Orsi, Daniela, orient. II. Título.

KAROLINA OLIVEIRA GOMES

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE  
PRÓPOLIS VERDES DE ABELHAS *Apis mellifera* E EXTRATOS DE PRÓPOLIS DE  
DIFERENTES ABELHAS SEM FERRÃO (*Meliponini*)**

Banca Examinadora

---

Profª. Dra. Daniela Castilho Orsi (Presidente)

Universidade de Brasília

---

Profª. Dra. Vania Silva Carvalho

Instituto Federal de Goiás

---

Profª. Dra. Cainara Lins Draeger

Centro Universitário LS

---

Prof. Dr. Guilherme Martins Gelfuso (Suplente)

Universidade de Brasília

## AGRADECIMENTOS

Minha enorme gratidão a Deus por me proporcionar sabedoria e discernimento durante toda trajetória no mestrado acadêmico e ao longo de outras atividades neste período.

A minha família, principalmente minha mãe Maria Lúcia por todos incentivos e apoios em diversos momentos da minha vida.

Aos meus amigos(as) pesquisadores, obrigado(a) pela força e compreensão.

Aos meus professores da Universidade e do Programa de Ciências Tecnologias em Saúde ao proporcionarem os melhores conhecimentos e reflexões profissionais e de vida.

A minha orientadora professora doutora Daniela Castillo Orsi, pela pessoa maravilhosa que é, por seu profissionalismo e atenção com todos os trabalhos realizados e oportunidades alcançadas.

## RESUMO

Os compostos bioativos presentes nos extratos de própolis conferem propriedades antimicrobianas e antioxidantes a esses produtos. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi realizar a caracterização físico-química e avaliar a atividade antimicrobiana de extratos de própolis verdes de *Apis mellifera* e de abelhas sem ferrão, incluindo mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*), jataí (*Tetragonisca angustula*), heborá (*Tetragona clavipes*) e tubuna (*Scaptotrigona bipunctata*), produzidos nas regiões Centro-Oeste e Sul do Brasil. Para isso, foram obtidas 11 amostras, sendo 9 extratos de própolis comerciais (4 verdes do Distrito Federal, 1 mandaçaia do Rio Grande do Sul e 1 mandaçaia do Distrito Federal, 1 jataí do Distrito Federal, 1 heborá do Distrito Federal e 1 tubuna do Rio Grande do Sul) e 2 amostras de própolis *in natura* (mandaçaia de Santa Catarina e jataí do Paraná) que obtiveram seus extratos preparados no laboratório. As análises físico-químicas foram determinadas pelo teor de extrato seco, compostos fenólicos e atividade antioxidante pelos métodos DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazol-6-ácido sulfônico). A atividade antibacteriana foi determinada por ensaio de disco-difusão, determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). Observou-se que 7 amostras (63,63%) apresentaram teor de extrato seco acima de 11% e 4 amostras comerciais (36,36%) apresentaram quantidades inferiores a 11%, estando em desacordo com a legislação brasileira. Todos os extratos de própolis verdes apresentaram valores de compostos fenólicos acima de 0,50%, estando de acordo com a legislação brasileira. Em relação as amostras das abelhas sem ferrão houve bastante variação nos valores de compostos fenólicos (0-2,66%). No Brasil ainda não há uma regulamentação oficial sobre os valores mínimos de compostos fenólicos e atividade antioxidante para os extratos de própolis das abelhas sem ferrão. Os extratos de própolis com os maiores valores de compostos fenólicos apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante (amostra comercial verde 1 e heborá), mostrando uma correlação positiva entre a quantidade de compostos fenólicos e a atividade antioxidante. No ensaio de disco-difusão, as amostras não apresentaram halos de inibição contra as bactérias Gram-negativas. Para as bactérias Gram-positivas, 3 amostras (27,27%) que foram jataí (Paraná e Distrito Federal) e tubuna não apresentaram halos de inibição e as outras 8 amostras (72,73%) apresentaram halos de inibição entre 19,0 e 49,0 mm. Para as bactérias Gram-positivas, a CIM das amostras ficou entre 0,001 e 0,20 mg/mL, e a CBM entre 0,02 e 0,50 mg/mL e as maiores atividades antimicrobianas foram obtidas para os extratos de própolis verdes (amostras 1, 2 e 3) e heborá. A amostra mandaçaia (amostra 5) também se destacou tendo uma eficiente

atividade antimicrobiana. Para as bactérias Gram-negativas, a CIM dos extratos de própolis ficou entre 0,03 e 0,20 mg/mL e a CBM entre 0,15 e 0,50 mg/mL. Nesse estudo, ficou evidente que níveis muito baixos de compostos fenólicos e atividade antioxidante prejudicaram a atividade antimicrobiana dos extratos de própolis tubuna e jataí. Outro resultado notório foi que os extratos de própolis das abelhas nativas mandaçaia (amostra 5) e heborá obtiveram atividade antimicrobiana comparável aos extratos de própolis verdes (amostras 1, 2 e 3) e estas foram as melhores atividades antibacterianas do estudo.

**Palavras-chave:** Bactérias Gram-Negativas; Bactérias Gram-Positivas; Compostos Fenólicos; Ensaio da Capacidade Antioxidante de Equivalência Trolox; Testes de Sensibilidade Microbiana.

## ABSTRACT

The bioactive compounds present in propolis extracts confer antimicrobial and antioxidant properties to these products. Therefore, the aim of this study was to perform the physicochemical characterization and evaluate the antimicrobial activity of green propolis extracts from *Apis mellifera* and from stingless bees, including mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*), jataí (*Tetragonisca angustula*), heborá (*Tetragona clavipes*), and tubuna (*Scaptotrigona bipunctata*), produced in the Midwest and Southern regions of Brazil. For this purpose, 11 samples were obtained, comprising 9 commercial propolis extracts (4 green from the Federal District, 1 mandaçaia from Rio Grande do Sul and 1 mandaçaia from the Federal District, 1 jataí from the Federal District, 1 heborá from the Federal District and 1 tubuna from Rio Grande do Sul) and 2 samples of raw propolis (mandaçaia from Santa Catarina and jataí from Paraná) which were prepared into extracts in the laboratory. Physicochemical analyses were determined by the content of dry extract, phenolic compounds, and antioxidant activity by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS (2,2-azinobis-3-ethylbenzoline-6-sulfonic acid) methods. The antibacterial activity was determined by disk diffusion assay, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) determination, and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). It was observed that 7 samples (63.63%) had a dry extract content above 11%, while 4 commercial samples (36.36%) had quantities below 11%, thus not complying with Brazilian legislation. All green propolis extracts showed phenolic compound values above 0.50%, complying with Brazilian legislation. Regarding the stingless bee samples, there was considerable variation in phenolic compound values (ranging from 0 to 2.66%). In Brazil, there is still no official regulation regarding minimum values of phenolic compounds and antioxidant activity for propolis extracts from stingless bees. The propolis extracts with the highest phenolic compound values also exhibited the highest antioxidant activity (green commercial sample 1 and heborá), showing a positive correlation between the concentration of phenolic compounds and antioxidant activity. In the disk diffusion assay, the samples did not show inhibition zones against Gram-negative bacteria. For Gram-positive bacteria, 3 samples (27.27%) that were jataí (Paraná and Federal District) and tubuna did not exhibit inhibition zones, while the other 8 samples (72.73%) showed inhibition zones ranging from 19.0 to 49.0 mm. For Gram-positive bacteria, the MIC of the samples ranged from 0.001 to 0.20 mg/mL, and the MBC ranged from 0.02 to 0.50 mg/mL. The highest antimicrobial activities were obtained for green propolis extracts (samples 1, 2 and 3) and heborá. The mandaçaia (sample 5) also stood out for its

efficient antimicrobial activity. For Gram-negative bacteria, the MIC of the propolis extracts ranged from 0.03 to 0.20 mg/mL, and the MBC ranged from 0.15 to 0.50 mg/mL. In this study, it became evident that very low levels of phenolic compounds and antioxidant activity impaired the antimicrobial activity of the propolis extracts from tubuna and jataí. Another noteworthy result was that the propolis extracts from the native bees mandaçaia (sample 5) and heborá exhibited antimicrobial activity comparable to that of green propolis extracts (samples 1, 2 and 3), and these were the samples with the best antibacterial activities in the study.

**Keywords:** Gram-Negative Bacteria; Gram-Positive Bacteria; Microbial Sensitivity Tests; Oxygen Radical Absorbance Capacity; Phenolic Compounds.

## LISTA DE APÊNDICES

<b>APÊNDICE 1</b> – Caracterização físico-química dos extratos de própolis.....	90
<b>APÊNDICE 1.1</b> – Teor de extrato seco dos extratos de própolis.....	90
<b>APÊNDICE 1.2</b> – Curva padrão dos compostos fenólicos.....	91
<b>APÊNDICE 1.3</b> – Curva padrão de DPPH.....	92
<b>APÊNDICE 1.4</b> – Curva padrão de ABTS.....	93
<b>APÊNDICE 2</b> – Análises da atividade antimicrobiana dos extratos de própolis.....	94
<b>APÊNDICE 2.1</b> – Ensaio por disco-difusão das bactérias Gram-positivas.....	94
<b>APÊNDICE 2.2</b> – Ensaio por disco-difusão das bactérias Gram-negativas.....	100
<b>APÊNDICE 2.3</b> – Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos de própolis para as bactérias Gram-positivas.....	104
<b>APÊNDICE 2.4</b> – Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos de própolis para as bactérias Gram-negativas.....	113
<b>APÊNDICE 2.5</b> – Concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos de própolis para as bactérias Gram-positivas.....	123
<b>APÊNDICE 2.6</b> – Concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos de própolis para as bactérias Gram-negativas.....	140

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b> – Componentes químicos representativos da própolis verde.....	29
<b>FIGURA 2</b> – Mecanismos de transferência horizontal de genes bacterianos.....	40
<b>FIGURA 3</b> – Transferência genética mediada por vesículas.....	41
<b>FIGURA 4</b> – Obtenção dos extratos das própolis de mandaçaia e jataí.....	48
<b>FIGURA 5</b> – Representação colorimétrica da reação entre resazurina e os inóculos bacterianos.....	52

## LISTA DE IMAGENS

<b>IMAGEM 1</b> – Própolis de <i>Melipona quadrifasciata</i> (amostra 5).....	31
<b>IMAGEM 2</b> – Própolis de <i>Tetragonisca angustula</i> (amostra 8).....	31
<b>IMAGEM 3</b> – Extratos de própolis comerciais verdes de <i>Apis mellifera</i> (amostras 1, 2, 3 e 4), de <i>M. quadrifasciata</i> (mandaçaia amostra 7 e 6), de <i>T. angustula</i> (jataí amostra 9), de <i>Tetragona clavipes</i> (heborá amostra 10) e de <i>Scaptotrigona bipunctata</i> (tubuna amostra 11)	33
<b>IMAGEM 4</b> – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis verde amostra 1 comercial...	94
<b>IMAGEM 5</b> – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis verde amostra 2 comercial...	94
<b>IMAGEM 6</b> – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis verde amostra 3 comercial...	95
<b>IMAGEM 7</b> – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis verde amostra 4 comercial...	95
<b>IMAGEM 8</b> – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 <i>in natura</i> .....	96
<b>IMAGEM 9</b> – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial.....	96
<b>IMAGEM 10</b> – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial.....	97
<b>IMAGEM 11</b> – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis jataí amostra 8 <i>in natura</i> ...	97
<b>IMAGEM 12</b> – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial...	98
<b>IMAGEM 13</b> – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial.....	98
<b>IMAGEM 14</b> – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial.....	99
<b>IMAGEM 15</b> – Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis comerciais verdes amostras 2, 1, 4 e 3.....	100
<b>IMAGEM 16</b> – Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis de <i>T. angustula</i> (jataí <i>in natura</i> e jataí amostra 9 comercial), de <i>M. quadrifasciata</i> (mandaçaia amostra 7, amostra 5 <i>in natura</i> e amostra 6), de <i>S. bipunctata</i> (tubuna amostra 11) e de <i>T. clavipes</i> (heborá amostra 10).....	100
<b>IMAGEM 17</b> – Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis de <i>S. bipunctata</i> (tubuna amostra 11), de <i>T. clavipes</i> (heborá amostra 10), de <i>T. angustula</i> (jataí amostra 8 <i>in natura</i> e jataí amostra 9 comercial) e de <i>M. quadrifasciata</i> (mandaçaia amostra 7, amostra 6 e amostra 5).....	101
<b>IMAGEM 18</b> – Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis comerciais verdes amostras 4, 3, 1 e 2.....	101
<b>IMAGEM 19</b> – Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis de <i>M. quadrifasciata</i> (mandaçaia amostra 5, amostra 6 e amostra 7), <i>S. bipunctata</i> (tubuna amostra 11), de <i>T. clavipes</i> (heborá amostra 10) e de <i>T. angustula</i> (jataí amostra 9 comercial e amostra 8 <i>in natura</i> ).....	102
<b>IMAGEM 20</b> – Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis comerciais verdes amostras 2, 1, 3 e 4.....	102
<b>IMAGEM 21</b> – Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis de <i>T. angustula</i> (jataí amostra 8 <i>in natura</i> e jataí amostra 9 comercial), de <i>S. bipunctata</i> (tubuna amostra 11), de <i>T. clavipes</i> (heborá amostra 10) e de <i>M. quadrifasciata</i> (mandaçaia amostra 5, amostra 6 e amostra 7).....	103
<b>IMAGEM 22</b> – Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis comerciais verdes amostras 3, 4, 1 e 2.....	103

<b>IMAGEM 23</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 4, amostra 2 e amostra 1 para <i>Bacillus cereus</i> .....	104
<b>IMAGEM 24</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 5, amostra 8 e amostra 3 para <i>Bacillus cereus</i> .....	104
<b>IMAGEM 25</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 6 e amostra 7 para <i>Bacillus cereus</i> ...	105
<b>IMAGEM 26</b> – CIM do extrato de própolis amostra 10 para <i>Bacillus cereus</i> .....	105
<b>IMAGEM 27</b> – CIM do extrato de própolis amostra 11 para <i>Bacillus cereus</i> .....	106
<b>IMAGEM 28</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 1, amostra 2 e amostra 3 para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	106
<b>IMAGEM 29</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 9 e amostra 4 para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	107
<b>IMAGEM 30</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 7, amostra 9, amostra 5 e amostra 8 para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	107
<b>IMAGEM 31</b> – CIM do extrato de própolis amostra 6 para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	108
<b>IMAGEM 32</b> – CIM do extrato de própolis amostra 10 para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	108
<b>IMAGEM 33</b> – CIM do extrato de própolis amostra 11 para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	109
<b>IMAGEM 34</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 2 e amostra 1 para <i>Streptococcus mutans</i> .....	109
<b>IMAGEM 35</b> – CIM do extrato de própolis amostra 4 para <i>Streptococcus mutans</i> .....	110
<b>IMAGEM 36</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 5, amostra 8, amostra 7 e amostra 9 para <i>Streptococcus mutans</i> .....	110
<b>IMAGEM 37</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 5, amostra 6, amostra 7 e amostra 3 para <i>Streptococcus mutans</i> .....	111
<b>IMAGEM 38</b> – CIM do extrato de própolis amostra 10 para <i>Streptococcus mutans</i> .....	111
<b>IMAGEM 39</b> – CIM do extrato de própolis amostra 11 para <i>Streptococcus mutans</i> .....	112
<b>IMAGEM 40</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 4, amostra 3 e amostra 1 para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	113
<b>IMAGEM 41</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 6 e amostra 2 para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	113
<b>IMAGEM 42</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 9, amostra 7, amostra 5 e amostra 8 para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	114
<b>IMAGEM 43</b> – CIM do extrato de própolis amostra 10 para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	114
<b>IMAGEM 44</b> – CIM do extrato de própolis amostra 11 para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	115
<b>IMAGEM 45</b> – CIM dos extratos de própolis amostras 1, 2, 3 e 4 para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	115
<b>IMAGEM 46</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 8, amostra 5 e amostra 6 para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	116
<b>IMAGEM 47</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 7 e amostra 9 para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	116
<b>IMAGEM 48</b> – CIM do extrato de própolis amostra 10 para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	117
<b>IMAGEM 49</b> – CIM do extrato de própolis amostra 11 para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	117
<b>IMAGEM 50</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 4, amostra 2, amostra 1 e amostra 3 para <i>Salmonella entérica</i> .....	118
<b>IMAGEM 51</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 9, amostra 7, amostra 6 e amostra 5 para <i>Salmonella entérica</i> .....	118
<b>IMAGEM 52</b> – CIM do extrato de própolis amostra 8 para <i>Salmonella enterica</i> .....	119
<b>IMAGEM 53</b> – CIM do extrato de própolis amostra 10 para <i>Salmonella enterica</i> .....	119
<b>IMAGEM 54</b> – CIM do extrato de própolis amostra 11 para <i>Salmonella enterica</i> .....	120
<b>IMAGEM 55</b> – CIM do extrato de própolis amostra 3, amostra 2 e amostra 1 para <i>Escherichia coli</i> .....	120

<b>IMAGEM 56</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 2, amostra 4, amostra 7 e amostra 9 para <i>Escherichia coli</i> .....	121
<b>IMAGEM 57</b> – CIM dos extratos de própolis amostra 6, amostra 3, amostra 5 e amostra 8 para <i>Escherichia coli</i> .....	121
<b>IMAGEM 58</b> – CIM do extrato de própolis amostra 10 para <i>Escherichia coli</i> .....	122
<b>IMAGEM 59</b> – CIM do extrato de própolis amostra 11 para <i>Escherichia coli</i> .....	122
<b>IMAGEM 60</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para <i>Bacillus cereus</i> .....	123
<b>IMAGEM 61</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para <i>Bacillus cereus</i> .....	123
<b>IMAGEM 62</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para <i>Bacillus cereus</i> .....	124
<b>IMAGEM 63</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para <i>Bacillus cereus</i> .....	124
<b>IMAGEM 64</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 <i>in natura</i> para <i>Bacillus cereus</i> .....	125
<b>IMAGEM 65</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para <i>Bacillus cereus</i> .....	125
<b>IMAGEM 66</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial para <i>Bacillus cereus</i> .....	126
<b>IMAGEM 67</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 <i>in natura</i> para <i>Bacillus cereus</i> ..	126
<b>IMAGEM 68</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para <i>Bacillus cereus</i> .....	127
<b>IMAGEM 69</b> – CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para <i>Bacillus cereus</i> .....	127
<b>IMAGEM 70</b> – CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para <i>Bacillus cereus</i> .....	128
<b>IMAGEM 71</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	128
<b>IMAGEM 72</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	129
<b>IMAGEM 73</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	129
<b>IMAGEM 74</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	130
<b>IMAGEM 75</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 <i>in natura</i> para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	130
<b>IMAGEM 76</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	131
<b>IMAGEM 77</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	131
<b>IMAGEM 78</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 <i>in natura</i> para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	132
<b>IMAGEM 79</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	132
<b>IMAGEM 80</b> – CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	133
<b>IMAGEM 81</b> – CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	133

<b>IMAGEM 82</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para <i>Streptococcus mutans</i> .....	134
<b>IMAGEM 83</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para <i>Streptococcus mutans</i> .....	134
<b>IMAGEM 84</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para <i>Streptococcus mutans</i> .....	135
<b>IMAGEM 85</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para <i>Streptococcus mutans</i> .....	135
<b>IMAGEM 86</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 <i>in natura</i> para <i>Streptococcus mutans</i> .....	136
<b>IMAGEM 87</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para <i>Streptococcus mutans</i> .....	136
<b>IMAGEM 88</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial para <i>Streptococcus mutans</i> .....	137
<b>IMAGEM 89</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 <i>in natura</i> para <i>Streptococcus mutans</i> .....	137
<b>IMAGEM 90</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para <i>Streptococcus mutans</i> .....	138
<b>IMAGEM 91</b> – CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para <i>Streptococcus mutans</i> .....	138
<b>IMAGEM 92</b> – CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para <i>Streptococcus mutans</i> .....	139
<b>IMAGEM 93</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	140
<b>IMAGEM 94</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	140
<b>IMAGEM 95</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	141
<b>IMAGEM 96</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	141
<b>IMAGEM 97</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 <i>in natura</i> para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	142
<b>IMAGEM 98</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	142
<b>IMAGEM 99</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 <i>in natura</i> para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	143
<b>IMAGEM 100</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	143
<b>IMAGEM 101</b> – CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	144
<b>IMAGEM 102</b> – CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	144
<b>IMAGEM 103</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	145
<b>IMAGEM 104</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	145
<b>IMAGEM 105</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	146
<b>IMAGEM 106</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	146

<b>IMAGEM 107</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 <i>in natura</i> para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	147
<b>IMAGEM 108</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	147
<b>IMAGEM 109</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 <i>in natura</i> para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	148
<b>IMAGEM 110</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	148
<b>IMAGEM 111</b> – CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	149
<b>IMAGEM 112</b> – CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	149
<b>IMAGEM 113</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para <i>Salmonella enterica</i> .....	150
<b>IMAGEM 114</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para <i>Salmonella enterica</i> .....	150
<b>IMAGEM 115</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para <i>Salmonella enterica</i> .....	151
<b>IMAGEM 116</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para <i>Salmonella enterica</i> .....	151
<b>IMAGEM 117</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 <i>in natura</i> para <i>Salmonella enterica</i> .....	152
<b>IMAGEM 118</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para <i>Salmonella enterica</i> .....	152
<b>IMAGEM 119</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial para <i>Salmonella enterica</i> .....	153
<b>IMAGEM 120</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 <i>in natura</i> para <i>Salmonella enterica</i> .....	153
<b>IMAGEM 121</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para <i>Salmonella enterica</i> .....	154
<b>IMAGEM 122</b> – CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para <i>Salmonella enterica</i> .....	154
<b>IMAGEM 123</b> – CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para <i>Salmonella enterica</i> .....	155
<b>IMAGEM 124</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para <i>Escherichia coli</i> .....	155
<b>IMAGEM 125</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para <i>Escherichia coli</i> .....	156
<b>IMAGEM 126</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para <i>Escherichia coli</i> .....	156
<b>IMAGEM 127</b> – CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para <i>Escherichia coli</i> .....	157
<b>IMAGEM 128</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 <i>in natura</i> para <i>Escherichia coli</i> .....	157
<b>IMAGEM 129</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para <i>Escherichia coli</i> .....	158
<b>IMAGEM 130</b> – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial para <i>Escherichia coli</i> .....	158
<b>IMAGEM 131</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 <i>in natura</i> para <i>Escherichia coli</i> .....	159

<b>IMAGEM 132</b> – CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para <i>Escherichia coli</i> .....	159
<b>IMAGEM 133</b> – CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para <i>Escherichia coli</i> .....	160
<b>IMAGEM 134</b> – CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para <i>Escherichia coli</i> .....	160

## LISTA DE QUADROS

<b>QUADRO 1</b> – Requisitos físico-químicos para extratos de própolis de abelhas <i>Apis mellifera</i> estabelecidos pela legislação brasileira .....	43
<b>QUADRO 2</b> – Identificação das própolis verdes de <i>Apis mellifera</i> e das própolis de diferentes abelhas sem ferrão do grupo <i>Meliponini</i> .....	47

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> - Análises físico-químicas dos extratos de própolis verdes de <i>Apis mellifera</i> e dos extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo <i>Meliponini</i> .....	54
<b>TABELA 2</b> - Ensaio de disco-difusão dos extratos de própolis verdes de <i>Apis mellifera</i> e dos extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo <i>Meliponini</i> .....	59
<b>TABELA 3</b> - Determinação da CIM e da CBM dos extratos de própolis verdes de <i>Apis mellifera</i> e dos extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo <i>Meliponini</i> para bactérias Gram-positivas.....	61
<b>TABELA 4</b> - Determinação da CIM e da CBM dos extratos de própolis verdes de <i>Apis mellifera</i> e dos extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo <i>Meliponini</i> para as bactérias Gram-negativas.....	64

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2 azinobis-3-etilbenzolina-6-ácido sulfônico
ABTS/PP	2,2 azinobis-3-etilbenzolina-6-ácido sulfônico/Persulfato de potássio
<i>aff.</i>	Infrassubespecíficas
ANOVA	Análise de variância
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
ATCC 14579	Cepas padrão de <i>Bacillus cereus</i>
ATCC 25923	Cepas padrão de <i>Staphylococcus aureus</i>
ATCC 2517	Cepas padrão de <i>Streptococcus mutans</i>
ATCC 27853	Cepas padrão de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
ATCC BAA-1706	Cepas padrão de <i>Klebsiella pneumoniae</i>
ATCC 14028	Cepas padrão de <i>Salmonella enterica</i>
ATCC 25922	Cepas padrão de <i>Escherichia coli</i>
ATPase	Enzima adenosinatrifosfatase
<i>B. anthracis</i>	<i>Bacillus anthracis</i>
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>B. citotóxico</i>	<i>Bacillus citotóxico</i>
<i>Baccharis</i>	
<i>dracunculifolia</i> DC.	<i>Baccharis dracunculifolia</i> DC. (Asteraceae)
<i>B. mycoides</i>	<i>Bacillus mycoides</i>
<i>B. pseudomycoides</i>	<i>Bacillus pseudomycoides</i>
<i>B. thuringiensis</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
<i>B. toyonensis</i>	<i>Bacillus toyonensis</i>
<i>B. weihenstephanensis</i>	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>
B16F10	Células de melanoma murino da linha B16F10
BrCAST	<i>Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DAEC	Diffusely adherent <i>Escherichia coli</i>
DF	Distrito Federal
DNA	Ácido desoxirribonucleico

DPPH	2,2-difenil-1- picril-hidrazil
EAEC	Enteroaggregative <i>Escherichia coli</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
eDNA	Environmental DNA
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
EIEC	Enteroinvasive <i>Escherichia coli</i>
Emater	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural
EPEC	Enteropathogenic <i>Escherichia coli</i>
<i>et al.</i>	E outros
etc.	E outras coisas
ETEC	Enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i>
EUA	Estados Unidos da América
ExPEC	Extraintestinal pathogenic <i>Escherichia coli</i>
g	Gram(s)
Gram-positiva	Bactéria Gram-positiva
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HSV-1	Vírus Herpes Simplex
HT22	Célula neuronal do hipocampo HT22
IAL	Instituto Adolf Lutz
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Lep.	Lepeletier
LPS	Lipopolissacarídeo(s)
m/m	Massa por massa
m/v	Massa por volume
mg	Miligrama(s)
µg/mL	Microgramas por mililitros
µM	Milimolar
µL	Microlitro(s)
mL	Mililitro(s)

mm	Milímetro(s)
mM TE	Milimolar Trolox equivalent
<i>M. q. anthidioides</i>	<i>Melipona quadrifasciata anthidioides</i>
MRSA	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
n	Não detectado
n	Não houve halo de inibição microbiana
nm	Nanômetros
OMS	Organização Mundial da Saúde
p.	Página
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
<i>Populus L.</i>	Gênero <i>Populus L.</i>
PR	Paraná
p/v	Peso por volume
RS	Rio Grande do Sul
<i>S. enterica</i>	<i>Salmonella enterica</i>
SC	Santa Catarina
<i>S. bipunctata</i>	<i>Scaptotrigona bipunctata</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>S. pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
sp.	Espécie
spp.	Espécie
<i>S. Typhi</i>	<i>Salmonella enterica</i> sorovar Typhi
STEC	Shiga toxin producing <i>Escherichia coli</i>
<i>T. angustula</i>	<i>Tetragonisca angustula</i>
<i>T. clavipes</i>	<i>Tetragonisca clavipes</i>
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral
UFC/mL	Unidade Formadora de Colônia por mililitros
UV-Vis	Ultravioleta visível

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\alpha$ -amirina	Alfa amirina
$\beta$ -amirina	Beta amirina
$p < 0,05$	Com significância estatística
$\gamma$	Gama
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius
$^{\circ}\text{GL}$	Grau Lussac
$\geq$	Maior ou igual a
$\pm$	Mais ou menos
®	Marca registrada
n°	Número
IX	Número 9
%	Porcentagem
m%v	Porcentagem de massa por volume
ABTS <sup>•+</sup>	Radical cátion ABTS
7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona 10-óxido	Rezasurina sódica
1	Própolis verde comercial do Distrito Federal
2	Própolis verde comercial do Distrito Federal
3	Própolis verde comercial do Distrito Federal
4	Própolis verde comercial do Distrito Federal
5	Própolis mandaçai <i>in natura</i> de Santa Catarina
6	Própolis mandaçai comercial do Rio Grande do Sul
7	Própolis mandaçai comercial do Distrito Federal
8	Própolis jataí <i>in natura</i> do Paraná
9	Própolis jataí comercial do Distrito Federal
10	Própolis heborá comercial do Distrito Federal
11	Própolis tubuna comercial do Rio Grande do Sul

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	26
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	28
2.1 PRÓPOLIS DE ABELHAS <i>Apis mellifera</i> .....	28
2.2 PRÓPOLIS DE ABELHAS SEM FERRÃO DO GRUPO <i>Meliponini</i> .....	30
2.3. COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS PRÓPOLIS BRASILEIRAS .....	33
2.4 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DAS PRÓPOLIS BRASILEIRAS .....	34
2.5 BACTÉRIAS PATOGÊNICAS E INFECÇÕES BACTERIANAS .....	36
2.6 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA .....	39
2.7 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA ENVOLVENDO PRÓPOLIS .....	42
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	46
3.1 OBJETIVO GERAL .....	46
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	46
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	47
4.1 AMOSTRAS DE PRÓPOLIS .....	47
4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS EXTRATOS DE PRÓPOLIS .....	48
4.2.1 Teor de extrato seco .....	48
4.2.2 Compostos fenólicos totais .....	49
4.2.3 Atividade antioxidante pelo método DPPH .....	49
4.2.4 Atividade antioxidante pelo método ABTS .....	49
4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS .....	50
4.3.1 Preparo dos inóculos bacterianos .....	50
4.3.2 Ensaio por disco-difusão .....	50
4.3.3 Concentração Inibitória Mínima .....	51
4.3.4 Concentração Bactericida Mínima .....	52
4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	53
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	54
5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DOS EXTRATOS DE PRÓPOLIS .....	54
5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE PRÓPOLIS .....	58
5.2.1 Ensaio por disco-difusão .....	58
5.2.2 Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima dos extratos de própolis para as bactérias Gram-positivas .....	61
5.2.3 Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima dos extratos de própolis para as bactérias Gram-negativas .....	63

<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>67</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>68</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A própolis é composta por uma mistura de pólen e substâncias resinosas e balsâmicas coletadas pelas abelhas de botões, flores e exsudatos de plantas e misturada a secreções salivares de abelhas (Brasil, 2001, Anexo VI). A própolis brasileira é considerada uma rica fonte de compostos bioativos com propriedades farmacológicas (Franchin *et al.*, 2018, p. 50).

Os estudos com extratos de própolis mostraram efeitos terapêuticos como: atividade antimicrobiana, capacidade antioxidante, anti-inflamatória, antidiabética, imunomoduladora e anticancerígena (Patel, 2016). A investigação de produtos naturais como a própolis com atividade antimicrobiana tem atraído o interesse de muitos pesquisadores, motivados pelo aumento da resistência bacteriana às drogas antimicrobianas tradicionais (Sforcin, 2016). Os benefícios da própolis têm sido amplamente explorados em diversas áreas da medicina como um importante recurso na prevenção, manejo e tratamento de doenças bucais e sistêmicas (Freires; De Alencar; Rosalen, 2016, p. 268).

Como a própolis é um produto apícola de origem vegetal, sua composição química e atividade biológica dependem da especificidade da flora local, da época de colheita e da espécie de abelha (Tomazzoli *et al.*, 2015, p. 2). Duas abordagens têm sido comumente utilizadas para determinar a origem botânica da própolis: a composição química comparativa através de métodos cromatográficos (Freires; De Alencar; Rosalen, 2016, p. 268) e a análise palinológica<sup>1</sup> (Bandeira; Novais, 2021). Assim, a própolis contém resinas vegetais, pólen e outros fragmentos de plantas que podem ser utilizados para a identificação de sua origem botânica (Jain *et al.*, 2014, p. 79).

A origem botânica da própolis é usada para identificar marcadores químicos e definir a qualidade com base na concentração de componentes bioativos (Irigoití *et al.*, 2021, p. 299). Porém, a existência de muitos tipos de própolis e os diversos processos de produção dificultam a padronização dos produtos comercializados (Contieri *et al.*, 2022a, p. 8). Assim, a determinação das características físico-químicas dos extratos de própolis como teor de extrato seco, compostos fenólicos e as propriedades antioxidantes auxiliam na fixação dos padrões de qualidade da própolis e seus produtos derivados (Brasil, 2001).

Embora o Brasil seja o produtor exclusivo de própolis verde, o país não é um grande desenvolvedor de tecnologia. O Brasil produz a maior quantidade de produtos e as melhores matérias-primas do mundo, mas se destaca internacionalmente apenas na fase primária da

---

<sup>1</sup> Palinologia é o estudo de esporos e grãos de pólen (Simpson, 2020).

cadeia produtiva da própolis (De Oliveira *et al.*, 2022). No Brasil, a análise de informações extraídas de documentos de patentes até o ano de 2023, representado pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) foram encontrados 140 depósitos com própolis (Brasil, 2024).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PRÓPOLIS DE ABELHAS *Apis mellifera*

As abelhas presentes no Brasil, no geral, são um híbrido das abelhas europeias (*Apis mellifera mellifera*, *Apis mellifera ligustica*, *Apis mellifera caucasica* e *Apis mellifera camica*) com a abelha africana *Apis mellifera scutellata*. Assim, a apicultura brasileira tomou um novo rumo com a introdução da abelha africana (*Apis mellifera scutellata*) em 1956. Essas abelhas escaparam de um apiário experimental e passaram a se acasalar com as abelhas de raça europeia. Os cruzamentos naturais com abelhas de origem europeia e africana formaram um híbrido conhecido como abelha africanizada (Souza *et al.*, 2016; Surek *et al.*, 2021).

No início, a alta defensividade das abelhas africanizadas causou um grande problema na administração dos apiários brasileiros e por isso muitos apicultores abandonaram a atividade. Nos anos 70, a apicultura cresceu e se expandiu devido ao desenvolvimento de técnicas adequadas de manejo das abelhas africanizadas (Souza *et al.*, 2016). Embora a abelha africanizada seja muito agressiva, ela possui a vantagem de ser muito produtiva (própolis e mel), inclusive em temperaturas mais baixas, além de ser resistente a doenças e a escassez de alimentos (Trevisol *et al.*, 2022).

O Brasil tem pelo menos treze tipos diferentes de própolis brasileiras de *Apis mellifera* identificados (Franchin *et al.*, 2018, p. 51). Primeiramente, Park, Alencar e Aguiar (2002) classificou a origem botânica das própolis brasileiras em: própolis choupo (referente ao gênero *Populus* L.), própolis marrom (quimicamente semelhante à árvore derivada de *Hyptis*) e própolis verde (análoga a planta *Baccharis dracunculifolia*). Após a identificação dos primeiros 12 tipos de própolis brasileiras, um novo tipo foi descrito em 2007, a própolis vermelha (Alencar *et al.*, 2007, p. 278).

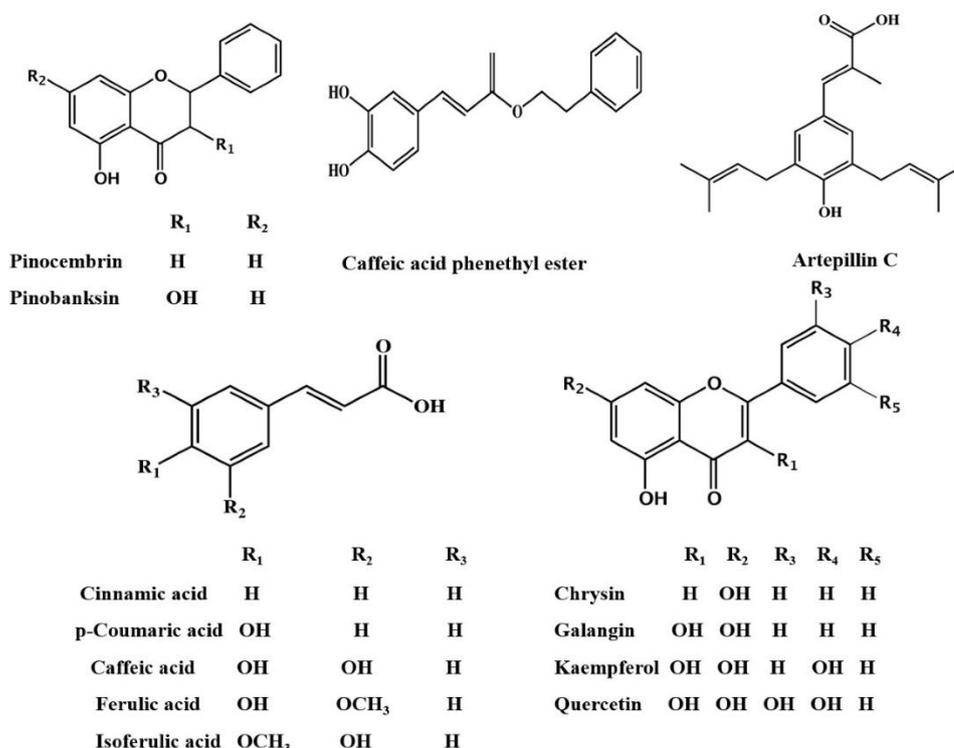
Essas treze categorias estão consolidadas cientificamente como tipos brasileiros de própolis de *A. mellifera*, mas outras própolis brasileiras estão sendo estudadas e poderão ser aceitas como novos tipos de própolis brasileiras (Franchin *et al.*, 2018, p. 52). Machado *et al.* (2016a) descreveram a própolis amarela de origem botânica desconhecida proveniente do Mato Grosso do Sul, cujos compostos principais foram  $\alpha$ -amirina,  $\beta$ -amirina, ursadienol, lupenona e oleanona. O ecossistema onde a própolis é coletada afeta diretamente sua composição fitoquímica, uma vez que os principais componentes da própolis são materiais coletados pelas abelhas (exsudatos, botões apicais e folhas jovens) de gêneros vegetais típicos de cada bioma (Franchin *et al.*, 2023, p. 3).

A partir da própolis marrom de fonte botânica *Araucaria angustifolia*, popularmente conhecida como araucária, nos estados do Paraná e Santa Catarina, Tiveron *et al.* (2020) e Santos *et al.* (2021) detectaram a presença de álcool e aldeído coniferílico, lariciresinol, secoisolariciresino, balajaponina D, pinoresinol, matairesinol, ácido isocupressico, ácido 13- *epi* -cupressico, *epi* -13-toruloso, ácido *trans*comunico, ácido ciscomúnico e ácido abiético.

Aldana-Mejía *et al.* (2021) estudaram a própolis vermelha de fonte botânica *Dalbergia ecastaphyllum*, popularmente conhecida como marmeleiro da praia, nos estados de Sergipe e Bahia e observaram a presença de formononetina, liquiritigenina, calicosina, vestitol, neovestitol, biochanina A, medicarpina, isoliquiritigenina e 7- *O* -metilvestitol.

A própolis verde de fonte botânica *Baccharis dracunculifolia*, popularmente conhecida como alecrim do campo, contém ácido cinâmico, ácido cafeico, ácido ferúlico e outros compostos como drupanina (ácido 4-hidroxi-3-prenil cinâmico) e ácidos diterpênicos (Huang *et al.*, 2014). A Figura 1 demonstra os principais componentes químicos encontrados na própolis verde.

**FIGURA 1** – Componentes químicos representativos da própolis verde



Fonte: (Huang *et al.*, 2014, p. 19611).

A própolis verde coletada no sudeste do Brasil e sua origem botânica primária (*B. dracunculifolia*) também contém terpenos, incluindo sesquiterpenos voláteis (espatulenol e nerolidol) (Rodrigues *et al.*, 2020). Outros compostos voláteis foram identificados na própolis verde da região de Minas Gerais, incluindo 2,3-diidrobenzofurano e ácido 2,5-dimetil- $\gamma$ -oxobenzenobutanóico (Ribeiro *et al.*, 2022). Costa *et al.* (2018) e Rodrigues *et al.* (2020) caracterizaram os compostos artemillina C, bacarina, ácido *p*-cumárico, drupanina, aromadendrina e kaempferida na própolis verde de *B. dracunculifolia* dos estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná.

No Rio Grande do Norte, Ferreira *et al.* (2017) identificaram na própolis verde de fonte botânica *Mimosa tenuiflora*, os seguintes compostos: quercetina, kaempferol, dimetoxi-di-hidroxicalcona, di-hidroxi-trimetoxiflavona. No bioma da Caatinga, Son, Ribeiro e Bastos (2022) comprovaram a presença dos compostos santin, ermanin, éter 3-metílico de quercetina, viscosina, axilarina, isokaempferida, kaempferida e tamarixetina na própolis verde de fonte botânica *Mimosa tenuiflora*.

Embora a literatura atual não identifique os mecanismos que levam as abelhas a reconhecerem os compostos, as coincidências nos componentes químicos da própolis indicam que as abelhas forrageiam ativamente e seletivamente resinas vegetais contendo compostos bioativos, particularmente compostos antimicrobianos (propriedades antibacterianas, antifúngicas, antiparasitárias e antivirais), para se protegerem contra patógenos e predadores (Tran *et al.*, 2020, p. 21).

## 2.2 PRÓPOLIS DE ABELHAS SEM FERRÃO DO GRUPO *Meliponini*

As abelhas sem ferrão pertencem à família Hymenoptera e subfamília Meliponinae e estão inseridas em uma das quatro tribos da família Apidae (Apinini, Bombini, Euglossini e Meliponini). As abelhas sem ferrão, também conhecidas como abelhas indígenas, são nativas de países tropicais e subtropicais como o Brasil, que se diferenciam de outras áreas geográficas pela enorme diversidade florística (Dos Santos *et al.*, 2022, p. 1; Isidorov *et al.*, 2022, p. 1). No Brasil foram descritas mais de 242 espécies de abelhas sem ferrão (Pedro, 2014, p. 349).

A espécie de abelha sem ferrão *Melipona quadrifasciata* Lep. (conhecida popularmente como mandaçaia) ocorre ao longo da costa do Brasil, entre os Estados da Paraíba ao Rio Grande do Sul, compreendendo então as regiões Nordeste, Sudeste e Sul do país (Santos *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2015; Teixeira *et al.*, 2017). A mandaçaia é uma espécie produtora de própolis (Imagem 1) e mel e em relação à produção de mel, cada colmeia das abelhas mandaçaia

consegue produzir de 2 a 3 litros de mel por ano, tornando-o um produto muito bem valorizado (Brito *et al.*, 2013).

Santos *et al.* (2017) identificaram no extrato de própolis de mandaçaia proveniente do estado de Mato Grosso do Sul a composição química de compostos fenólicos, flavanonas e terpenoides. Hochheim *et al.* (2020) verificaram em extratos de própolis de *M. quadrifasciata* proveniente do estado de Santa Catarina, os compostos fenólicos e flavonoides como: aromadendrina, ácido *p*-cumárico, naringenina, catequina, epicatequina e pinocembrina.

**IMAGEM 1** – Própolis de *Melipona quadrifasciata* (amostra 5)



Fonte: (Autoria própria, 2024).

Legenda: Própolis mandaçaia *in natura* proveniente de Santa Catarina, utilizada nos experimentos.

A espécie *Tetragonisca angustula* (Latreille), conhecida localmente como jataí, é uma das principais abelhas nativas sem ferrão da região Neotropical do continente americano (Vit; Pedro; Roubik, 2013). O mel e a própolis das abelhas jataí (Imagem 2) são bastante estudados pela comunidade científica por possuírem relevantes propriedades medicinais (Barreiras *et al.*, 2020). Santos *et al.* (2017) analisaram os extratos obtidos da própolis de *T. angustula* e observaram fenóis, taninos, flavonas, flavonóis, xantonas, esteroides e triterpenos.

**IMAGEM 2** – Própolis de *Tetragonisca angustula* (amostra 8)



Fonte: (Autoria própria, 2024).

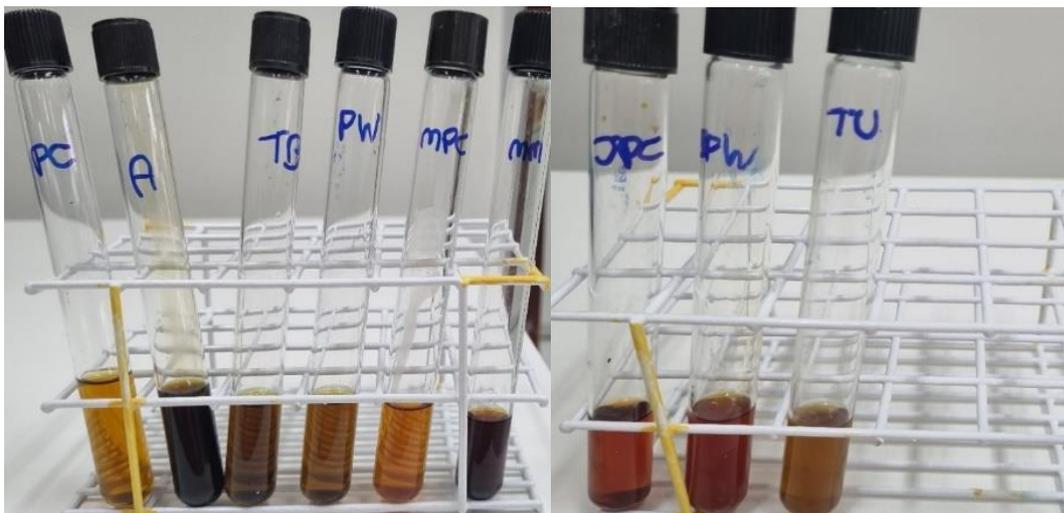
Legenda: Própolis jataí *in natura* proveniente do Paraná, utilizada nos experimentos.

No Brasil, a abelha *Tetragona clavipes* é encontrada nas regiões sudeste e sul e nos estados do Acre, Amapá, Amazonas, Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pará e Piauí (Moure, 2013). O nome mais popular dessa abelha é Borá, derivado do termo “hebora”, que em tupi significa “o que há de ter (mel)”. Por serem abelhas que formam colônias populosas, é uma espécie que há grande coleta e armazenamento tanto de mel quanto de própolis em comparação com outras espécies de abelhas sem ferrão (Imagem 3). Na Argentina, em amostras de própolis de heborá, Isidorov *et al.* (2022) reportaram hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterpênicos, hidrocarbonetos sesquiterpênicos, sesquiterpênicos, álcoois alifáticos, ácidos alifáticos, ésteres, aromáticos e outros compostos.

A espécie de abelha sem ferrão *Scaptotrigona bipunctata*, conhecida localmente como tubuna, possui ampla distribuição geográfica na Região Neotropical (Américas do Sul e Central), incluindo Bolívia, Brasil, Paraguai e Peru (Camargo; Pedro, 2013; Dallabona *et al.*, 2020, p. 1421). Cisilotto *et al.* (2018) apontaram presença de alcaloides piperidínicos, flavonoides C-glicosídeos, ácido diterpênico e triterpeno em extratos de própolis de tubuna em Santa Catarina.

Os produtos das abelhas sem ferrão como o mel e a própolis constituem um mercado emergente em diversas partes do mundo, com a possibilidade de a meliponicultura ser praticada em habitats florestais e territórios que enfrentam as mais graves necessidades econômicas e sociais (Salatino *et al.*, 2019, p. 27). Porém, apesar da grande diversidade de espécies de abelhas sem ferrão, relativamente poucos estudos investigaram e descreveram as propriedades químicas e farmacológicas desses produtos (Santos *et al.*, 2017, p. 9).

**IMAGEM 3** – Extratos de própolis comerciais verdes de *Apis mellifera* (amostras 1, 2, 3 e 4), de *M. quadrifasciata* (mandançaia amostra 7 e 6), de *T. angustula* (jataí amostra 9), de *Tetragona clavipes* (heborá amostra 10) e de *Scaptotrigona bipunctata* (tubuna amostra 11)



Fonte: (Autoria própria, 2024).

Legenda: Extratos de própolis comerciais utilizados nos experimentos.

### 2.3. COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS PRÓPOLIS BRASILEIRAS

A atividade antioxidante da própolis é resultante, principalmente, da presença de compostos fenólicos e flavonoides em sua composição (Da Silva *et al.*, 2018). A própolis, em geral, é considerada uma rica fonte de antioxidantes e por esse motivo, a atividade antioxidante é frequentemente testada nos extratos de própolis (Popova; Trusheva; Bankova, 2021, p. 9).

A oxidação de sistemas biológicos, oriunda de processos metabólicos e fisiológicos normais produz radicais livres que se apresentam, principalmente, na forma de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Um desequilíbrio a favor destes radicais livres diante dos mecanismos antioxidantes dos sistemas biológicos gera uma condição de estresse oxidativo, que está associado à patogênese de muitas doenças. Devido a sua alta atividade antioxidante, supõe-se que a própolis possua efeitos benéficos contra doenças relacionadas ao estresse oxidativo, reduzindo o efeito tóxico dos radicais livres (Kurek-Gorecka *et al.*, 2014).

O composto Artepillina C (ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico) é um derivado prenilado do ácido *p*-cumárico considerado um marcador químico da própolis verde brasileira proveniente da planta *B. dracunculifolia* encontrada no Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, sendo um dos seus principais componentes fenólicos biologicamente ativos (Machado *et al.*,

2016b, p. 2). Ferreira *et al.* (2017) também reportaram atividade antioxidante em extratos etanólicos da própolis verde de *Mimosa tenuiflora* proveniente da Bahia.

As própolis produzidas por diferentes espécies de abelhas sem ferrão contêm compostos fenólicos como benzofenonas (Da Cunha *et al.*, 2016a, p. 190), ácidos fenólicos (De Souza *et al.*, 2013), taninos hidrolisáveis (Dutra *et al.*, 2014) e flavonoides (Santos *et al.*, 2017, p. 2).

Em Santa Catarina, Hochheim *et al.* (2019), Cisilotto *et al.* (2018) e Santos *et al.* (2017) identificaram em extratos de própolis de mandaçaia os compostos fenólicos e flavonoides: aromandrina, ácido *p-cumárico*, naringerina, catequina, epicatequina, pinocembrina, galoilglicosídeos de ácidos fenólicos, agliconas flavonóides, ácidos diterpenos, rutina, quercetina, ácidos fenólicos, sakuranetina e ácidos gálico.

Dos Santos *et al.* (2017) e Torres *et al.* (2018) descreveram quercetina, galocatequina e ácido gálico em extratos de própolis de jataí proveniente de Santa Catarina. Piccinini *et al.* (2021) identificaram nos extratos de própolis de tubuna os seguintes compostos fenólicos: ácido protocatecuico, ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido gálico, ácido *p-cumárico*, catequina, kaempferol, quercetina e rutina.

Como a própolis é resinosa e precisa ser transformada em extrato antes do consumo, a etapa de extração deve incluir métodos com alto rendimento e capazes de recuperar os compostos bioativos (Patra; Abdullah; Pradhan, 2022). Com efeito, sabe-se que variações na extração, incluindo o tipo de solvente, condições de temperatura, técnica de maceração e tempo influenciam na composição do extrato (Putnik *et al.*, 2018).

As características de qualidade da própolis dependem muito da fonte botânica e dos métodos de extração utilizados no seu processamento (Pu *et al.*, 2023). Estudos sobre componentes de própolis de abelhas sem ferrão ainda são escassos, embora espécies de *Apis mellifera* tenham sido amplamente relatadas (Pujirahayu; Suzuki; Katayama, 2019, p. 2).

## 2.4 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DAS PRÓPOLIS BRASILEIRAS

A própolis verde brasileira é utilizada na medicina porque apresenta potencial para estimular a função imunológica e a cicatrização de feridas, além de possuir propriedades antimicrobianas e antioxidantes (Patel, 2016). Neiva *et al.* (2014) reportaram atividade anti-inflamatória da própolis verde, com eficaz redução da secreção de quimiocinas pró-inflamatórias induzidas por lipopolissacarídeo (LPS) e fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) em células cultivadas.

Takashima, Ichihara e Hirata (2019) mostraram que o extrato etanólico de própolis verde apresentou um efeito neuroprotetor em cultura de células do hipocampo HT22. Os compostos isolados da própolis verde como artepillina C, drupanina e kaempferida apresentaram atividade gastroprotetora em camundongos (Costa *et al.*, 2018, p. 86). Oliveira *et al.* (2014, p. 491) mostraram que os compostos artepillina C e bacarina tiveram atividade antiproliferativa contra células tumorais *in vitro*.

A própolis verde e alguns de seus componentes são responsáveis por matar células bacterianas, interagindo com elas por meio de diferentes mecanismos (Almuhayawi, 2020). Surek *et al.* (2021) reportaram que o extrato de própolis verde apresentou atividade contra *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e *Enterococcus faecalis*. Assis *et al.* (2022) relataram com extrato aquoso de própolis verde apresentando atividade antimicrobiana contra as bactérias anaeróbias causadoras de doenças bucais: *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Porphyromonas endodontalis*.

A produção de própolis também é importante para muitas espécies de abelhas sem ferrão e atua dentro do ninho como uma importante camada antimicrobiana (Leonhardt, 2017). Apesar das diferenças químicas, os diversos extratos de própolis de abelhas sem ferrão inibiram efetivamente o crescimento de várias bactérias e fungos (Popova; Trusheva; Bankova, 2021, p. 9).

As própolis de *Scaptotrigona jujuyensis* e *Tetragonisca fiebrigi* inibiram a formação de biofilme de *S. aureus* (Brodkiewicz *et al.*, 2018, p. 387). Experimentos com constituintes individuais isolados das própolis de abelhas sem ferrão mostraram atividade antibacteriana. O composto  $\alpha$ -mangostina isolado da própolis de *Tetragonula laeviceps* inibiu o crescimento de *S. aureus* resistente à meticilina, através da ruptura da membrana citoplasmática bacteriana (Koh *et al.*, 2013, p. 842). O composto *ent*-nemorosona isolado da própolis de *Melipona scutellaris* exibiu ação antibiofilme (Da Cunha *et al.*, 2016b, p. 31).

Vários estudos descrevem que os extratos de própolis demonstram uma atividade antibacteriana mais pronunciada contra bactérias Gram-positivas do que contra as Gram-negativas e isso se deve a diferença na composição da parede celular entre os dois grupos de bactérias (Almuhayawi, 2020; Przybyłek; Karpiński, 2019). As bactérias Gram-positivas apresentam parede celular com diversas camadas de peptidoglicanos, ou seja, aproximadamente 90% da parede celular é composta por esse polímero. Além disso, contêm ácido teicóico, que consiste principalmente de um álcool (como o glicerol ou ribitol), fosfato e proteínas (Madigan *et al.*, 2016).

As paredes celulares das bactérias Gram-negativas são formadas por poucas camadas de peptidoglicanos e uma membrana localizada externamente à camada de peptidoglicanos. A membrana externa da parede celular das bactérias Gram-negativas é formada por uma dupla camada lipídica, possuindo uma camada interna composta basicamente por fosfolipídios e, uma camada externa contendo lipopolissacarídeos (LPS) e proteínas. Os LPS fornecem duas características importantes às bactérias Gram-negativas: a primeira é que a porção polissacarídica dos LPS, chamada polissacarídeo O, atua como antígeno e é útil para diferenciar as espécies de bactérias Gram-negativas; a segunda é que esta molécula possui uma porção lipídica chamada de lipídio A, que é tóxica e denominada endotoxina, e é um poderoso estimulador das respostas imunes. O resultado desse conjunto é uma membrana extremamente assimétrica e capaz de repelir compostos hidrofóbicos como os extratos de própolis (Kapoor *et al.*, 2017; Madigan *et al.*, 2016).

Também foi demonstrado em alguns estudos uma atividade antiviral das própolis de abelhas sem ferrão. A própolis de *Scaptotrigona aff. postica* apresentou atividade contra o vírus da rubéola (Coelho *et al.*, 2018, p. 95) e as própolis de *Scaptotrigona postica* e *Melipona quadrifasciata* inibiram a replicação do vírus Herpes Simplex (HSV-1) (Coelho *et al.*, 2015, p. 7; Hochheim *et al.*, 2019, p. 346).

Por esse motivo, a diversidade química de diferentes amostras de própolis também tem o potencial de fornecer pistas valiosas para componentes ativos. Assim, a descoberta futura de novos tipos de própolis de regiões inexploradas é importante com relação à descoberta de novos compostos biologicamente ativos com efeitos farmacológicos importantes (Bankova *et al.*, 2019, p. 21).

## 2.5 BACTÉRIAS PATOGÊNICAS E INFECÇÕES BACTERIANAS

O campo da patogênese microbiana busca compreender como os agentes infecciosos contribuem para eventos de doenças e está na interseção da microbiologia celular e molecular, imunologia e fisiologia (Keller; Torres; Cadwell, 2020, p. 872).

*Bacillus* compreende um grande grupo de bactérias Gram-positivas, saprófitas, formadoras de endósporos, em forma de bastonete, anaeróbicas facultativas. Esse grupo compreende pelo menos oito espécies estreitamente relacionadas: *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis*, *B. citotóxico* e *B. toyonensis* (Liu *et al.*, 2015, p. 1). A bactéria *B. cereus* é um contaminante comum em muitos alimentos e tornou-se um dos dez principais responsáveis por surtos de origem alimentar em

seres humanos (Rodrigo; Rosell; Martinez, 2021, p. 1). Em 2018, *B. cereus* esteve envolvido em um total de 98 surtos relatados entre os estados membros da União Europeia. O impacto desses números fica mais claro ao dizer que representaram 1,9% do total de surtos na União Europeia, com 1.539 pessoas afetadas, com 111 hospitalizações e 1 morte (EFSA; ECDC, 2018) e 200 estudantes foram afetados em surto em uma escola na China (Chen *et al.*, 2019, p. 3).

*Staphylococcus aureus*, uma bactéria anaeróbica facultativa e Gram-positiva, é uma causa comum de intoxicações alimentares (Hulme, 2017), com forte adaptabilidade e capacidade de tolerar uma ampla faixa de pH, temperatura e umidade (Huang *et al.*, 2021, p. 1). As enterotoxinas estafilocócicas produzidas por *S. aureus* são reconhecidas como agentes etiológicos de intoxicação alimentar no homem (Principato; Qian, 2014, p. 1472). Além de doenças de origem alimentar, *S. aureus* é uma causa frequente de endocardite, bacteremia, osteomielite e infecções da pele e tecidos moles (Turner *et al.*, 2019, p. 203). Kourtis *et al.* (2019) reportaram um número anual de 20.000 mortes devido à bacteremia por *S. aureus* nos EUA. Assim, *S. aureus* é uma causa comum de infecções tanto em hospitais quanto na comunidade e tem um alto nível de resistência a antimicrobianos (Ahmad-Mansour *et al.*, 2021, p. 1).

*Streptococcus mutans* é uma bactéria anaeróbica facultativa Gram-positiva, considerada o principal agente etiológico da cárie dentária (Barma *et al.*, 2021, p. 1). A cárie dentária é a doença microbiana crônica mais comum que afeta os humanos (Samuel *et al.*, 2020), sendo definida como uma doença oral infecciosa, dependente de formação de biofilme e modulada pela dieta (Steinberg; Friedman, 2017). *S. mutans* possui características como causar acidogenicidade e capacidade de se ligar tenazmente aos tecidos duros dentais através de biofilmes (Banas; Drake, 2018, p. 1). Essa bactéria também tem possível associação com endocardite infecciosa subaguda (Tahmasebi *et al.*, 2023, p. 14).

*Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa que causa infecções nosocomiais de difícil tratamento, podendo ser fatais em indivíduos imunocomprometidos, como pacientes infectados com HIV, câncer, pós-cirurgia ou queimaduras graves (Gale *et al.*, 2015, p. 42; Gomila *et al.*, 2018, p. 2). O tratamento das infecções é dificultado pela capacidade da *P. aeruginosa* formar biofilmes que as protegem das tensões ambientais circundantes, impedem a fagocitose e, assim, conferem capacidade de colonização e persistência a longo prazo (Moradali; Ghods; Rehm, 2017, p. 6; Thi; Wibowo; Rehm, 2020). Além disso, *P. aeruginosa* exibe adaptabilidade e alta resistência intrínseca aos agentes antimicrobianos comuns (Pang *et al.*, 2019, p. 177-178).

*Klebsiella pneumoniae* é uma bactéria patogênica Gram-negativa pertencente à família *Enterobacteriaceae* que fermenta a lactose. Em meio ágar, possui um fenótipo mucoide conferido pela cápsula polissacarídica ligada à camada externa da membrana bacteriana (Martin; Bachman, 2018, p. 2). Destaca-se a sua importância devido ao seu aumento desproporcional como agente causal de infecções de difícil tratamento, com envolvimento muito variado: trato urinário, pulmões, tecidos moles, ferida cirúrgica e sepse (Ashurst; Dawson, 2019). A colonização por *K. pneumoniae* está implicada em doenças crônicas do trato gastrointestinal, incluindo doença inflamatória intestinal e câncer colorretal (Kaur; Vadivelu; Chandramathi, 2018). O Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças (ECDC) relatou que em 2018 na Europa, 7,5% das cepas de *K. pneumoniae* isoladas de hemoculturas e líquido cefalorraquidiano eram resistentes aos carbapenêmicos (EFSA; ECDC, 2019).

*Salmonella* é um gênero da família *Enterobacteriaceae*, sendo assim, é uma bactéria Gram-negativa, não formadora de esporos, em forma de bastonete e anaeróbia facultativa (Feasey *et al.*, 2012, p. 2490). A bactéria pode ser transmitida através da via fecal-oral (Ford *et al.*, 2016, p. 8). A salmonelose ocorre por *Salmonella* não tifoide, ou seja, por todos os sorovares da *S. enterica*, com exceção dos sorovares Typhi e Paratyphi (hospedeiro-específicos dos seres humanos). Os sorovares Enteritidis e Typhimurium, integrantes de *Salmonella enterica* subespécie *enterica*, são considerados os de maior importância para a saúde pública e são os principais responsáveis por causar gastroenterites em seres humanos (Antunes *et al.*, 2016).

A espécie *Salmonella enterica* subespécie *enterica* também engloba os sorovares Typhi e Paratyphi, causadores da febre tifoide e paratifoide, respectivamente. O quadro clínico da febre tifoide inclui febre alta, dor abdominal difusa, dor de cabeça, mal-estar e, às vezes, tosse. Algumas complicações podem acontecer, como perfuração intestinal e ulceração do cólon (Kumar; Kumar, 2017). Estima-se que ocorram 215.000 óbitos por febre tifoide e paratifoide globalmente por ano, apresentando taxa de letalidade <1%, entretanto, em contextos de áreas mais pobres, com grande concentração de população refugiada ou quando não há água tratada, a taxa de letalidade da doença pode aumentar, variando de 10-30% (CDC, 2017). Foi relatado no Malawi que em 2014, 97% dos casos de infecção por *S. Typhi* eram multirresistentes (Feasey *et al.*, 2015, p. 5; Wong *et al.*, 2015, p. 636). Assim, observa-se uma resistência emergente entre as espécies de *Salmonella* aos antimicrobianos (Crump *et al.*, 2015, p. 914).

*Escherichia coli* é uma bactéria com um lugar especial no mundo da microbiologia, pois é uma causa comum de infecções graves tanto em humanos quanto em animais (Poirel *et al.*, 2018, p. 1). A espécie *E. coli* é classificada como um bacilo Gram-negativo anaeróbio facultativo pertencente ao gênero *Escherichia* na família *Enterobacteriaceae* (Riley, 2020, p.

2). Os patótipos de *E. coli* diarreio gênica humana incluem: *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* produtora de toxina *Shiga* (STEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* difusamente aderente. coli (DAEC) (Jesser; Levy, 2020, p. 2). *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC) é a principal causa de infecção do trato urinário em todo o mundo e um agente crítico de infecção da corrente sanguínea (Santos *et al.*, 2023, p. 15). Atualmente, a transmissão de *E. coli* virulenta e resistente a antimicrobianos entre animais e humanos é uma grande causa de preocupação. A espécie *E. coli* é um reservatório importante de genes de resistência a antimicrobianos que pode ser responsável por falhas no tratamento de doenças infecciosas tanto na medicina humana quanto na veterinária (Poirel *et al.*, 2018, p. 1-2).

A gestão de infecções causadas por bactérias multirresistentes afeta imensamente os custos de saúde e tornou-se um importante modificador das despesas de saúde na atual crise de resistência aos antimicrobianos (Rossolini *et al.*, 2014, p. 57).

## 2.6 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA

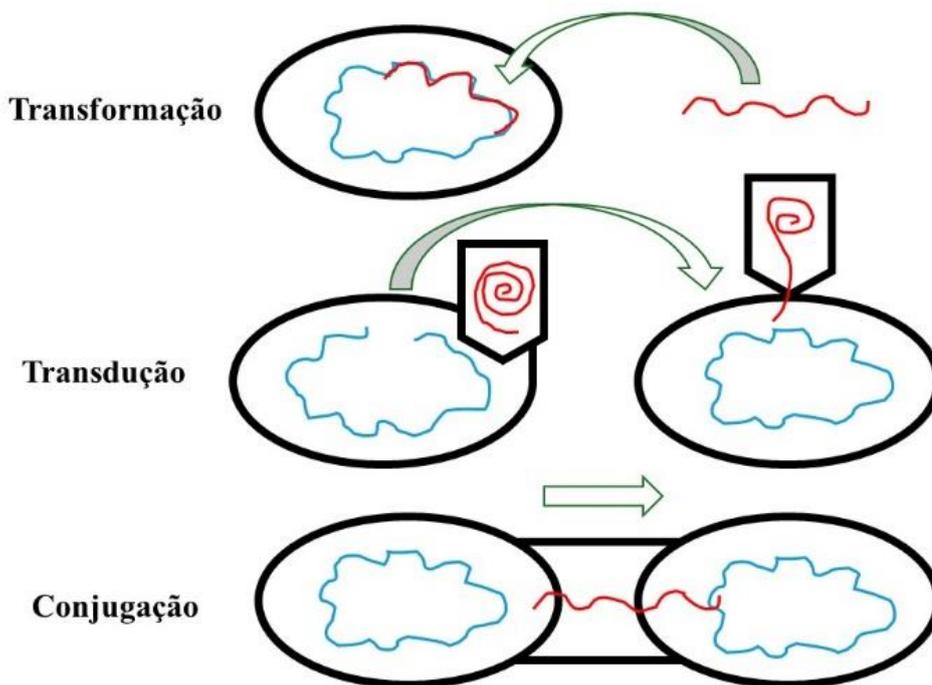
A resistência bacteriana refere-se à habilidade das bactérias em deter a eficácia de agentes antibacterianos específicos, levando a tratamentos ineficazes, persistência de infecções e potencial transmissão dessa característica para outras bactérias (WHO, 2020). A propagação global da resistência antimicrobiana (RAM) é uma séria ameaça à saúde pública global. A RAM não só causa um encargo econômico crescente nos cuidados de saúde, como também aumenta a morbidade e a mortalidade (Zhu; Huang; Yang, 2022, p. 735).

A RAM ocorre naturalmente como uma reação de organismos microbianos ao meio ambiente. No entanto, a resistência adquirida em contextos clínicos é impulsionada pela intensa exposição aos antimicrobianos em cuidados de saúde (Munita; Arias, 2016). O relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS) revela altos níveis de RAM em bactérias que causam sepse, além do aumento da RAM em várias bactérias que causam infecções comuns entre a população (OMS, 2022, p. IX).

A resistência aos antimicrobianos pode surgir tanto de mutações no genoma de uma bactéria quanto pela incorporação de um gene de resistência estranho através da aquisição de plasmídeos ou transposons de outras bactérias (Larsson; Flach, 2022, p. 257). Os plasmídeos são fragmentos de DNA circulares extracromossômicos e autorreplicativos e os transposons são segmentos de DNA que podem se mover de um local para outro do cromossomo das bactérias (Holmes *et al.*, 2016).

Os genes de resistência aos antimicrobianos podem ser transferidos entre os microrganismos de maneira vertical, quando os genes são passados para seus descendentes por meio da reprodução, e de maneira horizontal, quando os genes são passados lateralmente para outros microrganismos. A disseminação de genes de resistência aos antimicrobianos dentro e entre espécies bacterianas é alcançado essencialmente de maneira horizontal por três mecanismos genéticos principais: transformação, transdução e conjugação (Figura 2) (Burmeister, 2015, p. 193; Blokesch, 2016, p. R1126; Zhou; Beltran; Brito, 2021, p. 8).

**FIGURA 2** – Mecanismos de transferência horizontal de genes bacterianos

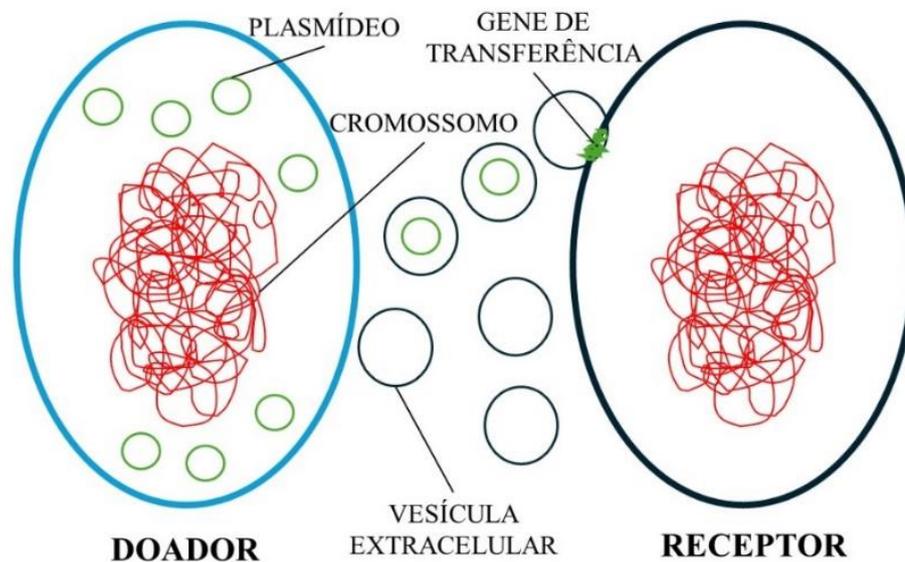


Fonte: (Autoria própria, 2024).

A transformação inclui a transferência de material genético para bactérias receptoras competentes e sua incorporação no cromossomo por recombinação homóloga (Li *et al.*, 2019, p. 2). A transdução utiliza bacteriófagos como veículos para a transferência de material genético (Rolain *et al.*, 2011, p. 2446). A conjugação requer o contato direto entre bactérias doadoras e receptoras, muitas vezes conseguido com a ajuda de apêndices/pili celulares específicos (Li *et al.*, 2019, p. 2). A transferência de DNA por conjugação envolve mais frequentemente elementos genéticos móveis, como plasmídeos, transposons e integrons (Babakhani; Oloomi, 2018). Um quarto mecanismo de transferência horizontal recentemente descoberto é a transferência de plasmídeos através de vesículas extracelulares liberadas pela membrana ao

meio externo (Figura 3) e foi descrito para *Acinetobacter baumannii* e *E. coli* (Tran; Boedicker, 2017, p. 5; Toyofuku; Nomura; Eberl, 2019).

**FIGURA 3** – Transferência genética mediada por vesículas



Fonte: (Autoria própria, 2024).

A conjugação é provavelmente o mecanismo mais eficiente e relevante de disseminação de genes de resistência aos antimicrobianos entre patógenos bacterianos clinicamente importantes (Munita; Arias, 2016; Soucy; Huang; Gogarten, 2015). Os plasmídeos permitem a disseminação de genes de resistência aos antimicrobianos para uma ampla gama de hospedeiros (Johnston *et al.*, 2014). Os integrons frequentemente carregam múltiplos genes de resistência que estão localizados em elementos genéticos móveis, como plasmídeos e transposons. Essas estruturas genéticas contribuem fortemente para a disseminação de múltiplos genes de resistência aos antimicrobianos no ambiente e no contexto clínico (Kaushik *et al.*, 2019, p. 679).

Os mecanismos de resistência a antimicrobianos incluem principalmente a inativação enzimática de medicamentos, alteração do alvo do medicamento, alterações na permeabilidade da membrana externa e efluxo ativo de compostos antimicrobianos (Zhu; Huang; Yang, 2022, p. 738). Recentemente, foi sugerido que a regulação epigenética desempenha um papel importante na formação de RAM (Riber; Hansen, 2021, p. 191). Então, a persistência da RAM também é fortemente apoiada por uma variedade de eventos fisiológicos alterados que são causados pelos antimicrobianos, tais como distúrbios do metabolismo celular (Hong *et al.*,

2019, p. 10065; Völzing; Brynildsen, 2015; Yang *et al.*, 2017, p. 758; Zampieri *et al.*, 2017, p. 1215).

Em 2024, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou o documento *Global Priority Pathogens List* reconhecendo as bactérias ameaçadoras à saúde pública e listadas em níveis de prioridade para pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos. O nível crítico compreendeu os microrganismos: *Enterobacter* spp. (resistência aos carbapenêmicos e as cefalosporinas de terceira geração), *Acinetobacter baumannii* (resistência a carbapenêmicos) e *Mycobacterium tuberculosis* (resistência à rifampicina). Para o nível alto relacionou-se *Salmonella* Typhi (resistência à fluoroquinolonas), *Salmonella* spp. (resistência à fluoroquinolonas), *Enterococcus faecium* (resistência à vancomicina), *Pseudomonas aeruginosa* (resistência aos carbapenêmicos), *Salmonella* Não-Typhi (resistência à fluoroquinolonas), *Neisseria gonorrhoeae* (resistência as cefalosporinas de terceira geração e fluoroquinolonas) e *Staphylococcus aureus* (resistência à meticilina). E para o nível médio listou-se *Streptococcus* Grupo A (resistência aos macrolídeos), *Streptococcus pneumoniae* (resistência aos macrolídeos), *Haemophilus influenzae* (resistência à ampicilina) e *Streptococcus* Grupo B (resistência a penicilinas) (OMS, 2024).

Assim, nos últimos anos, o desafio da resistência antimicrobiana em populações bacterianas tem se intensificado, especialmente no âmbito das infecções hospitalares. Diante desse cenário, a questão da RAM ressalta a urgência na busca por novos compostos antimicrobianos, abrindo portas para novas abordagens terapêuticas (Aslam *et al.*, 2018). Os produtos naturais, sozinhos ou combinados com outros agentes antimicrobianos, são de interesse clínico principalmente devido ao potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos, tanto para retardar o surto de resistência bacteriana como para diminuir os seus impactos (Freitas *et al.*, 2022, p. 2734). Neste contexto, a própolis emerge como um produto natural de destaque, demonstrando atividade antimicrobiana que pode ser aproveitada como agente bactericida e antisséptico em diversas formulações farmacêuticas.

## 2.7 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA ENVOLVENDO PRÓPOLIS

No Brasil, a Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001, do Ministério da Agricultura e Pecuária (Brasil, 2001) normatiza os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geleia real, geleia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis de origem de abelhas *Apis mellifera*. O Quadro 1 apresenta os critérios de padrão de qualidade para extratos de própolis de abelhas *Apis mellifera*.

**QUADRO 1** – Requisitos físico-químicos para extratos de própolis de abelhas *Apis mellifera* estabelecidos pela legislação brasileira

Requisitos físico-químicos	Especificação
Extrato seco	Mínimo de 11% (m%v)
Cera	Máximo 1% do extrato seco (m/m)
Compostos flavonoides	Mínimo 0,25% (m/m)
Compostos fenólicos	Mínimo 0,50% (m/m)
Atividade de oxidação	Máximo 22 segundos
Teor alcoólico	Máximo de 70°GL (v/v)
Metanol	Máximo 0,40 mg/L
Espectro de absorção de Radiação UV visível	Extrato de própolis deve apresentar picos característicos das principais classes de flavonoides entre 200 nm e 400 nm
Acetato de chumbo	Positivo
Hidróxido de sódio	Positivo

Fonte: (Brasil, 2001, p. 20-21).

Legenda: % - porcentagem; m%v – porcentagem massa por volume; m/m – massa por massa; °GL - grau Gay-Lussac; v/v – volume por volume; mg/L – miligramas por litro; UV – ultravioleta; nm – nanômetros.

O conteúdo de extrato seco (ou conteúdo de resíduo seco) é o parâmetro que quantifica a concentração de sólidos solúveis extraídos da própolis por um determinado solvente. O teor de extrato seco mínimo de 11% (m%v) em extratos alcoólicos de própolis significa que o extrato foi elaborado com no mínimo 30% de própolis *in natura* (Barreto *et al.*, 2020, p. 42). Para a própolis verde brasileira e abelhas sem ferrão, os valores de extrato seco são determinados pela legislação (Brasil, 2001). A *International Organization for Standardization (ISO 24381:2023) Bee propolis — Specifications* também estabelece extrato seco mínimo de 30% em extratos etanólicos para extratos de própolis marrom, verde e vermelha de abelhas *Apis Mellifera*.

A legislação recomenda ao menos 0,5% de compostos fenólicos em extratos de própolis comercializados. A atividade biológica da própolis deriva dos constituintes de sua resina vegetal, e a maior parte deles são substâncias fenólicas (Salatino; Salatino; Negri, 2021, p. 1076). A literatura sugere que os compostos fenólicos da própolis são mais bem extraídos com etanol (Contieri *et al.*, 2022b, p. 3). É importante ressaltar que, em relação ao teor de fenólicos totais da própolis, a comparação dos dados entre os estudos é difícil porque não existe um padrão consensual para a curva de calibração (ácido gálico, ácido cafeico, clorogênico)

(Bankova *et al.*, 2019, p. 28). Embora a legislação brasileira exija as análises de fenólicos e antioxidante para se determinar a qualidade da própolis, ainda não há metodologia padronizada que corrobore legalmente os vários tipos de própolis brasileiras.

A ISO 24381:2023 cita duas padronizações metodológicas para compostos fenólicos totais utilizando Folin para diferentes tipos extratos de própolis. Referente ao uso de ácido gálico, o mínimo estabelecido é de 10% para própolis marrom e 7% para as própolis verde e vermelha. Ao utilizar galangina, o mínimo é de 17% para própolis marrom e 12% para as própolis verde e vermelha. De acordo com o *State All-Union Standard 28886-90 “Propolis Specifications”* da Rússia, um dos indicadores de naturalidade e qualidade da própolis é o conteúdo total de compostos fenólicos. A fração de massa de compostos fenólicos não deve ser <25% na própolis.

A criação e a comercialização de colônias de abelhas nativas estão sujeitas a instrumentos normativos federais e estaduais, sendo que, até pouco tempo, não havia legislação específica para a manutenção desses insetos sociais (Koser; Barbiéri; Francoy, 2020, p. 182). Apesar de o mel de abelhas nativas ser encontrado à venda em comércios locais, a comercialização desses produtos é dificultada por não haver parâmetros de qualidade adequados para o mel e a própolis das abelhas nativas, devido às suas características exclusivas e divergentes dos produtos de *Apis mellifera* (Koser; Barbiéri; Francoy, 2020, p. 185). Além disso, a própria variabilidade de características que as abelhas nativas exibem, mesmo sendo criadas no mesmo local, é indicativo de que a legislação deve estabelecer parâmetros para cada uma das espécies (Biluca *et al.*, 2016, p. 61; Duarte *et al.*, 2018, p. 496).

As pesquisas sobre o controle de qualidade da própolis e especialmente a busca por compostos bioativos específicos da própolis vem gradualmente ganhando destaque (Cui *et al.*, 2022, p. 2). Embora seja relativamente comum encontrar componentes semelhantes na própolis, a própolis de diferentes continentes também tem suas classes químicas características. Em própolis de abelhas os compostos isolados de flavonona, flavona e fenilpropanoides, particularmente ésteres de fenilpropanoides, são frequentemente encontrados em regiões temperadas na África, América, Ásia, Europa e Oceania (Tran *et al.*, 2020, p. 8).

Diferentes tipos de própolis são caracterizados por seus perfis químicos distintos e obviamente não pode haver nenhum critério químico uniforme para padronização e controle de qualidade a esse respeito. Critérios específicos baseados na concentração de metabólitos secundários bioativos devem ser formulados para tipos químicos particulares de própolis (Bankova *et al.*, 2019, p. 30). Além disso, é escasso na literatura, estudos de padronizações de

qualidade abordando as especificações físico-químicas em extratos de própolis de abelhas sem ferrão.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo realizar a atividade físico-química e antimicrobiana de extratos de própolis verdes de *Apis mellifera* e extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo *Meliponini*, incluindo mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*), jataí (*Tetragonisca angustula*), heborá (*Tetragona clavipes*) e tubuna (*Scaptotrigona bipunctata*), produzidos nas regiões Centro-Oeste e Sul do Brasil.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer as análises físico-químicas de determinação do teor de extrato seco, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos extratos de própolis;
- Realizar estudo da atividade antimicrobiana dos extratos de própolis empregando ensaio de disco-difusão, determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 AMOSTRAS DE PRÓPOLIS

As análises dos extratos de própolis foram realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade, da Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia, Distrito Federal entre março de 2022 e março de 2023. Ao todo 11 amostras de própolis brasileiras foram analisadas por ensaios *in vitro*, sendo 4 amostras de própolis verdes (*Apis mellifera*), 3 amostras de própolis de mandaçaia (*Melipona quadrifasciata*), 2 amostras de própolis de jataí (*Tetragonista angustula*), 1 amostra de própolis de heborá (*Tetragona clavipes*) e 1 amostra de própolis de tubuna (*Scaptotrigona bipunctata*). Os extratos comerciais corresponderam à 9 amostras de própolis (verde, mandaçaia, jataí, heborá e tubuna), enquanto as 2 amostras de própolis *in natura* de mandaçaia e jataí tiveram seus extratos preparados no laboratório. As amostras de própolis brasileiras do estudo são originárias de apiários e meliponários das regiões Centro-Oeste (Distrito Federal) e Sul do Brasil (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul). O Quadro 2 contém as informações das própolis de *Apis mellifera* e das própolis de abelhas sem ferrão do grupo *Meliponini*.

**QUADRO 2** – Identificação das própolis verdes de *Apis mellifera* e das própolis de diferentes abelhas sem ferrão do grupo *Meliponini*

<b>Amostras de própolis</b>	<b>Tipo de própolis</b>	<b>Origem</b>
<b>1</b>	Verde comercial	Distrito Federal
<b>2</b>	Verde comercial	Distrito Federal
<b>3</b>	Verde comercial	Distrito Federal
<b>4</b>	Verde comercial	Distrito Federal
<b>5</b>	Mandaçaia <i>in natura</i>	Santa Catarina
<b>6</b>	Mandaçaia comercial	Rio Grande do Sul
<b>7</b>	Mandaçaia comercial	Distrito Federal
<b>8</b>	Jataí <i>in natura</i>	Paraná
<b>9</b>	Jataí comercial	Distrito Federal
<b>10</b>	Heborá comercial	Distrito Federal
<b>11</b>	Tubuna comercial	Rio Grande do Sul

Fonte: (Autoria própria, 2024).

Os extratos etanólicos das amostras de própolis mandaçaia (Santa Catarina) e jataí (Paraná) *in natura* foram preparados em conforme a Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001 (Brasil, 2001), com extrato seco no mínimo à 11,0% (p/v). Para isso, utilizou-se 100 mL de etanol (Dinâmica® 96°GL) e 30 gramas de própolis *in natura* triturada através de

maceração etanólica em gral e pistilo de porcelana. Após a transferência do conteúdo para o Erlenmeyer iniciou-se agitação mecânica (VERTEX TS-2000A) por 12 horas à temperatura ambiente. O extrato macerado, então, foi filtrado em papel de filtro e posteriormente acondicionado em frasco âmbar. A Figura 4 mostra os procedimentos realizados para a obtenção dos extratos etanólicos das própolis de mandaçaia e jataí.

**FIGURA 4** – Obtenção dos extratos das própolis de mandaçaia (Santa Catarina) e jataí (Paraná)



Fonte: (Autoria própria, 2024).

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS EXTRATOS DE PRÓPOLIS

### 4.2.1 Teor de extrato seco

A metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008, p. 834) foi modificada para a pesquisa de teor de extrato seco. Inicialmente pesou-se em balança eletrônica (Weblaborsp S2202) o cadinho seco e vazio. Logo, 1 grama de extratos de própolis foram pesados e os cadinhos com as amostras foram acomodados em estufa de secagem (Solidsteel SSE-30L) à 105°C por 24 horas. Após resfriamento no dessecador pesou-se novamente os cadinhos. A secagem continuou até a obtenção do peso constante (Apêndice 1.1). Os resultados do teor de extrato seco foram expressos em porcentagem (%).

#### 4.2.2 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais podem ser quantificados por espectrofotometria UV-Vis com o uso do reagente Folin-Ciocalteu. O método é baseado na reação do reagente químico (ou seja, tungstênio e molibdênio) com transferência de elétrons aos compostos fenólicos. Os compostos fenólicos são oxidados a fenolatos pelo reagente em pH alcalino em uma solução saturada de carbonato de sódio, resultando em um complexo azul de molibdênio-tungstênio e podem ser medidos em 765 nm (Singleton; Rossi, 1965).

Para a quantificação do conteúdo fenólico total dos extratos de própolis empregou-se a metodologia de Folin; Denis (1912). Os testes foram realizados em tubos de ensaio contendo 0,4 mL dos extratos de própolis diluídos (diluição de uma alíquota de extrato de própolis em água destilada, ajustando a diluição adequada para cada tipo amostra), 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (Dinâmica<sup>®</sup>), 1,0 mL de solução de carbonato de sódio saturado e 8,1 mL de água destilada. Após 30 minutos, realizou-se a leitura das amostras em espectrofotômetro (Hitach U-3900H) à 760 nm. O teor de compostos fenólicos totais foi determinado com o uso da equação da reta obtida a partir da curva padrão preparada com ácido tânico (Apêndice 1.2) nas concentrações de 0,02 mg; 0,04 mg; 0,06 mg; 0,08 mg e 0,10 mg. Os resultados do teor de compostos fenólicos totais foram expressos em porcentagem (%).

#### 4.2.3 Atividade antioxidante pelo método DPPH

O radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) foi obtido da Sigma-Aldrich Ltda (São Paulo, Brasil). O método é baseado na captura do radical DPPH por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorvância à 515 nm (Rufino *et al.*, 2007, p. 1). Para determinar o potencial antioxidante dos extratos de própolis pelo método DPPH, segundo Kim *et al.* (2002), 0,1 mL dos extratos de própolis diluídos foram transferidos para tubos de ensaio contendo 2,9 mL do radical DPPH. A reação durou 30 minutos em ambiente protegido de luz. A leitura da absorvância foi realizada à 517 nm em espectrofotômetro (Hitach U-3900H) aplicando etanol (Dinâmica<sup>®</sup>) como branco. A atividade antioxidante foi determinada com o uso da equação da reta obtida a partir da curva padrão preparada com Trolox (Apêndice 1.3). Os resultados da atividade antioxidante por DPPH foram expressos em mM TE (Trolox equivalente) /mg.

#### 4.2.4 Atividade antioxidante pelo método ABTS

O radical ABTS (2,2 azinobis-3-etilbenzolina-6-ácido sulfônico) da Sigma-Aldrich Ltda (São Paulo, Brasil) foi adquirido para a realização do estudo. A base do ensaio ABTS/PP (Persulfato de potássio) é a interação entre um antioxidante e o cátion radical ABTS<sup>++</sup> pré-gerado. A leitura se dá entre 730–734 nm (Arnao, 2000, p. 419-420). O método de atividade antioxidante por ABTS consistiu em transferir 20 µL dos extratos de própolis diluídos para tubos de ensaio contendo 980 µL do radical ABTS (Re *et al.*, 1999). A reação durou 6 minutos em ambiente protegido da luz. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (Hitach U-3900H) à 734 nm, sendo utilizado etanol (Dinâmica<sup>®</sup>) como branco. A atividade antioxidante foi determinada com o uso da equação da reta obtida a partir da curva padrão preparada com Trolox (Apêndice 1.4). Os resultados da atividade antioxidante por ABTS foram expressos em mM TE (Trolox equivalente) /mg.

### 4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE PRÓPOLIS

#### 4.3.1 Preparo dos inóculos bacterianos

Foram utilizadas cepas padrão de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas para a realização das análises da atividade antimicrobiana do estudo. As bactérias Gram-positivas corresponderam as cepas de *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Streptococcus mutans* ATCC 2517. As bactérias Gram-negativas foram cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1706, *Salmonella enterica* ATCC 14028 e *Escherichia coli* ATCC 25922.

O preparo dos inóculos com turbidez equivalente à 0,5 na escala *McFarland* ( $1,0 \times 10^8$  UFC/mL) foi realizado em caldo Luria Bertani (Kasvi), transferindo-se as colônias de bactérias para tubos contendo caldo Luria Bertani e a turbidez do caldo foi ajustada entre 0,08 e 0,10 nm em espectrofotômetro (Hitach U-3900H) à 625 nm.

#### 4.3.2 Ensaio por disco-difusão

O protocolo de ensaio de disco-difusão foi realizado conforme recomendação do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012, p. 9). Para a realização do ensaio de disco-difusão foram feitos esfregaços uniformes dos inóculos bacterianos pela técnica de semeadura em superfície com o uso de alça de *Drigalski* em placas de ágar Müller-Hinton (Himedia). Após a secagem do inóculo, aplicou-se discos de papel de filtro no centro das placas

de petri contendo 20 µL dos extratos de própolis. As leituras dos halos de inibição do crescimento microbiano (Apêndices 2.1 e 2.2) foram realizadas após 24 horas de incubação em estufa bacteriológica (SSB-86L) à 37°C. As medidas do diâmetro dos halos de inibição do crescimento bacteriano foram expressas em milímetros (mm).

### 4.3.3 Concentração Inibitória Mínima

A Concentração Inibitória Mínima é um método que quantifica o potencial antimicrobiano de um agente frente a um determinado inóculo bacteriano. A CIM é definida como a menor concentração de agente antimicrobiano capaz de inibir visivelmente o crescimento de microrganismos, ou seja, esse agente antimicrobiano tem atividade bacteriostática (Kuper *et al.*, 2009).

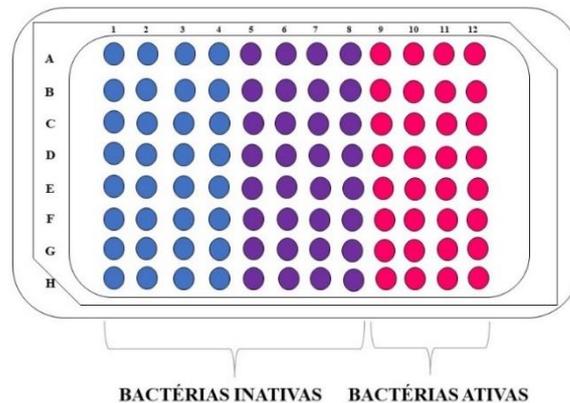
Para determinação da CIM, os inóculos bacterianos foram diluídos em caldo Luria Bertani na ordem de 1:150, resultando em uma concentração de  $1,0 \times 10^6$  UFC/mL. Os extratos de própolis foram diluídos em caldo Luria Bertani em diferentes concentrações. Então, adicionou-se em tubos estéreis 0,2 mL do inóculo bacteriano e 0,2 mL das diferentes concentrações de extratos de própolis. Como controle positivo (com crescimento das bactérias) foi utilizado 0,2 mL do inóculo bacteriano e 0,2 mL de caldo Luria Bertani. Como controle negativo (inibição do crescimento das bactérias) foi utilizado 0,2 mL do inóculo bacteriano e 0,2 mL de extrato de própolis. Os testes foram realizados em duplicata. Os tubos foram incubados a 37°C por 18 horas.

Devido à baixa solubilidade dos extratos de própolis em meios aquosos, sua mistura em caldo Luria Bertani acarretou soluções leitosas, e conseqüentemente, a turbidez elevada das amostras tornou inviável os testes convencionais de CIM que usam a leitura da turbidez para indicar o crescimento microbiano. Portanto, a determinação da CIM foi baseada no estudo de Ristivojević *et al.* (2018), no qual empregou-se o método colorimétrico da resazurina sódica 0,01% (p/v). A resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona 10-óxido) é um corante azul que pode ser irreversivelmente reduzido pelas oxidoredutases presentes em bactérias vivas a uma substância fluorescente e cor de rosa chamada resorufina, fornecendo uma medida quantificável direta da atividade metabólica bacteriana, podendo ser usada para determinar a CIM das substâncias antimicrobianas (Figura 5) (Sarker; Nahar; Kumarasamy, 2007, p. 323).

Posterior à incubação das diferentes diluições dos extratos de própolis com os inóculos bacterianos, pipetou-se 10 µL da solução de resazurina (Êxodo<sup>®</sup> científica) em 100 µL das diluições. Logo, as visualizações dos resultados foram determinadas pela avaliação

colorimétrica em que a cor azul representou a inatividade bacteriana e a cor rosa, em virtude da redução da resazurina para resorufina, indicou o crescimento de bactérias. Os resultados da Concentração Inibitória Mínima dos extratos de própolis brasileiras para bactérias Gram-positivas (Apêndice 2.3) e bactérias Gram-negativas (Apêndice 2.4) foram expressos em mg/mL.

**FIGURA 5** – Representação colorimétrica da reação entre resazurina e os inóculos bacterianos



Fonte: (Autoria própria, 2024).

#### 4.3.4 Concentração Bactericida Mínima

A Concentração Bactericida Mínima é definida como a menor concentração de um agente antimicrobiano necessária para matar uma bactéria específica, ou seja, esse agente antimicrobiano tem atividade bactericida (Andrews, 2001, p. 5; Sabrah; Yassen; Gregory, 2013, p. 1386).

O método foi realizado utilizando protocolo recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2015, p. 25). Para determinação da CBM, os inóculos bacterianos foram diluídos em caldo Luria Bertani na ordem de 1:150, resultando em uma concentração de  $1,0 \times 10^6$  UFC/mL. Os extratos de própolis foram diluídos em caldo Luria Bertani em diferentes concentrações. Então, adicionou-se em tubos estéreis 0,2 mL do inóculo bacteriano e 0,2 mL das diferentes concentrações de extratos de própolis. Como controle positivo (com crescimento das bactérias) foi utilizado 0,2 mL do inóculo bacteriano e 0,2 mL de caldo Luria Bertani. Como controle negativo (inibição do crescimento das bactérias) foi utilizado 0,2 mL do inóculo

bacteriano e 0,2 mL de extrato de própolis. Os testes foram realizados em duplicata. Os tubos foram incubados a 37°C em estufa bacteriológica (SSB-86L) por 18 horas.

Após a incubação, as diluições foram plaqueadas em ágar Müller-Hinton (Himedia) e incubadas à 37°C por 18-24 horas. A CBM foi determinada na menor concentração dos extratos de própolis onde não foram observadas colônias nas placas. Os resultados da Concentração Bactericida Mínima dos extratos de própolis brasileiras para bactérias Gram-positivas (Apêndice 2.5) e bactérias Gram-negativas (Apêndice 2.6) foram expressos em mg/mL.

#### 4.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão das análises físico-químicas e microbiológicas em duplicata. A significância estatística foi fixada em  $p < 0,05$ , o teste ANOVA foi utilizado para avaliar as diferenças nos valores das médias, e a comparação entre as médias foi feita utilizando o teste de *Tukey*. Os dados foram analisados com uso do *software* STATISTICA<sup>®</sup>, versão 10.0.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DOS EXTRATOS DE PRÓPOLIS

Os resultados das análises físico-químicas dos extratos de própolis verdes de *Apis mellifera* e dos extratos de própolis das abelhas sem ferrão do grupo *Meliponini* estão apresentados na Tabela 1.

**TABELA 1** - Análises físico-químicas dos extratos de própolis verdes de *Apis mellifera* e dos extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo *Meliponini*

Amostras	Extratos de própolis	Extrato Seco (%)	Compostos Fenólicos (%)	DPPH (mM TE /mg)	ABTS (mM TE /mg)
<b>Extratos de própolis verdes de <i>Apis mellifera</i></b>					
1	Verde comercial DF	17,08±0,00 a	2,89±0,81 a	101,63±1,42 a	256,80±14,14 a
2	Verde comercial DF	12,71±0,04 b	2,06±0,16 b	92,75±2,04 b	184,50±33,83 b
3	Verde comercial DF	7,99±0,56 c	2,13±0,09 b	84,05±0,16 c	161,60±27,47 c
4	Verde comercial DF	1,84±0,00 d	1,76±0,07 b	80,48±0,45 d	151,19±25,44 d
<b>Extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo <i>Meliponini</i></b>					
5	Mandaçaia <i>in natura</i> SC	12,09±2,06 b	0,73±0,07 c	22,25±0,02 e	42,33±7,45 e
6	Mandaçaia comercial RS	15,54±0,58 a	2,56±0,13 a	69,17±2,97 f	127,21±29,67 f
7	Mandaçaia comercial DF	2,56±0,43 e	0,88±0,02 c	17,14±0,38 g	35,32±4,54 g
8	Jataí <i>in natura</i> PR	12,43±0,19 b	n	0,20±0,04 h	2,22±0,14 h
9	Jataí comercial DF	2,61±0,48 e	n	0,12±0,03 h	1,88±0,39 h
10	Heborá comercial DF	29,56±0,27 b	2,66±0,01 a	162,53±36,41 i	424,02±12,73 i
11	Tubuna comercial RS	24,07±0,14 b	n	0,47±0,12 h	0,54±0,03 h

Fonte: (Autoria própria, 2024). (Estatística obtida com uso do *Software* STATISTICA® versão 10.0).

Legenda: DF – Distrito Federal; SC – Santa Catarina; RS – Rio Grande do Sul; PR – Paraná; n - não detectado. Atividade antioxidante em equivalente em *Trolox* (TE), expressa em milimolar por miligrama de amostra (mM/mg). Os resultados foram expressos como média de análises em duplicata ± desvio padrão. As médias na mesma coluna com letras diferentes são significativamente diferentes a  $p < 0,05$  conforme o teste de *Tukey*.

A legislação brasileira (Brasil, 2023) define que o extrato de própolis etanólico deve ter no mínimo 11% (m/v) de extrato seco e essa informação costuma ser declarada no rótulo dos produtos comerciais. Essa concentração indica que o extrato foi elaborado com no mínimo 30% (p/v) de própolis *in natura*. Observou-se que 7 amostras (63,63%) apresentaram teor de extrato

seco acima de 11% e 4 amostras (36,36%) (própolis verdes amostras 3 e 4 e própolis de abelhas sem ferrão amostras 7 e 9) apresentaram quantidades inferiores a 11% de extrato seco. Os extratos de própolis verde (amostra 4), mandaçaia (amostra 7) e jataí (amostra 9) com os menores teores de extrato seco (1,84-2,61%) eram do mesmo fabricante. Os resultados de extrato seco do estudo demonstrados com os extratos de própolis verde de abelhas *Apis mellifera* (amostras 1 e 2) e extratos de própolis de abelhas sem ferrão (amostras 5, 6, 8, 10 e 11) apresentaram diferença estatística significativa.

Contieri *et al.* (2022a) reportaram valores de extrato seco entre 10,07% e 24,21% em 8 amostras de extratos etanólicos de própolis verdes da região Sudeste do Brasil. Os autores sugeriram que não existe um controle de qualidade eficiente dos extratos de própolis comercializados no Brasil. Nascimento *et al.* (2018) avaliaram quatro extratos comerciais de própolis marrom e vermelha produzidos na região Nordeste do Brasil. Os resultados mostraram teores de extrato seco de 4,32%, 6,22%, 12,57% para os extratos de própolis marrom e 13,69% para o extrato de própolis vermelha.

A recente atualização da legislação brasileira (Brasil, 2023) foi um avanço para os meliponicultores no sentido de regularizar a produção dos produtos apícolas das abelhas sem ferrão, incluindo a própolis. No entanto, essa legislação também inclui os produtos apícolas de *Apis mellifera* estabelecendo com detalhes as normas higiênico sanitárias e tecnológicas para os estabelecimentos produtores apícolas, porém detalhou pouco os critérios de qualidade aos extratos de própolis. A legislação apenas citou o mínimo de 11% em extrato seco e dos extratos produzidos com álcool acima de 70% não se destinar ao consumo alimentício, mas com permissão para serem usados para outros fins.

A Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001 (Brasil, 2001) define os critérios de qualidade da própolis de *Apis mellifera* e dos seus extratos, e estabelece valores mínimos de teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. Portanto, no Brasil ainda não há uma regulamentação oficial para os valores mínimos de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante para os extratos de própolis das abelhas sem ferrão.

Os extratos etanólicos de própolis de *Apis mellifera* devem conter, no mínimo, 0,50% de compostos fenólicos (Brasil, 2001). Todos os extratos de própolis verdes de *Apis mellifera* do estudo apresentaram valores de compostos fenólicos acima de 0,50%, e com devida relevância as amostras de extratos própolis verdes de *Apis Mellifera* e extratos de própolis de abelhas sem ferrão (mandaçaia amostra 6 e heborá amostra 10) por exibirem diferença estatística significativa em relação aos demais extratos. A própolis verde se destaca pelo alto teor de compostos fenólicos, composição essa atribuída à sua origem botânica principal. A

origem botânica primária desse tipo de própolis são os botões apicais e as folhas jovens de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae), popularmente conhecida como “vassourinha do campo”, espécie nativa amplamente difundida no bioma Cerrado (Berretta *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2020).

A própolis verde brasileira difere da própolis europeia e chinesa por ter maior teor de compostos fenólicos totais e menor teor de flavonoides. Essa diferença de composição revela a coleção de material resinoso em zonas temperadas, especialmente espécies de *Populus*, popularmente chamado de Álamo ou Choupo (Berretta *et al.*, 2017). Na China sugere-se o conteúdo total de flavonoides como padrão de referência para sua própolis, que é principalmente a própolis do tipo choupo (Wang *et al.*, 2020, p. 10). Assim, a legislação chinesa exige um teor mínimo de flavonoides de 8% (m/m) na própolis bruta (*Chinese Standard GB/T 24283-2009*, 2009), enquanto a legislação brasileira aceita na própolis bruta 0,5% (m/m) como mínimo para flavonoides e 5% como mínimo para compostos fenólicos (Brasil, 2001).

Muitos estudos relatam que a atividade antibacteriana, anti-inflamatória e antioxidante dos extratos de própolis relaciona-se com o teor de fenólicos totais e/ou flavonoides (Schmidt *et al.*, 2014a, p. 6). Os compostos fenólicos são os principais constituintes bioativos da fração resinosa da própolis. Os flavonoides e derivados de ácidos fenólicos representam duas grandes classes de compostos fenólicos no extrato de própolis, sendo que estes compostos naturais têm sido objeto de considerável estudo científico quanto as suas atividades biológicas (Andrade *et al.*, 2018, p. 278; Heleno *et al.*, 2015, p. 503).

É pertinente mencionar que desfechos similares para extratos etanólicos de própolis verde foram observados na literatura. Vieira *et al.* (2023) observaram valor de compostos fenólicos totais de 2,74% para um extrato de própolis verde coletado no estado de Minas Gerais (região Sudeste). Contieri *et al.* (2022a) demonstraram valores de compostos fenólicos totais de 0,81 a 1,89% para amostras comerciais de extratos de própolis verde. Salgueiro e Castro (2016) obtiveram valores de compostos fenólicos totais de 1,22% para um extrato comercial de própolis verde elaborado com 30% de própolis *in natura*. Tiveron *et al.* (2016) observaram que os extratos de própolis provenientes do Sul do Brasil apresentaram de 1,76 a 7,98% de compostos fenólicos.

Em relação aos extratos de própolis das abelhas sem ferrão observou-se bastante variação nos valores de compostos fenólicos totais. Os extratos de própolis heborá (2,66%) e mandaia amostra 6 (2,56%) apresentaram teor de compostos fenólicos semelhante ao extrato de própolis verde amostra 1 (2,89%), e esses foram os maiores valores observados para as amostras desse estudo. Os extratos de própolis de mandaia amostra 5 e amostra 7

apresentaram teor de compostos fenólicos de 0,73 a 0,88% e os extratos de própolis de jataí (amostra 8 e amostra 9) e tubuna (amostra 11) não apresentaram quantificação de compostos fenólicos.

Resultados semelhantes foram relatados por Rocha *et al.* (2024), onde os 2 extratos de própolis de jataí do estado da Bahia não continham compostos fenólicos. Torres *et al.* (2018) analisaram amostras de própolis de abelhas sem ferrão obtidas na cidade de Rio das Antas, região Sul do Brasil, e obtiveram valores de compostos fenólicos de 0,38% para mandaçaia e 0,13% para jataí. Pazin *et al.* (2017) reportaram valor de compostos fenólicos de 1,25% para o extrato de própolis de heborá proveniente do estado de São Paulo. Piccinini *et al.* (2021) observaram valor de 0,95% de compostos fenólicos no extrato de própolis de tubuna proveniente da cidade de Gravataí – RS.

A respeito da capacidade antioxidante, o maior valor observado foi para o extrato de própolis de heborá com 162,53 mM TE/mg para DPPH e 424,02 mM TE/mg para ABTS. Em seguida, a maior atividade antioxidante foi para a própolis verde amostra 1 que apresentou 101,63 mM TE/mg para DPPH e 256,80 mM TE/mg para ABTS. Dos resultados das análises antioxidantes DPPH e ABTS, todas as amostras de extratos de própolis verdes de abelhas *Apis mellifera* e os extratos de própolis mandaçaia (amostras 5 e 6) e heborá (amostra 10) foram estatisticamente significativos. Os menores valores de atividade antioxidante foram observados para os extratos de própolis jataí (amostras 8 e 9) e tubuna (amostra 11). Os resultados do presente estudo corroboram a literatura, onde vários estudos apresentaram uma correlação positiva entre a quantidade de compostos fenólicos e a atividade antioxidante dos extratos de própolis (Andrade *et al.*, 2018; Bittencourt *et al.*, 2015; Salgueiro; Castro, 2016).

Rocha *et al.* (2024) observaram uma variedade de compostos fenólicos nos extratos de própolis de abelhas mandaçaia (ácido gálico 4,38 mg/L, ácido cafeico 0,81 mg/L, ácido *p*-cumárico 2,81 mg/L, ácido elágico 1,20 mg/L, rutina 1,52 mg /L, ácido transcinâmico 1,60 mg/L, entre outros), enquanto os extratos de própolis de abelhas jataí exibiram compostos fenólicos mínimos (epicatequina 0,15 mg/L, piceatanol 0,12 mg/L, resveratrol 0,06 mg/L e ácido transcinâmico 0,08 mg/L).

Os critérios de qualidade para padronização da própolis incluem principalmente o rendimento do extrato, conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante (Kasote *et al.*, 2017, p. 54). A extração dos compostos bioativos da própolis depende do método utilizado e das condições operacionais realizadas (temperatura, tempo de extração, etc.), que podem modificar ou pelo menos alterar o rendimento da extração, concentração, e a composição do produto final (Escriche; Juan-Borrás, 2018, p. 834).

A grande biodiversidade do Brasil se reflete diretamente na origem botânica e na composição fitoquímica da própolis (Nani *et al.*, 2020, p. 2861). Investigar própolis de regiões atualmente não estudadas é importante, pois permitiria determinar se a nova própolis pertence a um tipo de própolis já conhecido (Bankova *et al.*, 2019, p. 21). Assim, é fundamental estabelecer procedimentos padronizados para análise de produtos de própolis, onde possam ser determinadas a presença e a quantidade dos constituintes cruciais e das atividades biológicas (Barreto *et al.*, 2020, p.8).

## 5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE PRÓPOLIS

### 5.2.1 Ensaio por disco-difusão

Os resultados do ensaio de disco-difusão dos extratos de própolis estão apresentados na Tabela 2. Observou-se que das 11 amostras testadas, 3 amostras (27,27%) que foram extrato de jataí (amostras 8 e 9) e tubuna (amostra 11) não apresentaram halo de inibição para as bactérias Gram-positivas testadas. A faixa de leitura das 8 amostras (72,73%) de extratos de própolis corresponderam à halos de inibição entre 19,0 mm e 49,0 mm. Os maiores halos de inibição para as cepas bacterianas foram obtidos com os extratos de própolis verdes comerciais (24,0 a 49,0 mm), enquanto os extratos de própolis de abelhas sem ferrão apresentaram halos com valores entre 19,0 e 30,3 mm. O extrato de própolis verde comercial amostra 1 do Distrito Federal consolidou-se como o melhor agente antimicrobiano no ensaio de disco-difusão dentre os demais extratos contra as bactérias Gram-positivas testadas no estudo. Os resultados de ensaio por disco-difusão com os extratos de própolis verdes de *Apis mellifera* e os extratos de abelhas sem ferrão (mandaçaia amostra 7 e heborá amostra 10) obteve diferença estatística significativa dentre os extratos do estudo.

Os extratos de própolis não apresentaram halos de inibição contra as bactérias Gram-negativas testadas no estudo (Apêndice 2.2).

**TABELA 2** - Ensaio de disco-difusão dos extratos de própolis verdes de *Apis mellifera* e dos extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo *Meliponini*

		<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>
<b>Amostras</b>		<b>Extratos de própolis verdes de <i>Apis mellifera</i></b>		
<b>1</b>	<b>Verde comercial DF</b>	24,0±0,01 a	49,0±0,22 a	45,0±0,14 a
<b>2</b>	<b>Verde comercial DF</b>	31,0±0,06 b	46,0±0,14 b	35,5±0,21 b
<b>3</b>	<b>Verde comercial DF</b>	26,0±0,21 c	27,0±0,01 c	29,0±0,21 c
<b>4</b>	<b>Verde comercial DF</b>	27,0±0,24 c	42,0±0,01 d	38,0±0,07 d
		<b>Extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo <i>Meliponini</i></b>		
<b>5</b>	<b>Mandaçaia in natura SC</b>	23,0±0,01 a	19,0±0,01 e	24,0±0,14 e
<b>6</b>	<b>Mandaçaia comercial RS</b>	24,5±0,12 a	26,0±0,01 c	24,0±0,14 e
<b>7</b>	<b>Mandaçaia comercial DF</b>	30,0±0,14 b	28,0±0,11 c	30,0±0,14 c
<b>8</b>	<b>Jataí in natura PR</b>	n	n	n
<b>9</b>	<b>Jataí comercial DF</b>	n	n	n
<b>10</b>	<b>Heborá comercial DF</b>	30,3±0,07 b	26,0±0,01 c	24,0±0,14 e
<b>11</b>	<b>Tubuna comercial RS</b>	n	n	n

Fonte: (Autoria própria, 2024). (Estatística obtida com uso do *Software* STATISTICA® versão 10.0).

Legenda: DF – Distrito Federal; SC – Santa Catarina; RS – Rio Grande do Sul; PR – Paraná; n - não houve halo de inibição microbiana. Os resultados foram expressos como médias dos diâmetros dos halos (mm) ± desvio padrão de duas repetições. As médias na mesma coluna com letras distintas apresentam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) conforme teste de *Tukey*.

Para fins de comparação, o *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST, 2021) estabelece os pontos de corte clínicos para interpretação dos diâmetros de halos dos antimicrobianos convencionais contra as principais bactérias patogênicas causadoras de infecções. Para *Bacillus* spp. os halos de sensibilidade devem ser: clindamicina ( $\geq 17$  mm), norfloxacino ( $\geq 21$  mm) e eritromicina ( $\geq 24$  mm). Baseado nesses pontos de corte, foi possível observar uma sensibilidade de *Bacillus cereus* a todos os extratos de própolis testados no estudo (com exceção das amostras 8, 9 e 11 que não apresentaram halo de inibição).

Para *Staphylococcus aureus*, os halos de sensibilidade devem ser: amicacina ( $\geq 18$  mm), gentamicina ( $\geq 18$  mm), eritromicina ( $\geq 21$  mm) e tetraciclina ( $\geq 22$  mm) (BrCAST, 2021). Assim, a bactéria *S. aureus* mostrou sensibilidade a todos os extratos de própolis, com exceção do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 (halo = 19,0 mm) e das amostras 8, 9 e 11 que não apresentaram halo de inibição. Para *Streptococcus mutans*, os halos de sensibilidade devem ser: vancomicina ( $\geq 15$  mm), ampicilina ( $\geq 21$  mm) e clindamicina ( $\geq 19$  mm) (BrCAST, 2021). Baseado nesses pontos de corte, observou-se uma sensibilidade de *S. mutans* a todos os extratos

de própolis testados no estudo (com exceção das amostras 8, 9 e 11 que não apresentaram halo de inibição).

Estudos que utilizaram amostras de extratos própolis africanas da Tunísia e da Argélia confirmaram sua eficácia contra *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), com halos inibitórios de até 21,4 mm (Béji-Srairi *et al.*, 2020; Benhanifia *et al.*, 2014; Nedji; Loucif-Ayad, 2014). A quercetina que é um composto fenólico comumente encontrado nas própolis de *Apis Mellifera* (Pasupuleti *et al.*, 2017) demonstrou eficácia antibacteriana contra *Staphylococcus epidermidis* e *S. aureus* MRSA (Gajdács, 2019). As amostras de extratos própolis da Polônia apresentaram atividade inibitória contra *S. aureus* com halos de inibição de 20,2–27,0 mm (Pobiega *et al.*, 2019). Os extratos etanólicos da própolis húngara apresentaram efeitos bactericidas contra *S. aureus* com halos de inibição de 12,0 a 22,5 mm (Molnár *et al.*, 2017).

Os flavonoides pinocembrina e apigenina presentes na própolis chilena revelaram atividade antibacteriana contra *Streptococcus mutans* (Veloz; Alvear; Salazar, 2019). Além dos compostos fenólicos e flavonoides, a própolis também contém terpenos. Esses compostos contribuem de forma sinérgica para a atividade antimicrobiana da própolis (Almuhayawi, 2020, p. 3080-3081).

Alguns estudos têm explorado o efeito sinérgico dos extratos de própolis em associação com antimicrobianos convencionais no sentido de reduzir a resistência bacteriana ao agente antimicrobiano convencional (Przybyłek; Karpiński, 2019). Assim, o cloranfenicol na presença de própolis búlgara e mel brasileiro mostrou sinergismo contra *Salmonella enterica* (Al-Ani *et al.*, 2018).

Os extratos de própolis jataí (amostra 8 e amostra 9) e tubuna (amostra 11) não apresentaram halo de inibição para *B. cereus*, *S. aureus* e *S. mutans*. Tal resultado pode ter ocorrido principalmente pela ausência de compostos fenólicos e baixa atividade antioxidante desses extratos de própolis, pois esses compostos estão diretamente associados a atividade antibacteriana da própolis (Przybyłek; Karpiński, 2019). Assim, a atividade antimicrobiana e a composição química da própolis estão diretamente associadas à localização geográfica, biodiversidade, espécies de abelhas e época de colheita das resinas (Schmidt *et al.*, 2014a, p. 1; Schmidt *et al.*, 2014b).

Os extratos de própolis do presente estudo não exibiram halos de inibição para as bactérias Gram-negativas. A literatura descreve que os extratos de própolis possuem maior atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas em comparação com bactérias Gram-

negativas. Tal fato ocorre devido a diferença de composição de parede celular entre bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (Almuhayawi, 2020; Przybyłek; Karpíński, 2019).

Bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos que limitam a difusão de compostos hidrofóbicos através dela, enquanto as bactérias Gram-positivas não possuem essa membrana externa rica em lipopolissacarídeos, o que permite que os constituintes hidrofóbicos se infiltrem na membrana celular, levando ao aumento da permeabilidade iônica, vazamento de conteúdo intracelular e morte celular. No entanto, os compostos hidrofóbicos ainda podem exercer atividade antimicrobiana sobre as bactérias Gram-negativas, uma vez que as proteínas porinas dentro da membrana externa formam canais de tamanho suficiente para permitir a passagem de compostos de pequena massa molecular (Seow *et al.*, 2014).

Outra possível razão para explicar a menor atividade antibacteriana da própolis contra bactérias Gram-negativas poderia ser a síntese de uma grande variedade de enzimas hidrolíticas por microrganismos Gram-negativos (Grecka *et al.*, 2019). Essas enzimas hidrolíticas podem interferir nos componentes ativos da própolis e resultar no desenvolvimento de resistência (Bryan; Redden; Traba, 2015).

### **5.2.2 Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima dos extratos de própolis para as bactérias Gram-positivas**

Os dados obtidos de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos de própolis para as bactérias Gram-positivas estão apresentados na Tabela 3. A CIM dos extratos de própolis ficou entre 0,001 e 0,20 mg/mL, e a CBM entre 0,02 e 0,50 mg/mL. As maiores atividades antimicrobianas contra as três bactérias Gram-positivas testadas foram obtidas para os extratos de própolis verdes amostras 1, 2 e 3 e para o extrato de própolis de heborá (amostra 10). O extrato de própolis de mandaçaia amostra 5 também se destacou tendo uma eficiente atividade antimicrobiana. Além disso, os resultados de CIM e CBM para bactérias Gram-positivas com os extratos de própolis verde de *Apis mellifera* (amostras 1, 2 e 3) e extrato de própolis sem ferrão heborá demonstraram diferença estatística significativa com os outros extratos.

**TABELA 3** - Determinação da CIM e da CBM dos extratos de própolis verdes de *Apis mellifera* e dos extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo *Meliponini* para bactérias Gram-positivas

		Bactérias Gram-positivas					
Amostras	Extratos de própolis	<i>B. cereus</i>		<i>S. aureus</i>		<i>S. mutans</i>	
		CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
		(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)
<b>Extratos de própolis verdes de <i>Apis mellifera</i></b>							
1	Verde comercial DF	0,001 a	0,04 a	0,001 a	0,06 a	0,003 a	0,06 a
2	Verde comercial DF	0,005 a	0,02 a	0,004 a	0,06 a	0,005 a	0,06 a
3	Verde comercial DF	0,001 a	0,04 a	0,001 a	0,06 a	0,003 a	0,06 a
4	Verde comercial DF	0,005 a	0,03 a	0,004 a	0,10 b	0,01 b	0,10 b
<b>Extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo <i>Meliponini</i></b>							
5	Mandaçaia <i>in natura</i> SC	0,005 a	0,02 a	0,005 a	0,06 a	0,005 a	0,15 c
6	Mandaçaia comercial RS	0,005 a	0,02 a	0,02 b	0,10 b	0,01 b	0,10 b
7	Mandaçaia comercial DF	0,005 a	0,02 a	0,06 c	0,20 c	0,03 c	0,25 c
8	Jataí <i>in natura</i> PR	0,02 b	0,10 b	0,08 c	0,30 d	0,06 d	0,30 d
9	Jataí comercial DF	0,03 b	0,10 b	0,13 d	0,50 e	0,08 d	0,25 c
10	Heborá comercial DF	0,001 a	0,02 a	0,003 a	0,08 b	0,007 a	0,06 a
11	Tubuna comercial RS	0,06 c	0,10 b	0,20 e	0,50 e	0,20 e	0,50 e

Fonte: (Autoria própria, 2024). (Estatística obtida com uso do *Software* STATISTICA® versão 10.0).

Legenda: DF – Distrito Federal; SC – Santa Catarina; RS – Rio Grande do Sul; PR – Paraná. As médias na mesma coluna com letras diferentes são significativamente diferentes a  $p < 0,05$  conforme teste de *Tukey*. mg/mL – miligrama por mililitro; CIM – Concentração Inibitória Mínima; CBM – Concentração Bactericida Mínima.

Machado *et al.* (2005) propuseram que produtos naturais com valores de CIM abaixo de 0,01 mg/mL tem atividade antibacteriana excelente, entre 0,01 e 0,10 mg/mL a atividade antibacteriana é boa e valores de CIM entre 0,10 e 0,50 mg/mL são considerados com atividade antibacteriana moderada. Baseado nessa métrica, todos os extratos de própolis verdes, o extrato de própolis de heborá (amostra 10) e o extrato de própolis de mandaçaia amostra 5 apresentaram atividade antibacteriana excelente com valores de CIM abaixo de 0,01 mg/mL. Os extratos de própolis de mandaçaia amostras 6 e 7 e o extrato de própolis de jataí amostra 8 apresentaram atividade antibacteriana excelente ou boa. E os extratos de própolis de jataí amostra 9 e de tubuna (amostra 11) apresentaram atividade antibacteriana boa ou moderada.

Algumas amostras de extratos de própolis brasileiras apresentaram CIM entre 0,001 e 0,03 mg/mL para *S. aureus* (Bueno-Silva *et al.*, 2017; Regueira *et al.*, 2017). Machado *et al.* (2016b) elaboraram os extratos de própolis brasileiras vermelha do estado do Sergipe (região Nordeste), verde do estado de Minas Gerais (região Sudeste) e marrom do estado de Santa Catarina (região Sul) e obtiveram para *S. aureus* ATCC 25923 valores de CIM de 0,05-0,4

mg/mL e valores de CBM de 0,8-1,0 mg/mL. Neves *et al.* (2016) investigaram o potencial antimicrobiano do extrato de própolis vermelha brasileira contra *S. aureus* (ATCC 13150 e ATCC 25923) e obtiveram valores de CIM de 0,25 mg/mL.

A pinocembrina e a apigenina, flavonoides encontrados na própolis chilena, apresentaram atividade antibacteriana contra *S. mutans* com CIM de 0,0014 mg/mL, um valor comparável a uma mistura de polifenóis e clorexidina (CIM = 0,0016 mg/mL) (Veloz; Alvelar; Salazar, 2019). Al-Ani *et al.* (2018) analisaram extratos etanólicos de própolis da Turquia, Omã e Irlanda e obtiveram valores de CIM entre 0,008 e 0,08 mg/mL para *S. aureus*.

Em relação aos extratos de própolis das abelhas sem ferrão, Santos *et al.* (2017) relataram para o extrato etanólico de própolis de mandacari proveniente da cidade de Blumenau, Santa Catarina, região Sul do Brasil, valores de CIM de 0,25 mg/mL para *S. aureus*. Também, os extratos de própolis de jataí não foram testados devido ao baixo teor de compostos fenólicos.

Os compostos fenólicos são descritos como importantes agentes antibacterianos que inibem bactérias por promoverem danos à membrana celular e por inibirem a síntese de ácidos nucléicos e o metabolismo energético desses microrganismos (Campos *et al.*, 2015, p. 7). Os estudos indicam que o modo de ação da própolis não é determinado pelo modo de ação isolado de seus constituintes bioativos, mas sim por uma interação complexa entre seus vários compostos químicos que possuem atividade antimicrobiana (Boisard *et al.*, 2020). De acordo com Przybyłek; Karpinski (2019), diversos mecanismos de ação são propostos para explicar a atividade antimicrobiana exercida pela própolis, como: inibição da divisão celular e da síntese de ácidos nucléicos e proteínas, diminuição da permeabilidade da membrana citoplasmática bacteriana e bacteriolise.

### **5.2.3 Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima dos extratos de própolis para as bactérias Gram-negativas**

A Tabela 4 apresenta os resultados de Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima dos extratos de própolis verdes de *Apis mellifera* e própolis de meliponídeos com as bactérias Gram-negativas. A CIM dos extratos de própolis ficou entre 0,03 e 0,20 mg/mL e a CBM entre 0,15 e 0,50 mg/mL. Constatou-se diferença estatística significativa entre os extratos de própolis verde de *Apis mellifera* (amostra 1) e extrato de própolis de abelha sem ferrão heborá (amostra 10) para CIM e CBM contra bactérias Gram-negativas.

**TABELA 4** - Determinação da CIM e da CBM dos extratos de própolis verdes de *Apis mellifera* e dos extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo *Meliponini* para as bactérias Gram-negativas.

Amostras	Extratos de própolis	Bactérias Gram-negativas							
		<i>P. aeruginosa</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>S. enterica</i>		<i>E. coli</i>	
		CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<b>Extratos de própolis verdes de <i>Apis mellifera</i></b>									
1	Verde comercial DF	0,08 a	0,20 a	0,13 a	0,20 a	0,13 a	0,20 a	0,08 a	0,15 a
2	Verde comercial DF	0,08 a	0,20 a	0,13 a	0,30 b	0,13 a	0,25 a,b	0,08 a	0,15 a
3	Verde comercial DF	0,08 a	0,25 a,c	0,13 a	0,20 a	0,13 a	0,25 a,b	0,10 a	0,20 a,b
4	Verde comercial DF	0,08 a	0,50 b	0,20 b	0,50 c	0,15 a	0,30 b	0,10 a	0,20 a,b
<b>Extratos de própolis de abelhas sem ferrão do grupo <i>Meliponini</i></b>									
5	Mandaçaia <i>in natura</i> SC	0,13 b	0,30 c	0,13 a	0,30 b	0,13 a	0,30 b	0,03 b	0,20 a,b
6	Mandaçaia comercial RS	0,13 b	0,20 a	0,10 c	0,30 b	0,10 b	0,30 b	0,08 a	0,15 a
7	Mandaçaia comercial DF	0,13 b	0,30 c	0,20 b	0,30 b	0,10 b	0,30 b	0,10 a	0,20 a,b
8	Jataí <i>in natura</i> PR	0,13 b	0,30 c	0,13 a	0,30 b	0,20 c	0,30 b	0,10 a	0,30 b
9	Jataí comercial DF	0,20 c	0,50 b	0,13 a	0,50 c	0,20 c	0,50 c	0,08 a	0,50 c
10	Heborá comercial DF	0,05 d	0,25 a,c	0,13 a	0,30 b	0,15 a	0,20 a	0,10 a	0,30 b
11	Tubuna comercial RS	0,20 c	0,30 c	0,20 b	0,30 b	0,20 c	0,50 c	0,15 c	0,30 b

Fonte: (Autoria própria, 2024). (Estatística obtida com uso do *Software* STATISTICA® versão 10.0).

Legenda: DF – Distrito Federal; SC – Santa Catarina; RS – Rio Grande do Sul; PR – Paraná. As médias na mesma coluna com letras diferentes são significativamente diferentes a  $p < 0,05$  conforme teste de *Tukey*. CIM – Concentração Inibitória Mínima; CBM – Concentração Bactericida Mínima; resultados de CIM e CBM expressos em mg/mL – miligrama por mililitro.

Para as bactérias *P. aeruginosa* e *S. enterica*, destacaram-se os extratos de própolis verdes amostras 1, 2 e 3 e o extrato de própolis de heborá (amostra 10) apresentando os menores valores de CIM (0,05-0,08 mg/mL) e CBM (0,20-0,25 mg/mL). Para a bactéria *K. pneumoniae* (que é uma cepa ATCC resistente aos carbapenêmicos), destacaram-se os extratos de própolis verdes amostras 1 e 3 apresentando os menores valores de CIM (0,13 mg/mL) e CBM (0,20 mg/mL). E para a bactéria *E. coli* (que foi a cepa Gram-negativa desse estudo mais sensível aos extratos de própolis), destacaram-se os extratos de própolis verdes (amostras 1, 2, 3 e 4), os extratos de própolis de mandaçaia (amostras 5, 6 e 7) e o extrato de própolis de heborá, apresentando valores de CIM entre 0,03 e 0,10 mg/mL e entre 0,15 e 0,20 mg/mL.

Machado *et al.* (2016b) prepararam extratos de própolis vermelha do estado de Sergipe (região Nordeste), própolis verde do estado de Minas Gerais (região Sudeste) e própolis marrom do estado de Santa Catarina (região Sul) com 13,3% de própolis bruta e obtiveram valores de CIM de 0,4-0,8 mg/mL e valores de CBM de 0,8 >1,6mg/mL para *E. coli* ATCC 25922.

Torres *et al.* (2018) compararam os extratos etanólicos de própolis de mandaçaia e jataí coletados na região Sul do Brasil e as bactérias gram-positivas (*E. faecalis*, *S. aureus* e MRSA) foram mais sensíveis que as bactérias gram-negativas (*E. coli* e *K. pneumoniae*) para os dois extratos de própolis. O extrato de própolis de mandaçaia foi mais eficaz contra as bactérias testadas que o extrato de própolis de jataí. Isidorov *et al.* (2022) analisaram o extrato de própolis de abelha heborá proveniente da Argentina e reportaram valores de CIM de 0,03 mg/mL e CBM de 0,13 mg/mL para *S. aureus*, CIM de 0,13 mg/mL e CBM de 0,50 mg/mL para *E. coli* e CIM de 0,50 mg/mL e CBM >2,00 mg/mL para *P. aeruginosa*.

Surek *et al.* (2021) analisaram os extratos de própolis de tubuna e mandaçaia encontrados no estado do Paraná, região Sul do Brasil e reportaram para *S. aureus* valor de CIM 0,25 mg/mL para o extrato de própolis de mandaçaia e ineficácia do extrato de própolis tubuna (CIM >1,0 mg/mL). Nenhum dos extratos de própolis foi eficaz contra bactérias Gram-negativas (*E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*), apresentando valores de CIM >1,0 mg/mL. Deste modo, para as abelhas sem ferrão também se descobriu maior atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas em comparação com bactérias Gram-negativas

Na literatura, alguns estudos propuseram os mecanismos de ação da própolis contra bactérias Gram-negativas. Meto *et al.* (2020) descreveram que o extrato etanólico de própolis diminuiu a liberação de eDNA de *P. aeruginosa* e, conseqüentemente, afetou a estabilidade do biofilme. He *et al.* (2014) relataram que o extrato etanólico de própolis causou danos à membrana de *E. coli*. Almuhayawi (2020, p. 3082) descreveram que a quercetina (composto comumente presente na própolis) inibiu a atividade ATPase ligando-se à subunidade B da DNA girase de *E. coli*. Ainda, os flavonoides podem inibir o crescimento de *E. coli* através do seu principal alvo de ligação à topoisomerase II, resultando numa clivagem do DNA.

Nesse estudo, ficou evidente que níveis muito baixos de compostos fenólicos e atividade antioxidante prejudicaram a atividade antimicrobiana dos extratos de própolis, como foi o caso de tubuna (nos testes de disco-difusão, CIM e CBM) e jataí (no teste de disco-difusão). Por outro lado, a amostra 3 (própolis verde comercial do DF), apesar de formulada com menos de 30% de própolis bruta, destacou-se pela boa atividade antimicrobiana. As outras amostras do estudo, também formuladas com menos de 30% de própolis bruta (própolis verde amostra 4 e mandaçaia amostra 7), demonstraram atividade antimicrobiana comparável a outros extratos de

própolis desse estudo. Assim, observou-se em extratos de própolis com quantidades inferiores a 30% de própolis bruta também apresentando atividade antimicrobiana.

Comercialmente no Brasil, a própolis verde é a mais importante, sendo produzida principalmente nos estados de Minas Gerais e São Paulo (região Sudeste do Brasil) (Berretta *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2020). No entanto, o presente estudo explorou os extratos de própolis verdes produzidos no Distrito Federal, que ainda são pouco conhecidos na literatura. O Distrito Federal está no bioma do Cerrado que tem alta incidência de *Baccharis dracunculifolia* (Heiden e Schneider, 2015). No Distrito Federal, 80 apicultores cadastrados na Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (Emater) produziram, em 2019, 13,8 toneladas de mel, além de outros derivados como própolis, cera e pólen (Emater DF, 2019). Desta forma, observamos nesse estudo que os extratos de própolis verdes do Distrito Federal (amostras 1, 2 e 3) se destacaram pela elevada atividade antimicrobiana.

Outro resultado notório foi que os extratos de própolis de abelhas sem ferrão mandaçaia *in natura* SC (amostra 5) e heborá comercial DF (amostra 10) obtiveram eficácia comparável as amostras 1, 2 e 3, os extratos de própolis verdes com maior atividade antimicrobiana do estudo. Os estudos sobre própolis das diferentes espécies de abelhas sem ferrão ainda são escassos na literatura se comparados as própolis de *Apis mellifera*. As própolis das abelhas sem ferrão têm composição química variada de acordo com as espécies de abelhas e especialmente a fonte vegetal. Assim, as abelhas sem ferrão usam diferentes plantas para a produção de própolis, então essas própolis contêm diferentes composições químicas (Sanchez *et al.*, 2017).

Segundo Isidorov *et al.* (2022) é provável que as abelhas sem ferrão não apresentem forte seletividade na coleta de resina e utilizem os recursos fornecidos pela vegetação local para a produção de própolis, havendo diferenças significativas na composição química dos extratos de própolis de abelhas heborá na Argentina e no Brasil. Os estudos de Surek *et al.* (2021) e Torres *et al.* (2018) com própolis de mandaçaia também não foram similares em relação a composição química, e alguns dos compostos químicos comuns detectados pelos autores foram ácido *p*-cumárico, ácido gálico e aromadendrina. Apesar das diferentes composições químicas, as própolis das abelhas sem ferrão contêm em maior escala compostos fenólicos, bem como terpenos e saponinas que apresentam atividade antimicrobiana (Sanchez *et al.*, 2017).

## 6 CONCLUSÃO

Nesse estudo, através das análises físico-químicas realizadas foi possível relacionar a qualidade dos extratos de própolis verdes de abelhas *Apis mellifera* e de abelhas sem ferrão com os padrões legais. Logo, observou-se em 7 amostras (63,63%) apresentando teor de extrato seco acima de 11% e 4 amostras comerciais (36,36%) apresentaram quantidades inferiores a 11%, estando em desacordo com a legislação brasileira, com possível configuração de infração e/ou fraude a depender do processo produtivo com as amostras comerciais. Também os extratos de própolis de abelhas sem ferrão jataí (amostras 8 e 9) e tubuna (amostra 11) não apresentaram teor mínimo de compostos fenólicos e atividade antioxidante, e afetou a atividade antimicrobiana dos extratos com as bactérias.

Os resultados demonstraram que os extratos de própolis não obtiveram atividade antibacteriana para as bactérias Gram-negativas no ensaio de disco-difusão. Esse perfil de resposta antimicrobiana repetiu-se com a Concentração Inibitória Mínima e a Concentração Bactericida Mínima, onde a atividade antibacteriana dos extratos de própolis foi melhor para as bactérias Gram-positivas em relação as bactérias Gram-negativas. Ainda assim, os extratos de própolis alcançaram valores de CIM e CBM para todas as bactérias testadas no estudo, demonstrando que em concentrações adequadas é possível utilizar os extratos de própolis como agentes antimicrobianos contra as bactérias Gram-negativas.

As amostras com as melhores atividades antibacterianas deste estudo foram os extratos de própolis das abelhas *Apis mellifera* verdes amostras 1, 2 e 3 e os extratos de própolis das abelhas nativas mandaçaia (amostra 5) e heborá (amostra 10). Além disso, faz-se necessário a atualização da legislação brasileira a respeito da padronização dos requisitos de qualidade de própolis para os extratos de própolis verdes de abelhas *Apis mellifera* e própolis de abelhas sem ferrão, e desta forma, a inclusão das diferentes fontes botânicas conhecidas. Portanto, os resultados obtidos demonstraram elevada atividade antimicrobiana e atividade antioxidante para vários tipos de própolis brasileiras, e deste modo, existe a possibilidade de diversas aplicações desses produtos tanto na indústria de alimentos quanto farmacêutica, como conservantes de alimentos, adjuvantes na terapia antimicrobiana contra bactérias resistentes e formulações farmacêuticas antissépticas e sanitizantes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD-MANSOUR, N. *et al.* *Staphylococcus aureus* toxins: An update on their pathogenic properties and potential treatments. **Toxins**, v. 13, n. 10, p. 677, 2021.

AL-ANI, I.; ZIMMERMANN, S.; REICHLING, J.; WINK, M. Antimicrobial activities of European propolis collected from various geographic origins alone and in combination with antibiotics. **Medicines**, v. 5, n. 1, 2018.

ALDANA-MEJÍA, J. A. *et al.* A validated HPLC-UV method for analysing phenolic compounds in Brazilian red propolis and *Dalbergia ecastaphyllum*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 198, n. 1, 2021.

ALENCAR, S. M. D. *et al.* Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, n. 2, p. 278-283. 2007.

ALMUHAYAWI, M. S. Propolis as a novel antibacterial agent. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, n. 11, p. 3079-3086. 2020.

ANDRADE, G. R. S. *et al.* Development and characterization of microencapsules containing spray dried powder obtained from Brazilian brown, green and red propolis. **Food Research International**, v. 109, p. 278-287, 2018.

ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, p. 5-16. 2001.

ANTUNES, P.; MOURÃO, J.; CAMPOS, J.; PEIXE, L. Salmonellosis: the role of poultry meat. **Clinical microbiology and infection**, 22(2), 110-121. 2016.

ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: A practical case. **Trends in Food Science and Technology**, v. 11, p. 419, 2000.

ASHURST, J. V.; DAWSON, A. *Klebsiella pneumonia*. In: **StatPearls**. StatPearls Publishing, 2019.

ASLAM, B. *et al.* Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. **Infection and Drug Resistance**, v. 11, p. 1645, 2018.

ASSIS, M. A. S. *et al.* Antimicrobial and antibiofilm effect of Brazilian green propolis aqueous extract against dental anaerobic bacteria. **Molecules**, v. 27, n. 23, p. 8128, 2022.

BABAKHANI, S.; OLOOMI, M. Transposons: the agents of antibiotic resistance in bacteria. **Journal of Basic Microbiology**, v. 58, n. 11, p. 905-917, 2018.

BANAS, J. A.; DRAKE, D. R. Are the *mutans streptococci* still considered relevant to understanding the microbial etiology of dental caries? **BMC Oral Health**, v. 18, n. 1, p. 129, 2018.

BANDEIRA, M. S.; NOVAIS, J. S. Brazilian peppertree, eucalyptus, and velame honeys: does palynology confirm the predominant flower sources indicated by beekeepers? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, 2021.

BANKOVA, V. *et al.* Standard methods for *Apis mellifera* propolis research. **Journal of Apicultural Research**, v. 58, n. 2, p. 1-49. 2019.

BARMA, M. D. *et al.* Inhibition of *Streptococcus mutans*, antioxidant property and cytotoxicity of novel nano-zinc oxide varnish. **Archives of Oral Biology**, v. 126, p. 105132, 2021.

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.

BARRETO, A. *et al.* Controle de Qualidade da Própolis. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2020. 48p.

BARROS, K. B. N. T.; NETO, E. M. R.; DE FRANÇA FONTELES, M. M. Propolis and its cosmetic applications: a technological prospection. **Journal of Young Pharmacists**, 11(4), 350-352. 2019.

BÉJI-SRAIRI, R. *et al.* Ethanolic extract of Tunisian propolis: chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative properties. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 5, p. 917–927. 2020.

BENHANIFIA, M. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of propolis collected from some localities of Western Algeria. **Acta Alimentaria**, v. 43, n. 3, p. 482–488, 2014.

BERRETTA, A. A. *et al.* Functional properties of Brazilian propolis: from chemical composition until the market. **Superfood and Functional Food - An Overview of Their Processing and Utilization**. InTech; 2017. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/65932>.

BILUCA, F. C. *et al.* Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 50, p. 61-69, 2016.

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**, n. 76, p.449-457, 2015.

BLOKESCH, M. Natural competence for transformation. **Current Biology**, v. 26, n. 21, p. R1126-R1130, 2016.

BOISARD, S. *et al.* Anti-AGE activity of poplar-type propolis: mechanism of action of main phenolic compounds. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 55, n. 2, p. 453–460, 2020.

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, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária/Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria SDA nº 795, de 10 de maio de 2023. **Define as normas higiênico sanitárias e tecnológicas para os estabelecimentos que elaborem produtos de abelhas e seus derivados.** Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-sda-n-795-de-10-de-maio-de-2023-483073181>>.

BRASIL. Ministério da Economia. Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI). **Consulta à Base de Dados de Patentes do INPI.** Disponível em:< <https://busca.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController>>. Acessado em: 28 de julho de 2024.

BrCAST. **Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.** 2021. Disponível em:< <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/08/Tabela-pontos-de-corte-clinicos-BrCAST-v1-mar-2021.pdf>>.

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.

BRODKIEWICZ, Y. *et al.* Studies of the biological and therapeutic effects of Argentine stingless bee propolis. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 8, n. 5, p. 382-392. 2018.

BRYAN, J.; REDDEN, P.; TRABA, C. The mechanism of action of Russian propolis ethanol extracts against two antibiotic-resistant biofilm-forming bacteria. **Letters in Applied Microbiology**, v. 62, n. 2, p. 192–198. 2015.

BUENO-SILVA, B. *et al.* The effect of seasons on Brazilian red propolis and its botanical source: chemical composition and antibacterial activity. **Natural Product Research**, v. 31, n. 11, p. 1318–1324, 2017.

BURMEISTER, A. R. Horizontal gene transfer. **Evolution, Medicine, and Public Health**, p. 193-194, 2015.

CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. *Meliponini lepeletier*, 1836. In: MOURE, J.S.; URBAN, D.; MELO, G. A. R. Orgs (Eds.), Catalogue of Bees (Hymenoptera, Apoidea) in the Neotropical Region. 2013.

CAMPOS, J. F. *et al.* Antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, and cytotoxic activities of propolis from the stingless bee *Tetragonisca fiebrigi* (Jataí). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2015.

CDC. Centro de Controle e Prevenção de Doenças. **Yellow Book. Chapter 4 Travel-Related Infectious Diseases.** Estados Unidos, 2017. Disponível em: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/typhoid-and-paratyphoid-fever>.

CHEN, D. *et al.* A foodborne outbreak of gastroenteritis caused by Norovirus and *Bacillus cereus* at a university in the Shunyi District of Beijing, China 2018: A retrospective cohort study. **BMC Infectious Diseases**, v. 19, p. 1-6, 2019.

CHINESE STANDARD GB/T 24283-2009, 2009. Disponível em: <https://www.chinesestandard.net/PDF/BOOK.aspx/GBT24283-2009>.

CISILOTTO, J. *et al.* Cytotoxicity mechanisms in melanoma cells and UPLC-QTOF/MS2 chemical characterization of two Brazilian stingless bee propolis: Uncommon presence of piperidinic alkaloids. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 149, p. 502-511, 2018.

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.

CLSI. *Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, Tenth Edition.* CLSI document M07-A10, Wayne, Pennsylvania, USA, 2015.

COELHO, G. R. *et al.* Antiviral action of hydromethanolic extract of geopropolis from *Scaptotrigona postica* against antih herpes simplex virus (HSV-1). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2015.

COELHO, G. R. *et al.* Antiviral activity of geopropolis extract from *Scaptotrigona aff. postica* against rubella virus. **Journal of Food Research**, 2018.

CONTIERI, L. S. *et al.* Standardization proposal to quality control of propolis extracts commercialized in Brazil: A fingerprinting methodology using a UHPLC-PDA-MS/MS approach. **Food Research International**, v. 161, p. 111846, 2022a.

CONTIERI, L. S. *et al.* Recent progress on the recovery of bioactive compounds obtained from propolis as a natural resource: Processes, and applications. **Separation and Purification Technology**, v. 298, n. 6, 2022b.

COSTA, P. *et al.* Artepillin C, drupanin, aromadendrin-4'-Omethyl-ether and kaempferide from Brazilian green propolis promote gastroprotective action by diversified mode of action. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 226, p. 82–89, 2018.

CRUMP, J. A. *et al.* Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive *Salmonella* infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 4, p. 901-937, 2015.

CUI, J.; DUAN, X.; KE, L.; PAN, X.; LIU, J.; SONG, X.; FAN, Y. Extraction, purification, structural character and biological properties of propolis flavonoids: A review. **Fitoterapia**, v. 157, n. 9, 2022.

DA CUNHA, M. *et al.* Antiproliferative constituents of geopropolis from the bee *Melipona scutellaris*. **Planta Medica**, v. 82, n. 03, p. 190-194, 2016a.

DA CUNHA, M. *et al.* Anti-inflammatory and anti-biofilm properties of ent-nemorosone from Brazilian geopropolis. **Journal of Functional Foods**, 26, 27-35. 2016b.

DALLABONA, I. D. *et al.* Development of alginate beads with encapsulated jabuticaba peel and propolis extracts to achieve a new natural colorant antioxidant additive. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2020.

DA SILVA, C. *et al.* Determination of total phenolic compounds and antioxidant activity of ethanolic extracts of propolis using ATR–FT-IR spectroscopy and chemometrics. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 7, p. 2013-2021, 2018.

DE OLIVEIRA, F. I. S. *et al.* From innovation to market: an analysis of the propolis production chain. In *Baccharis: From Evolutionary and Ecological Aspects to Social Uses and Medicinal Applications* (pp. 547-564). Cham: Springer International Publishing. 2022.

DE SOUZA, S. A.; CAMARA, C. A.; DA SILVA, E. M. S.; SILVA, T. M. S. Composition, and antioxidant activity of geopropolis collected by *Melipona subnitida* (Jandaíra) bees. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013.

DOS SANTOS, A. C. *et al.* Brazilian stingless bee honey: Physicochemical properties and aliphatic organic acids content. **Food Research International**, v. 158, p. 111516, 2022.

DUARTE, A. W. F. *et al.* Q. Honey and bee pollen produced by Meliponini (Apidae) in Alagoas, Brazil: multivariate analysis of physicochemical and antioxidant profiles. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 493-503, 2018.

DUTRA, R. P. *et al.* Phenolic acids, hydrolyzable tannins, and antioxidant activity of geopropolis from the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 12, p. 2549-2557, 2014.

EFSA; ECDC. **The European Union One Health 2018 Zoonoses Report**. Disponível em: <<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2019.5926>>. Acessado em: 13/02/2024.

EFSA; ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control. **Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018**. Stockholm: ECDC, 2019.

EMATER DF - Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural. **A importância das abelhas na produção de alimentos**. 2019. Disponível em:

<https://www.agenciabrasilia.df.gov.br/2020/05/22/a-importancia-das-abelhas-na-producao-de-alimentos/>

ESCRICHE, I.; JUAN-BORRÁS, M. Standardizing the analysis of phenolic profile in propolis. **Food Research International**, v. 106, p. 834-841, 2018.

FEASEY, N. A. *et al.* Invasive non-typhoidal *Salmonella* disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa. **Lancet**, v. 379, p. 2489– 2499, 2012.

FEASEY, N. A. *et al.* Rapid emergence of multidrug resistant, H58-lineage *Salmonella* typhi in Blantyre, Malawi. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 4, p. e0003748, 2015.

FERREIRA, J. M. *et al.* New propolis type from north-east Brazil: chemical composition, antioxidant activity and botanical origin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 11, p. 3552-3558, 2017.

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

FORD, L.; GLASS, K.; VEITCH, M.; WARDELL, R.; POLKINGHORNE, B. Increasing incidence of *Salmonella* in Australia, 2000–2013. **PLoS One**, v.11, p. e0163989, 2016.

FRANCHIN, M. *et al.* The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 153, p. 49-55, 2018.

FRANCHIN, M. *et al.* Food-grade delivery systems of Brazilian propolis from *Apis mellifera*: From chemical composition to bioactivities *in vivo*. **Food Chemistry**, 137175. 2023.

FREIRES, I. A.; DE ALENCAR, S. M.; ROSALEN, P. L. A pharmacological perspective on the use of Brazilian red propolis and its isolated compounds against human diseases. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 110, p. 267-279, 2016.

FREITAS, A. S.; CUNHA, A.; OLIVEIRA, R.; ALMEIDA-AGUIAR, C. Propolis antibacterial and antioxidant synergisms with gentamicin and honey. **Journal of Applied Microbiology**, v. 132, n. 4, p. 2733-2745, 2022.

GAJDÁCS, M. The continuing threat of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, v. 8, n. 2, p. 52, 2019.

GALE, M. J. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* causing inflammatory mass of the nasopharynx in an immunocompromised HIV infected patient: A mimic of malignancy. **IDCases**, v. 2, n. 2, p. 40-43, 2015.

GOMILA, A. *et al.* Preoperative oral antibiotic prophylaxis reduces *Pseudomonas aeruginosa* surgical site infections after elective colorectal surgery: a multicenter prospective cohort study. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 1-9, 2018.

GRECKA, K. *et al.* The Anti-Staphylococcal potential of ethanolic Polish propolis extracts. **Molecules**, v. 24, p. 1732, 2019.

HE, M. *et al.* Antimicrobial mechanism of flavonoids against *Escherichia coli* ATCC 25922 by model membrane study. **Applied Surface Science**, v. 305, p. 515-521, 2014.

HEIDEN, G., SCHNEIDER, A. **Baccharis in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <http://floradobrasil2015.jbrj.gov.br/FB5177>.

HELENO, S. A. *et al.* Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501-513. 2015.

HOCHHEIM, S. *et al.* Determination of phenolic profile by HPLC–ESI-MS/MS, antioxidant activity, *in vitro* cytotoxicity and anti-herpetic activity of propolis from the Brazilian native bee *Melipona quadrifasciata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 339-350, 2019.

HOCHHEIM, S. *et al.* Bioguided approach for the screening of antibacterial compounds isolated from the hydroalcoholic extract of the native Brazilian bee's propolis using mollicutes as a model. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 558, 2020.

HOLMES, A. H. *et al.* Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **The Lancet**, Reino Unido, v. 387, n. 10014, p. 176–187, 2016.

HONG, Y. *et al.* Post-stress bacterial cell death mediated by reactive oxygen species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 20, p. 10064-10071, 2019.

HUANG, S. *et al.* Recent advances in the chemical composition of propolis. **Molecules**, v. 19, n. 12, p. 19610-32, 2014.

HUANG, Z. *et al.* Aptasensors for *Staphylococcus aureus* risk assessment in food. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 714265, 2021.

HULME, J. Recent advances in the detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **BioChip Journal**, v. 11, p. 89-100, 2017.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). ISO 24381:2023. **Bee propolis — Specifications**. First edition. 2023.

IRIGOITI, Y. *et al.* The use of propolis as a functional food ingredient: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 115, p. 297–306. 2021.

ISIDOROV, V. A. *et al.* Chemical composition and biological activity of Argentinian propolis of four species of stingless bees. **Molecules**, v. 27, n. 22, p. 7686, 2022.

JAIN, S. *et al.* Botanical origin of the Brazilian red propolis: A new approach using DNA analysis. **Journal of Apicultural Science**, v. 58, n. 2, p. 79-85, 2014.

JESSER, K. J.; LEVY, K. Updates on defining and detecting diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes. **Current Opinion in Infection Diseases**, v. 33, n. 5, p. 372-380, 2020.

JOHNSTON, C. *et al.* Bacterial transformation: distribution, shared mechanisms and divergent control. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, n. 3, p. 181-196, 2014.

KAPOOR G., *et al.* Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. **Journal of Anesthesiology Clinical Pharmacology**, v. 33, n. 3. 2017.

KASOTE, D. M. *et al.* HPLC, NMR based chemical profiling and biological characterization of Indian propolis. **Fitoterapia**, v. 122, p. 52-60, 2017.

KAUR, C. P.; VADIVELU, J.; CHANDRAMATHI, S. Impact of *Klebsiella pneumoniae* in lower gastrointestinal tract diseases. **Journal of Digestive Diseases**, v. 19, n. 5, p. 262-271, 2018.

KAUSHIK, M. *et al.* Integrons and antibiotic resistance genes in water-borne pathogens: threat detection and risk assessment. **Journal of Medical Microbiology**, v. 68, n. 5, p. 679-692, 2019.

KELLER, M. D.; TORRES, V. J.; CADWELL, K. Autophagy and microbial pathogenesis. **Cell Death & Differentiation**, v. 27, n. 3, p. 872-886, 2020.

KIM, D-O. *et al.* Vitamin C equivalent antioxidant capacity of phenolics phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3713-3717, 2002.

KOH, J. J. *et al.* Rapid bactericidal action of alpha-mangostin against MRSA as an outcome of membrane targeting. **Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes**, v. 1828, n. 2, p. 834-844, 2013.

KOSER, J. R.; BARBIÉRI, C.; FRANCOY, T. M. Legislação sobre meliponicultura no Brasil: demanda social e ambiental. **Sustentabilidade em Debate**, v. 11, n. 1, 2020.

KOURTIS, A. P. *et al.* Vital signs: epidemiology and recent trends in methicillin-resistant and in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bloodstream infections - United States. **MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 68, p. 214-219, 2019.

KUMAR, P.; KUMAR, R. Enteric Fever. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 84, n. 3, p. 227-230, 2017.

KUPER, K. M. *et al.* Antimicrobial susceptibility testing: a primer for clinicians. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 29, n. 11, p. 1326-1343. 2009.

KUREK-GÓRECKA, A. *et al.* Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. **Molecules**, v. 19, n 1, p. 78-101, 2014.

LARSSON, D. G. J.; FLACH, C. F. Antibiotic resistance in the environment. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 257-269, 2022.

LEONHARDT, S. D. Chemical ecology of stingless bees. **Journal of Chemical Ecology**, v. 43, p. 385-402, 2017.

LI, B. *et al.* Dissecting horizontal and vertical gene transfer of antibiotic resistance plasmid in bacterial community using microfluidics. **Environment International**, v. 131, p. 105007, 2019.

LIU, Y. *et al.* Genomic insights into the taxonomic status of the *Bacillus cereus* group. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 14082, 2015.

MACHADO, K. E. *et al.* Potent antibacterial activity of *Eugenia umbelliflora*. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, n. 7, p. 636-639, 2005.

MACHADO, C. S. *et al.* Comparative study of chemical composition and biological activity of yellow, green, brown, and red Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2016a.

MACHADO, B. A. S. *et al.* Chemical composition and biological activity of extracts obtained by supercritical extraction and ethanolic extraction of brown, green and red propolis derived from different geographic regions in Brazil. **PloS one**, v. 11, n. 1, p. e0145954. 2016b.

MADIGAN, M. T., *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MARTIN, R. M.; BACHMAN, M. A. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 8, n. 4, 2018.

METO, A. *et al.* Propolis affects *Pseudomonas aeruginosa* growth, biofilm formation, eDNA release and phenazine production: potential involvement of polyphenols. **Microorganisms**. v. 8, n. 2, p. 243, 2020.

MOLNÁR, S. *et al.* Comparative studies on polyphenolic profile and antimicrobial activity of propolis samples selected from distinctive geographical areas of Hungary. **Food Science and Technology International**, v. 23, n. 4, p. 349-357, 2017.

MORADALI, M. F.; GHODS, S.; REHM, B. H. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: a paradigm for adaptation, survival, and persistence. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, n. 39, 2017.

MOURE, J. S. 2013. **Catálogo de abelhas moure**. Disponível em: <<http://moure.cria.org.br/catalogue?id=1>>.

MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. **Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens**, p. 481-511, 2016.

NANI, B. D. *et al.* Anti-inflammatory and anti-*Candida* Effects of Brazilian Organic Propolis, a Promising Source of Bioactive Molecules and Functional Food. **J Agric Food Chem**. 2020 Mar 11;68(10):2861-2871. doi: 10.1021/acs.jafc.8b07304. Epub 2019 Aug 23. PMID: 31369255.

NASCIMENTO, T. G. *et al.* Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of some commercial extract of propolis. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 2, p. 246-254, 2018.

NEDJI, N.; LOUCIF-AYAD, W. Antimicrobial activity of Algerian propolis in foodborne pathogens and its quantitative chemical composition. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, p. 433–437, 2014.

NEIVA, K. G. *et al.* Propolis decreases lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators in pulp cells and osteoclasts. **Dental Traumatology**, v. 30, n. 5, p. 362-367, 2014.

NEVES, M. V. M. *et al.* Isoflavone formononetin from red propolis acts as a fungicide against *Candida* sp. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 159–166, 2016.

OLIVEIRA, P. F. *et al.* Comparative evaluation of antiproliferative effects of Brazilian green propolis, its main source *Baccharis dracunculifolia*, and their major constituents artepillin C and baccharin. **Planta Medica**, v. 80, n. 6, p. 490–492, 2014.

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.

OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022**. Disponível em: <<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/364996/9789240062702-eng.pdf?sequence=1>>. Acessado em: 13/03/2024.

OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024**. 2024. Disponível em: <<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>>. Acessado em: 25/07/2024.

PANG, Z. *et al.* Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. **Biotechnology advances**, v. 37, n. 1, p. 177-192, 2019.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 2502–2506, 2002.

PASUPULETI, V. R. *et al.* Honey, propolis, and royal jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2017.

PATEL, S. Emerging adjuvant therapy for cancer: propolis and its constituents. **Journal of Dietary Supplements**, v. 13, n. 3, p. 245-268, 2016.

PATRA, A.; ABDULLAH, S.; PRADHAN, R. C. Review on the extraction of bioactive compounds and characterization of fruit industry by-products. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 9, n. 1, p. 1-25, 2022.

PAZIN, W. M. *et al.* Antioxidant activities of three stingless bee propolis and green propolis types. **Journal of Apicultural Research**, p. 1-10, 2017.

PEDRO, S. R. The stingless bee fauna in Brazil (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, v. 61, n. 4, p. 348-354, 2014.

PICCININI, A. *et al.* Bioactive compounds and antiradical activity of propolis from *Scaptotrigona bipunctata* e *Scaptotrigona depilis*. **Brazilian Journal of Health Review**, v.4, n.6, p. 28084-28092, 2021.

POBIEGA, K. *et al.* Comparison of the antimicrobial activity of propolis extracts obtained by means of various extraction methods. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 12, p. 5386-5395, 2019.

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

PRINCIPATO, M.; QIAN, B. F. Staphylococcal enterotoxins in the etiopathogenesis of mucosal autoimmunity within the gastrointestinal tract. **Toxins**, v. 6, n. 5, p. 1471-1489, 2014.

PRZYBYŁEK, I.; KARPIŃSKI, T. M. Antibacterial properties of propolis. **Molecules**, v. 24, n. 11, p. 2047. 2019.

PU, Y. *et al.* Advances in propolis and propolis functionalized coatings and films for fruits and vegetables preservation. **Food Chemistry**, p. 135662, 2023.

PUJIRAHAYU, N.; SUZUKI, T.; KATAYAMA, T. Cycloartane-type triterpenes and botanical origin of propolis of stingless Indonesian bee *Tetragonula sapiens*. **Plants**, 8(3), 57. 2019.

PUTNIK, P.; LORENZO, J. M.; BARBA, F. J.; ROOHINEJAD, S.; REŽEK JAMBRAK, A.; GRANATO, D.; BURSAC KOVAČEVIĆ, D. Novel food processing and extraction technologies of high-added value compounds from plant materials. **Foods**, v. 7, n. 7, p. 106, 2018.

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.

REGUEIRA, M. S. *et al.* Seasonal variation of Brazilian red propolis: Antibacterial activity, synergistic effect and phytochemical screening. **Food and Chemical Toxicology**, v. 107, p. 572–580, 2017.

RIBER, L.; HANSEN, L. H. Epigenetic memories: the hidden drivers of bacterial persistence? **Trends in Microbiology**, v. 29, n. 3, p. 190-194, 2021.

RIBEIRO, V. P. *et al.* Chemical characterization of Brazilian propolis using automated direct thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 102, n. 10, p. 4345–4354. 2022.

RILEY, L. W. Distinguishing pathovars from nonpathovars: *Escherichia coli*. **Microbiology Spectrum**, v. 8, n. 4, 2020.

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, V. M. *et al.* Propolis from different Brazilian stingless bee species: phenolic composition and antimicrobial activity. **Food Production, Processing and Nutrition**, v. 6, n. 12, 2024.

RODRIGO, D.; ROSELL, C. M.; MARTINEZ, A. Risk of *Bacillus cereus* in relation to rice and derivatives. **Foods**, v. 10, n. 302, 2021.

RODRIGUES, D. M. *et al.* The role of *Baccharis dracunculifolia* and its chemical profile on green propolis production by *Apis mellifera*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 46, n. 2, p. 150–162, 2020.

ROLAIN, J. M. *et al.* Bacteriophages as vehicles of the resistome in cystic fibrosis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, n. 11, p. 2444-2447, 2011.

ROSSOLINI, G. M. *et al.* Update on the antibiotic resistance crisis. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 18, p. 56-60, 2014.

RUFINO, M. S. M. *et al.* Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Embrapa. Comunicado Técnico online 127. Fortaleza, 2007.

SABRAH, A. H.; YASSEN, G. H.; GREGORY, R. L. Effectiveness of antibiotic medicaments against biofilm formation of *Enterococcus faecalis* and *Porphyromonas gingivalis*. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 11, p. 1385-1389. 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.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. How diverse is the chemistry and plant origin of Brazilian propolis? **Apidologie**, p. 1-23. 2021.

SALGUEIRO, F. B.; CASTRO, R. N. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. **Química Nova**, v. 39, n. 10, p.1192-1199, 2016.

SAMUEL, S. R.; ACHARYA, S.; RAO, J. C. School interventions-based prevention of early-childhood caries among 3-5-year-old children from very low socioeconomic status: two-year randomized trial. **Journal of Public Health Dentistry**, v. 80, n. 1, p. 51–60, 2020.

SANCHES, M. A.; PEREIRA, A. M. S.; SERRÃO, J. E. Pharmacological actions of extracts of propolis of stingless bees (*Meliponini*), **Journal of Apicultural Research**, 2017.

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.

SANTOS, M. F. C. *et al.* Isolation of diterpenes from *Araucaria* sp. Brazilian brown propolis and development of a validated high performance liquid chromatography method for its analysis. **Journal of Separation Science**, v. 44, n. 16, p. 3089–3097, 2021.

SANTOS, A. C. M. *et al.* Characterization of unconventional pathogenic *Escherichia coli* isolated from bloodstream infection: virulence beyond the opportunism. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 15-28., 2023.

SARKER, S. D.; NAHAR, L.; KUMARASAMY, Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. **Methods**, v. 42, n. 4, p. 321-324. 2007.

SCHMIDT, E. M. *et al.* Comparison between characterization and biological properties of Brazilian fresh and aged propolis. **Biomed Research International**, p. 257617, 2014a.

SCHMIDT, E. M. *et al.* Effect of extraction solvent on antiradical activity of the obtained propolis extracts. **Journal of Apicultural Research**, v. 53, n. 1, 91-100. 2014b.

SEOW, Y. X. *et al.* Plant essential oils as active antimicrobial agents. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, p. 625–644. 2014.

SFORCIN, J. M. Biological properties and therapeutic applications of propolis. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 6, p. 894-905, 2016.

SIMPSON, M. G. **Plant Systematics**. Third Edition, Academic Press, 740 p. 2020.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetria de fenólicos totais com reagente de ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico, **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.

SON, N. T.; RIBEIRO, V. P.; BASTOS, J. K. Flavonoids from green propolis of the Northeastern Brazilian Caatinga *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.: A chemotaxonomic aspect. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 104, p. 104473, 2022.

SOUCY, S. M.; HUANG, J.; GOGARTEN, J. P. Horizontal gene transfer: building the web of life. **Nature Reviews Genetics**, v. 16, n. 8, p. 472-482, 2015.

SOUZA, J. A. *et al.* Apicultura em Rondônia (Amazônia legal): estudo de caso sobre o arranjo produtivo local da apicultura no cone sul. **Revista Estudo & Debate**, v. 23, n. 2, p. 115-137, 2016.

STATE STANDARD 28886-90 “Propolis”. Group C52. **Interstate Standard. Specifications Propolis**. Moscow: IPK Publishing House of Standards. 1990.

STEINBERG, D.; FRIEDMAN, M. Sustained-release drug delivery of antimicrobials in controlling of supragingival oral biofilms. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 14, n. 4, p. 571-581, 2017.

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, 2021.

TAHMASEBI, E. *et al.* Current infections of the orofacial region: treatment, diagnosis, and epidemiology. **Life**, v. 13, n. 2, p. 269, 2023.

TAKASHIMA, M.; ICHIHARA, K.; HIRATA, Y. Neuroprotective effects of Brazilian green propolis on oxytosis/ferroptosis in mouse hippocampal HT22 cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 132, n. 3, 2019.

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.

THI, M. T. T.; WIBOWO, D.; REHM, B. H. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 22, p. 8671, 2020.

TIVERON, A. P. *et al.* Chemical characterization and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of south Brazilian organic propolis. **PLOS ONE**, v. 11, n. 11, p. e0165588, 2016.

TIVERON, A. P. *et al.* Lignans as new chemical markers of a certified Brazilian organic propolis. **Natural Product Research**, v. 36, n. 8, p. 2135–2139, 2020.

TOMAZZOLI, M. M. *et al.* Discrimination of Brazilian propolis according to the seasoning using chemometrics and machine learning based on UV-Vis scanning data. **Journal of Integrative Bioinformatics**, v. 12, n. 4, p. 15-26, 2015.

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, n. 6, p. e7118, 2018.

TOYOFUKU, M.; NOMURA, N.; EBERL, L. Types and origins of bacterial membrane vesicles. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 1, p. 13-24, 2019.

TRAN, F.; BOEDICKER, J. Q. Genetic cargo and bacterial species set the rate of vesicle-mediated horizontal gene transfer. **Scientific Reports**, v. 7, 2017.

TRAN, T. D.; OGBOURNE, S. M.; BROOKS, P. R.; SÁNCHEZ-CRUZ, N.; MEDINA-FRANCO, J. L.; QUINN, R. J. Lessons from exploring chemical space and chemical diversity of propolis components. **International journal of molecular sciences**, 21(14), 4988. 2020.

TREVISOL, G. *et al.* Panorama econômico da produção e exportação de mel de abelha produzidos no Brasil. **RevistaGeSec**, v.13, n.3, p.352-368, 2022.

TURNER, N. A. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 4, p. 203-218, 2019.

VELOZ, J. J.; ALVEAR, M.; SALAZAR, L. A. Antimicrobial and antibiofilm activity against *Streptococcus mutans* of individual and mixtures of the main polyphenolic compounds found in Chilean propolis. **BioMed Research International**, 2019.

VIEIRA, A.L. *et al.* Evaluation of the chemical profile and antioxidant capacity of green, brown, and dark propolis. **Plants**, v. 12, 2023.

VIT, P.; PEDRO, S. R. M; ROUBIK, D. (Ed.). Pot-honey: a legacy of stingless bees. **Springer Science & Business Media**, 2013.

VÖLZING, K. G.; BRYNILDSEN, M. P. Stationary-phase persisters to ofloxacin sustain DNA damage and require repair systems only during recovery. **MBio**, v. 6, p. e00731-15, 2015.

WANG, T.; LIU, Q.; WANG, M.; ZHANG, L. Metabolomics reveals discrimination of Chinese propolis from different climatic regions. **Foods**, v. 9, n. 4, p. 491. 2020.

WHO. World Health Organization. **Antibiotic resistance**. World Health Organization, 2020. Disponible em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance#:~:text=What is antimicrobial resistance%3F,sread%2C severe illness and death.>

WONG, V. K. *et al.* Phylogeographical analysis of the dominant multidrug-resistant H58 clade of *Salmonella* Typhi identifies inter-and intracontinental transmission events. **Nature Genetics**, v. 47, n. 6, p. 632-639, 2015.

YANG, J. H. *et al.* Antibiotic-induced changes to the host metabolic environment inhibit drug efficacy and alter immune function. **Cell Host & Microbe**, v. 22, n. 6, p. 757-765, 2017.

ZAMPIERI, M. *et al.* Nontargeted metabolomics reveals the multilevel response to antibiotic perturbations. **Cell Reports**, v. 19, n. 6, p. 1214-1228, 2017.

ZHOU, H.; BELTRAN, J. F.; BRITO, I. L. Functions predict horizontal gene transfer and the emergence of antibiotic resistance. **Science Advances**, v. 7, p. eabj5056, 2021.

ZHU, Y.; HUANG, W. E.; YANG, Q. Clinical perspective of antimicrobial resistance in bacteria. **Infection and Drug Resistance**, v. 15, p. 735-746, 2022.

## APÊNDICES

### APÊNDICE 1 – Caracterização físico-química dos extratos de própolis

#### APÊNDICE 1.1 - Teor de extrato seco dos extratos de própolis

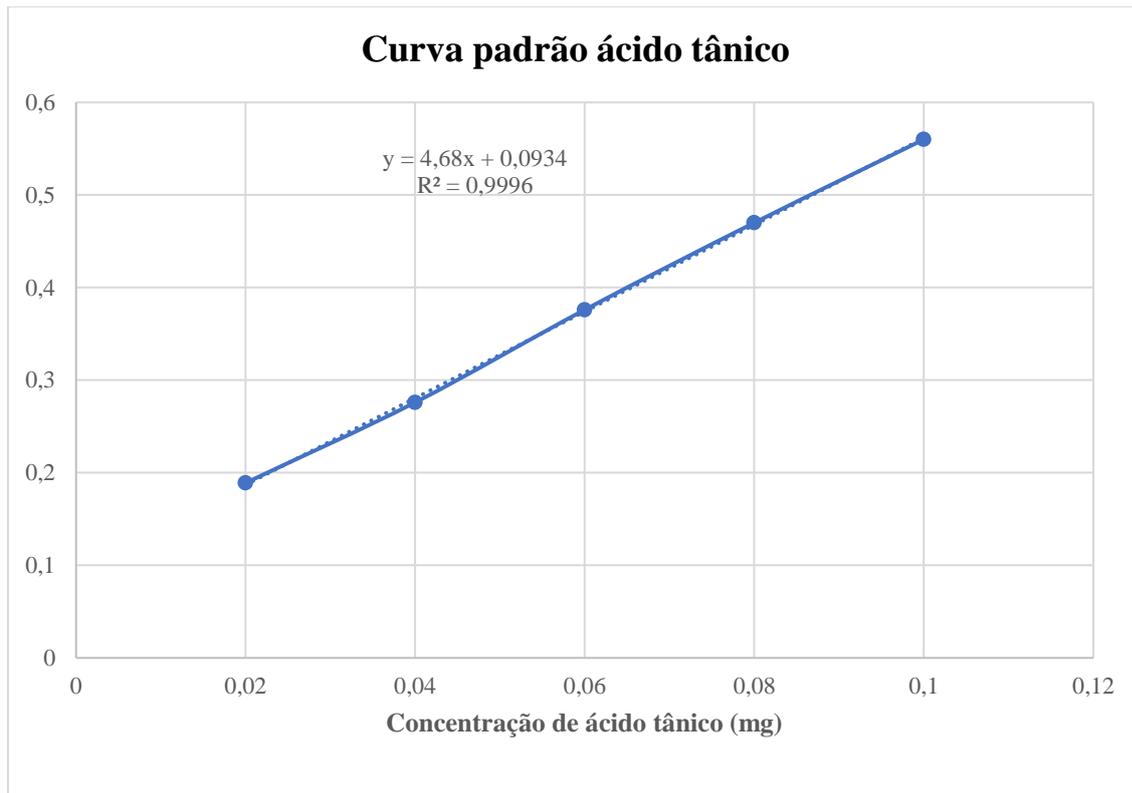
Identificações cadinhos	Extratos de Própolis	Peso cadinho vazio	Peso cadinho seco	Peso amostra	TEOR DE EXTRATO SECO	
<b>Própolis <i>Apis mellifera</i></b>						<b>MÉDIA</b>
1A	1	42,57 g	42,84 g	1,58 g	17,08%	17,08%
2A		42,57 g	42,84 g	1,58 g	17,08%	
3A	2	25,85 g	26,03 g	1,42 g	12,67%	12,71%
3B		29,60 g	29,80 g	1,57 g	12,73%	
4A	3	25,90 g	26,01 g	1,31 g	8,39%	7,99%
4B		41,77 g	41,89 g	1,58 g	7,59%	
1B	4	25,25 g	25,22 g	1,63 g	1,84%	1,84%
2B		25,25 g	25,22 g	1,63 g	1,84%	
<b>Própolis de meliponídeos</b>						
5A	5	38,15 g	38,36 g	1,55 g	13,54%	12,09%
5B		35,29 g	35,46 g	1,60 g	10,62%	
10A	6	25,71 g	25,97 g	1,81 g	14,36%	15,54%
10B		27,86 g	28,16 g	1,88 g	15,95%	
6A	7	29,98 g	30,01 g	1,35 g	2,22%	2,56%
6B		41,92 g	41,97 g	1,72 g	2,90%	
7A	8	43,12 g	43,41 g	1,78 g	16,29%	16,43%
7B		40,37 g	40,64 g	1,63 g	16,56%	
8A	9	27,33 g	27,38 g	1,71 g	2,92%	2,61%
8B		37,43 g	37,47 g	1,74 g	2,29%	
9A	10	42,28 g	41,81 g	1,60 g	29,37%	29,56%
9B		25,74 g	25,27 g	1,58 g	29,75%	
11A	11	27,77 g	27,36 g	1,71 g	23,97%	24,07%
11B		25,95 g	25,58 g	1,53 g	24,18%	

Fonte: (Autoria própria, 2024).

Legenda: A/B – ensaio em duplicata; amostra 1 – extrato de própolis verde comercial DF; amostra 2 – extrato de própolis verde comercial DF; amostra 3 – extrato de própolis verde comercial DF; amostra 4 – extrato de própolis verde comercial DF; amostra 5 – própolis mandacaiá *in natura* SC; amostra 6 – extrato de própolis mandacaiá comercial RS; amostra 7 – extrato de própolis mandacaiá comercial DF; amostra 8 – própolis *in natura* PR; amostra 9 – extrato de própolis jataí comercial Distrito Federal; amostra 10 – extrato de própolis heborá comercial DF; amostra 11 – extrato de própolis tubuna comercial RS; g – gramas; % - porcentagem.

## APÊNDICE 1.2 – Curva padrão dos compostos fenólicos

Concentração de ácido tânico (mg) Eixo x	Absorbância (nm) Eixo y
0,02	0,189
0,04	0,276
0,06	0,376
0,08	0,470
0,10	0,560

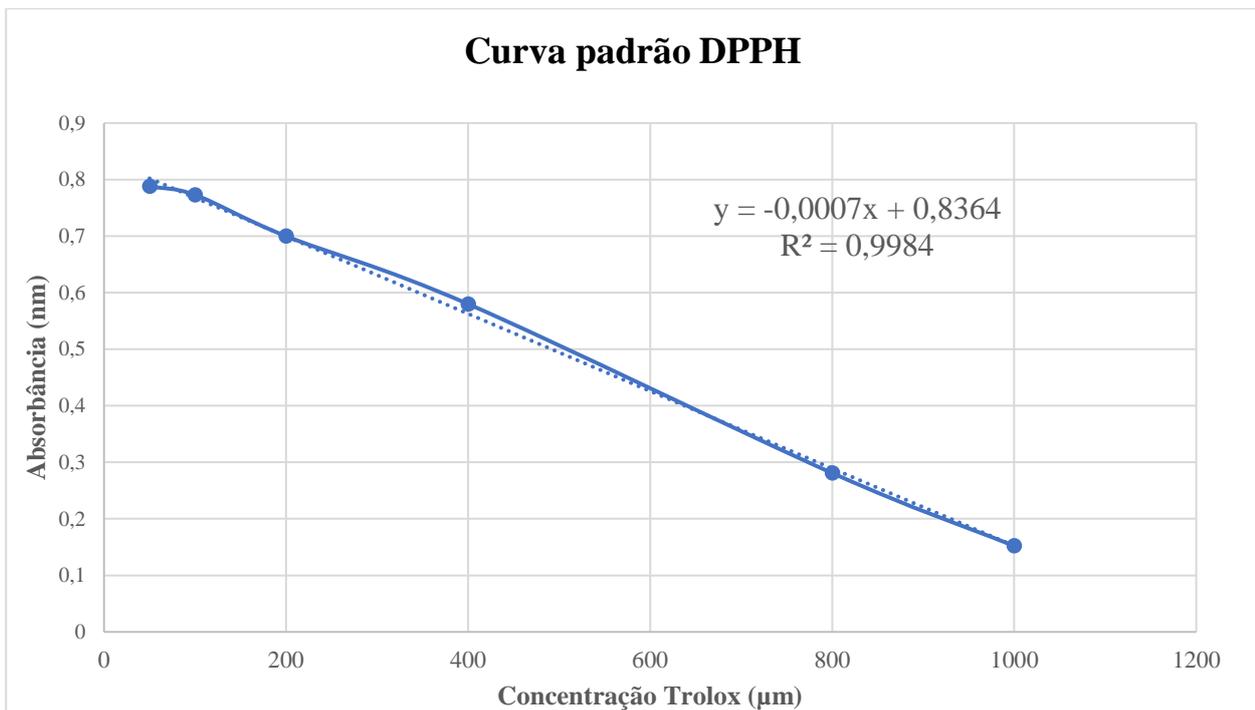


Fonte: (Autoria própria, 2024).

Legenda: mg – miligramas; nm – nanômetros.

### APÊNDICE 1.3 – Curva padrão de DPPH

Absorbância (nm) Eixo y	Concentração Trolox (µM) Eixo x
0,788	50
0,773	100
0,700	200
0,580	400
0,281	800
0,152	1000

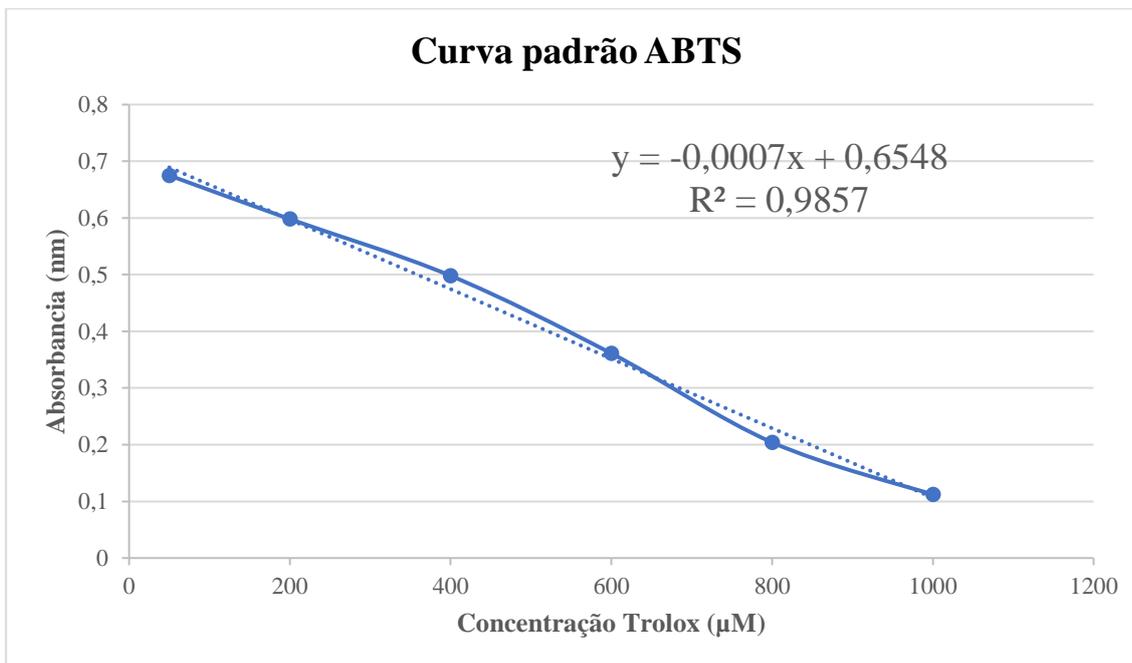


Fonte: (Autoria própria, 2024).

Legenda: DPPH - 2,2-difenil-1- picril-hidrazil; TE - equivalente em *Trolox*; nm – nanômetros; µM – milimolar.

## APÊNDICE 1.4 – Curva padrão de ABTS

Absorbância (nm) Eixo y	Concentração Trolox (µM) Eixo x
50	0,675
200	0,598
400	0,498
600	0,361
800	0,204
1000	0,112



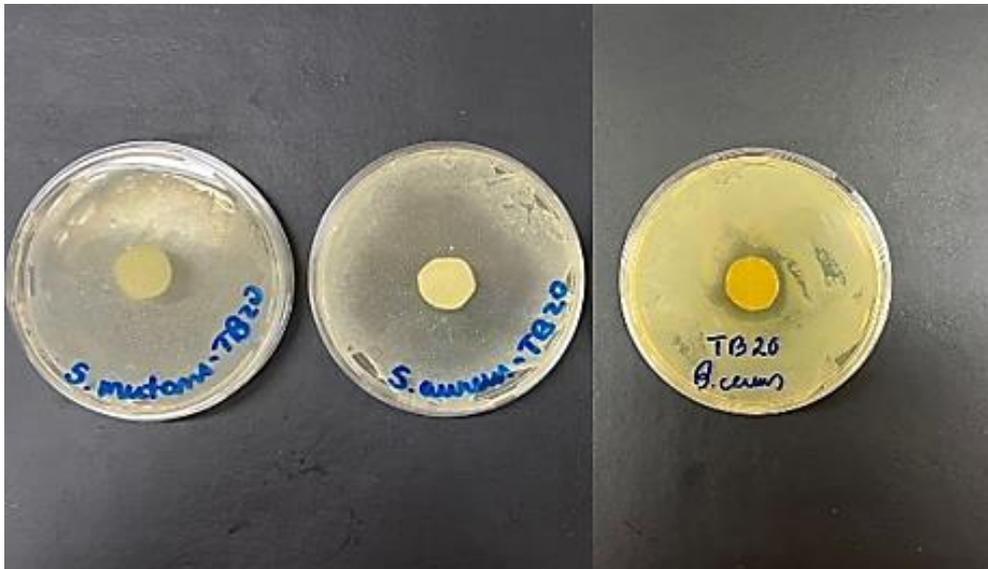
Fonte: (Autoria própria, 2024).

Legenda: ABTS - 2,2 azinobis-3-etilbenzolina-6-ácido sulfônico; TE - equivalente em *Trolox*; nm – nanômetros; µM – milimolar.

## APÊNDICE 2 – Análises da atividade antimicrobiana dos extratos de própolis

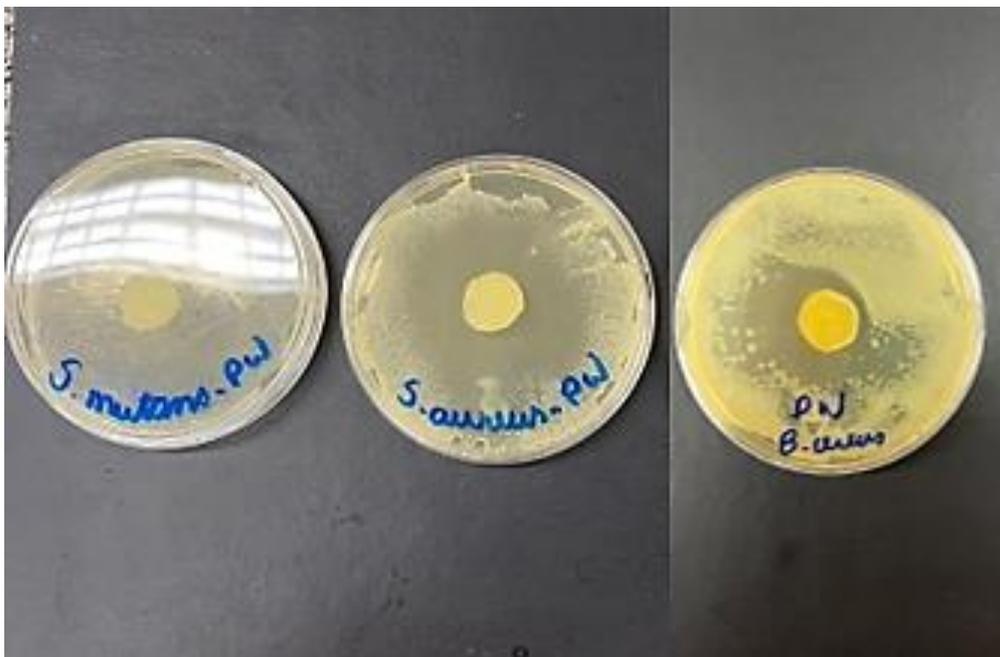
### APÊNDICE 2.1 – Ensaio por disco-difusão das bactérias Gram-positivas

#### IMAGEM 4 – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis verde amostra 1 comercial



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *S. mutans* - *Streptococcus mutans*; *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *B. cereus* – *Bacillus cereus*. TB – Extrato de própolis verde amostra 1 comercial DF.

#### IMAGEM 5 – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis verde amostra 2 comercial



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *S. mutans* - *Streptococcus mutans*; *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *B. cereus* – *Bacillus cereus*. PW – Extrato de própolis verde amostra 2 comercial DF.

**IMAGEM 6** – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis verde amostra 3 comercial



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *S. mutans* - *Streptococcus mutans*; *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *B. cereus* – *Bacillus cereus*. A – Extrato de própolis verde amostra 3 comercial DF.

**IMAGEM 7** - Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis verde amostra 4 comercial



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *S. mutans* - *Streptococcus mutans*; *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *B. cereus* – *Bacillus cereus*. PC – Extrato de própolis verde amostra 4 comercial DF.

**IMAGEM 8** – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis mandaçaiia amostra 5 *in natura*



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *S. mutans* - *Streptococcus mutans*; *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *B. cereus* – *Bacillus cereus*. M – Extrato de própolis mandaçaiia amostra 5 *in natura* SC.

**IMAGEM 9** – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis mandaçaiia amostra 6 comercial



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *S. mutans* - *Streptococcus mutans*; *B. cereus* – *Bacillus cereus*. MM – extrato de própolis mandaçaiia amostra 6 comercial RS.

**IMAGEM 10** – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *S. mutans* - *Streptococcus mutans*; *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *B. cereus* – *Bacillus cereus*. MPC – extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial DF.

**IMAGEM 11** – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura*



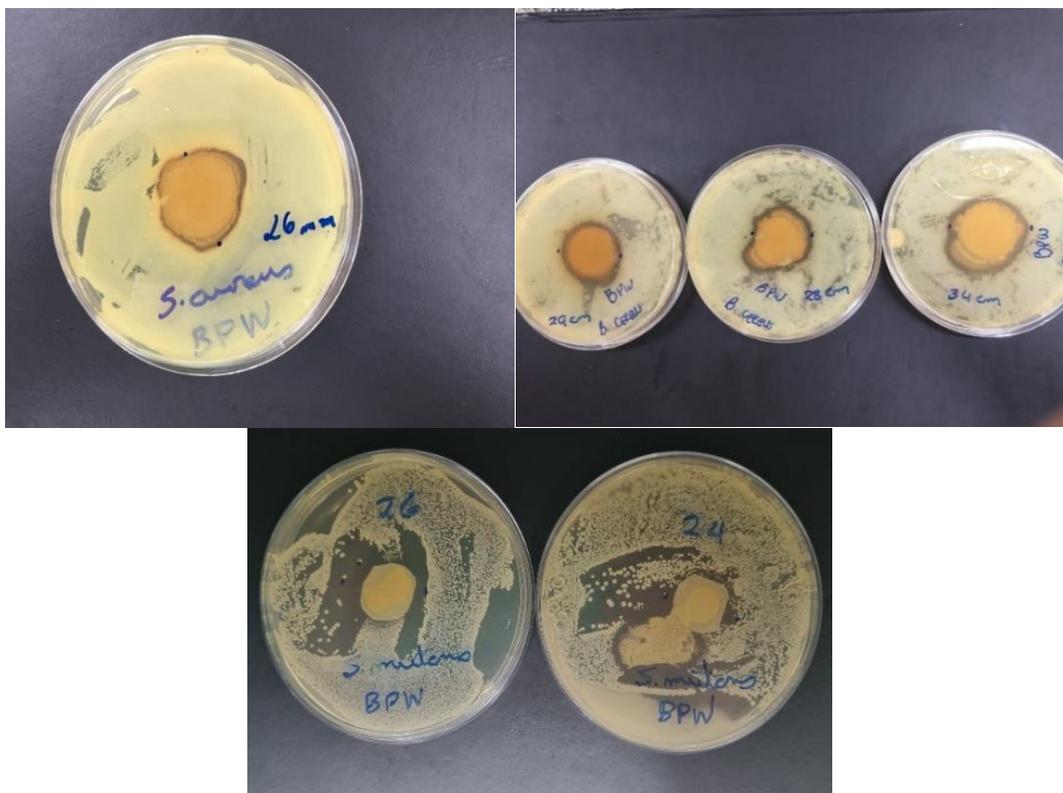
Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *S. mutans* - *Streptococcus mutans*; *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *B. cereus* – *Bacillus cereus*. J – Extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura* PR.

**IMAGEM 12** – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *S. mutans* - *Streptococcus mutans*; *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *B. cereus* – *Bacillus cereus*. JPC – Extrato de própolis jataí amostra 9 comercial DF.

**IMAGEM 13** – Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *B. cereus* – *Bacillus cereus*; *S. mutans* - *Streptococcus mutans*. BPW – extrato de própolis heborá amostra 10 comercial DF.

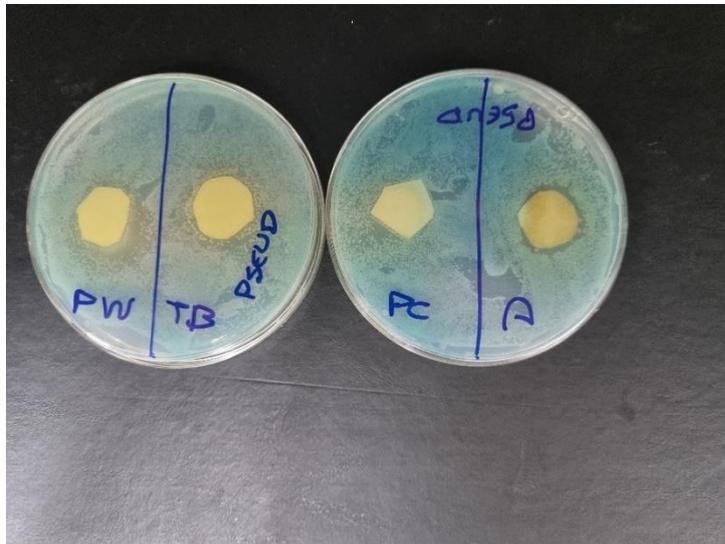
**IMAGEM 14** - Ensaio por disco-difusão do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *S. mutans* - *Streptococcus mutans*; *S. aureus* – *Staphylococcus aureus*; *B. cereus* – *Bacillus cereus*. TU – extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial RS.

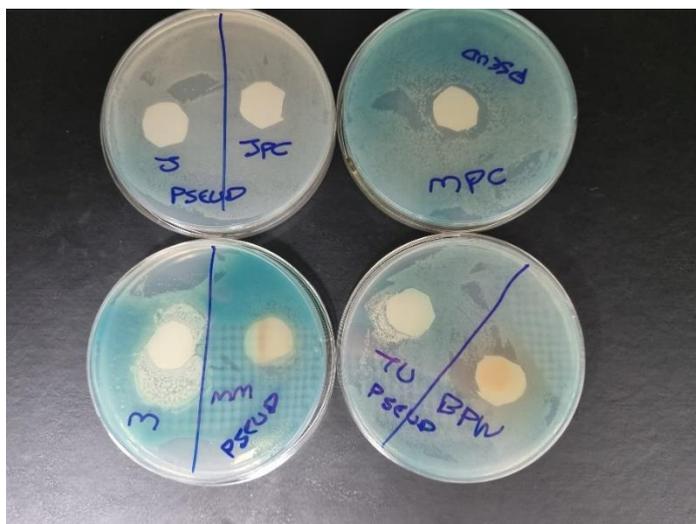
## APÊNDICE 2.2 – Ensaio por disco-difusão das bactérias Gram-negativas

**IMAGEM 15** - Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis comerciais verdes amostras 2, 1, 4 e 3



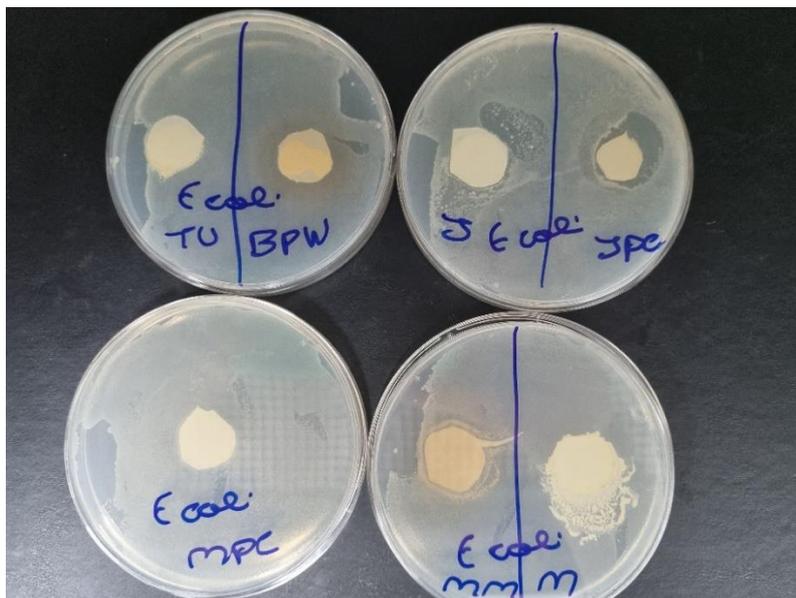
Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 - PW – Extrato de própolis verde amostra 2 comercial DF; TB – Extrato de própolis verde amostra 1 comercial DF; PC – Extrato de própolis verde amostra 4 comercial DF; A – Extrato de própolis verde amostra 3 comercial DF.

**IMAGEM 16** - Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis de *T. angustula* (jataí *in natura* e jataí amostra 9 comercial), de *M. quadrifasciata* (mandioca amostra 7, amostra 5 *in natura* e amostra 6), de *S. bipunctata* (tubuna amostra 11) e de *T. clavipes* (heborá amostra 10)



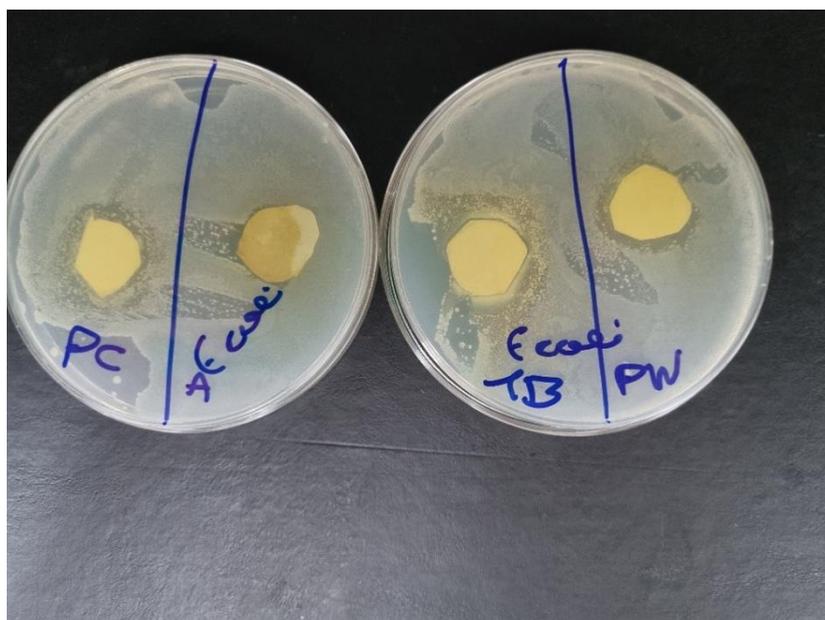
Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 - J – Extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura* PR; JPC – Extrato de própolis jataí amostra 9 comercial DF; MPC – extrato de própolis mandioca amostra 7 comercial DF; M – Extrato de própolis mandioca amostra 5 *in natura* SC; MM – extrato de própolis mandioca amostra 6 comercial RS; TU – extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial RS; BPW – extrato de própolis heborá amostra 10 comercial DF.

**IMAGEM 17** - Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis de *S. bipunctata* (tubuna amostra 11), de *T. clavipes* (heborá amostra 10), de *T. angustula* (jataí amostra 8 *in natura* e jataí amostra 9 comercial) e de *M. quadrifasciata* (mandaçaia amostra 7, amostra 6 e amostra 5)



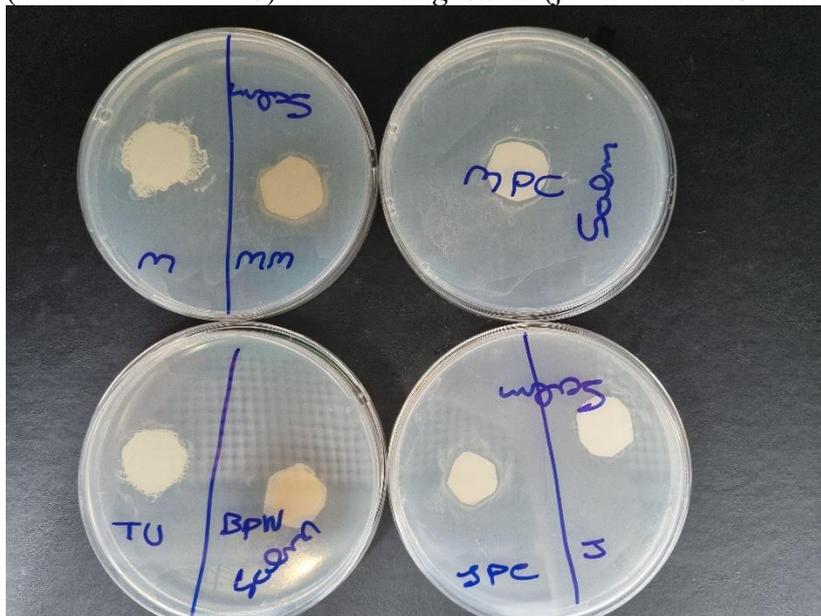
Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *Escherichia coli* ATCC 25922 - TU – extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial RS; BPW – extrato de própolis heborá amostra 11 comercial DF; J – Extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura* PR; JPC – Extrato de própolis jataí amostra 9 comercial DF; MPC – extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial DF; MM – extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial RS; M – Extrato de própolis mandaçaia amostra 5 *in natura* SC.

**IMAGEM 18** - Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis comerciais verdes amostras 4, 3, 1 e 2



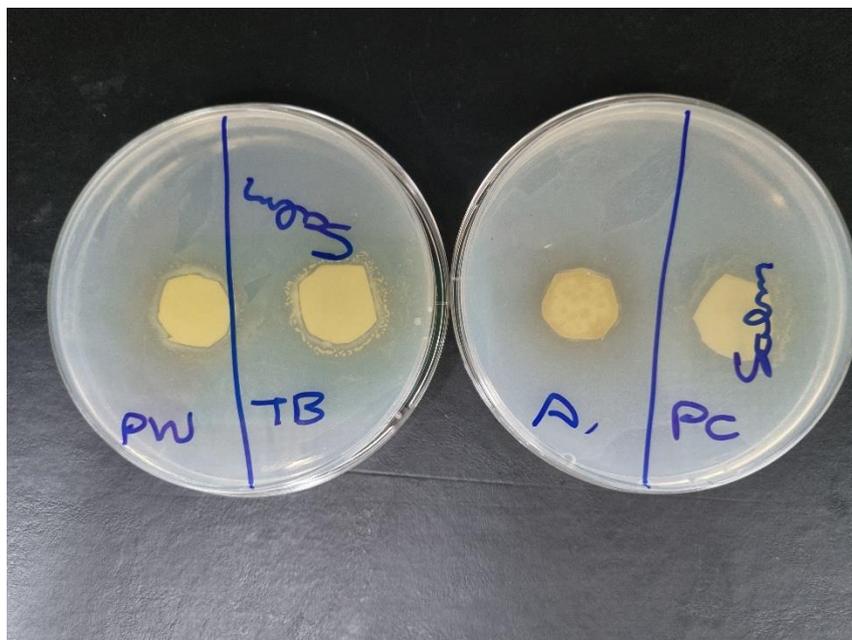
Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *Escherichia coli* ATCC 25922 - PC – Extrato de própolis verde amostra 4 comercial DF; A – Extrato de própolis verde amostra 3 comercial DF; TB – Extrato de própolis verde amostra 1 comercial DF; PW – Extrato de própolis verde amostra 2 comercial DF.

**IMAGEM 19** - Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis de *M. quadrifasciata* (mandaçãia amostra 5, amostra 6 e amostra 7), *S. bipunctata* (tubuna amostra 11), de *T. clavipes* (heborá amostra 10) e de *T. angustula* (jataí amostra 9 comercial e amostra 8 *in natura*)



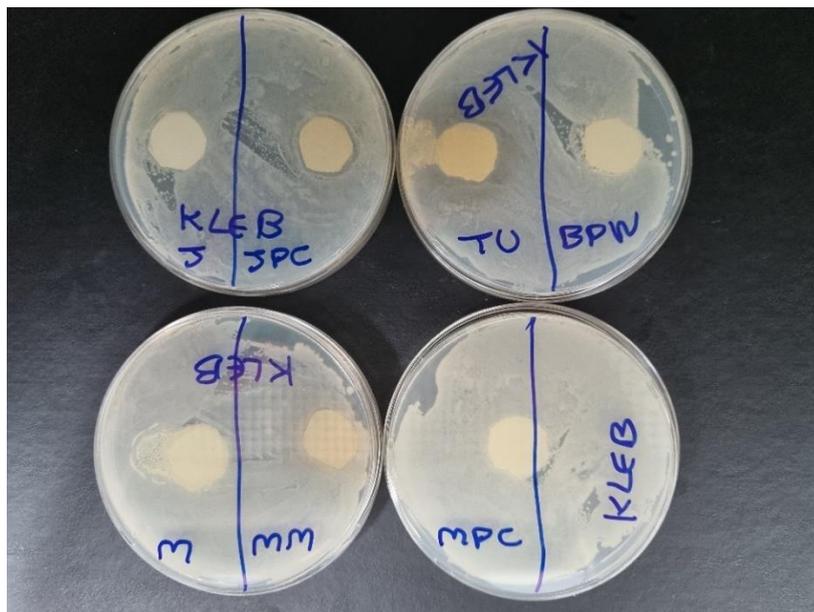
Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *Salmonella enterica* ATCC 14028 - M – Extrato de própolis mandaçãia amostra 5 *in natura* SC; MM – extrato de própolis mandaçãia amostra 6 comercial RS; MPC – extrato de própolis mandaçãia amostra 7 comercial DF; TU – extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial RS; BPW – extrato de própolis heborá amostra 11 comercial DF; JPC – Extrato de própolis jataí amostra 9 comercial DF; J – Extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura* PR.

**IMAGEM 20** - Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis comerciais verdes amostras 2, 1, 3 e 4



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *Salmonella enterica* ATCC 14028 - PW – Extrato de própolis verde amostra 2 comercial DF; TB – Extrato de própolis verde amostra 1 comercial DF; A – Extrato de própolis verde amostra 3 comercial DF; PC – Extrato de própolis verde amostra 4 comercial DF.

**IMAGEM 21** - Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis de *T. angustula* (jataí amostra 8 *in natura* e jataí amostra 9 comercial), de *S. bipunctata* (tubuna amostra 11), de *T. clavipes* (heborá amostra 10) e de *M. quadrifasciata* (mandaçaia amostra 5, amostra 6 e amostra 7)



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1706 - J – Extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura* PR; JPC – Extrato de própolis jataí amostra 9 comercial DF; TU – extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial RS; BPW – extrato de própolis heborá amostra 10 comercial DF; M – Extrato de própolis mandaçaia amostra 5 *in natura* SC; MM – extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial RS; MPC – extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial DF.

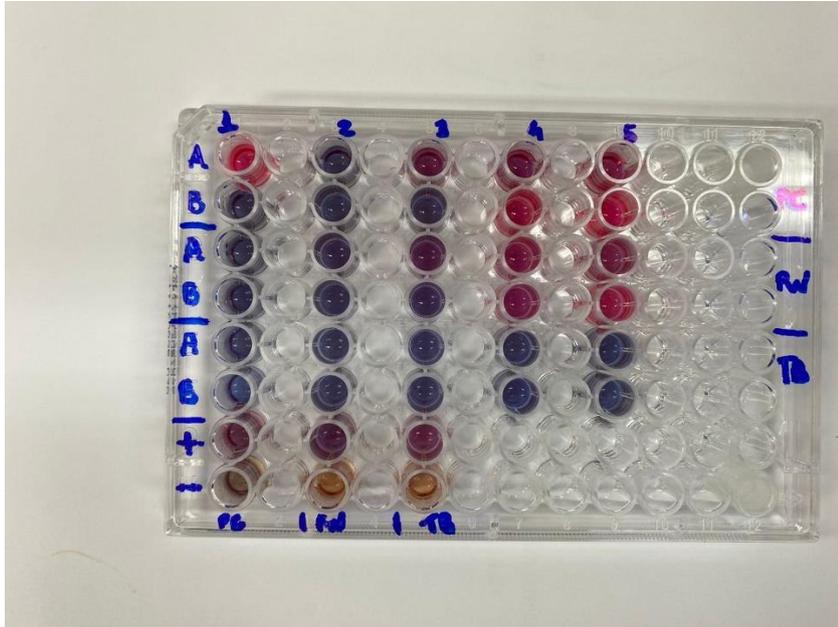
**IMAGEM 22** - Ensaio por disco-difusão dos extratos de própolis comerciais verdes amostras 3, 4, 1 e 2



Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda: *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1706 - A – Extrato de própolis verde amostra 3 comercial DF; PC – Extrato de própolis verde amostra 4 comercial DF; TB – Extrato de própolis verde amostra 1 comercial DF; PW – Extrato de própolis verde amostra 2 comercial DF.

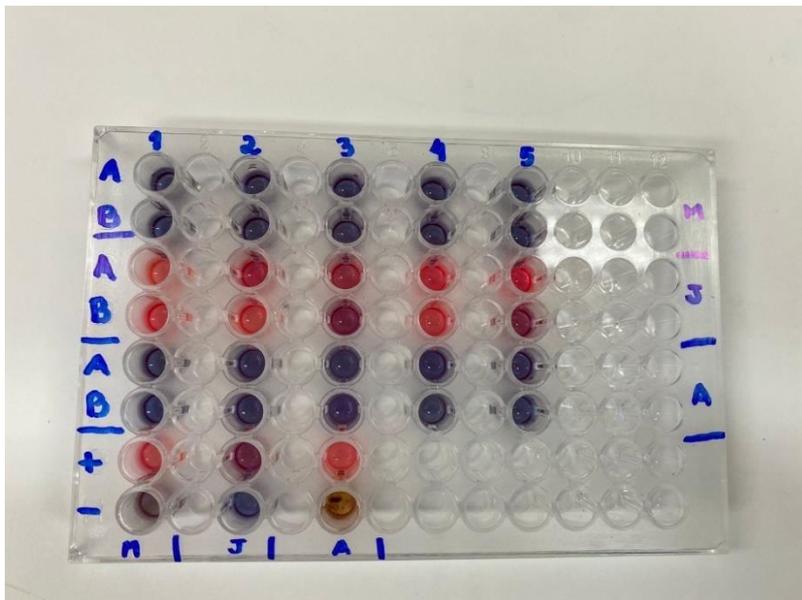
**APÊNDICE 2.3** – Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos de própolis para as bactérias Gram-positivas

**IMAGEM 23** – CIM dos extratos de própolis amostra 4, amostra 2 e amostra 1 para *Bacillus cereus*



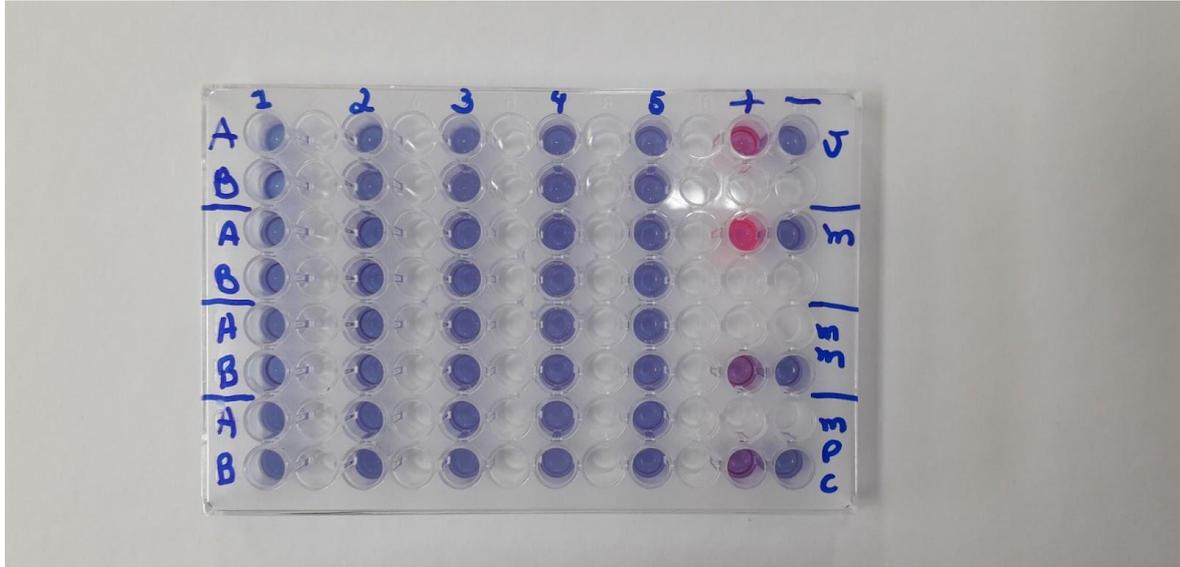
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 24** – CIM dos extratos de própolis amostra 5, amostra 8 e amostra 3 para *Bacillus cereus*



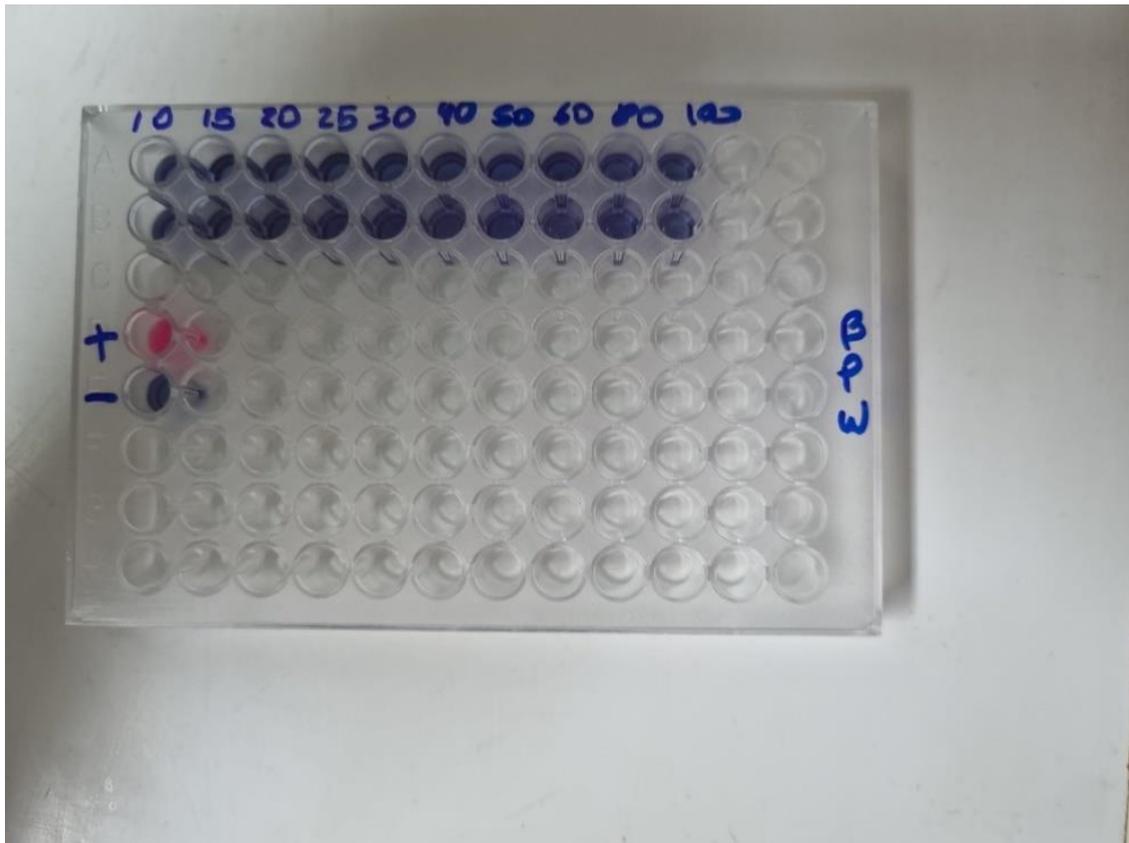
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 25** - CIM dos extratos de própolis amostra 6 e amostra 7 para *Bacillus cereus*



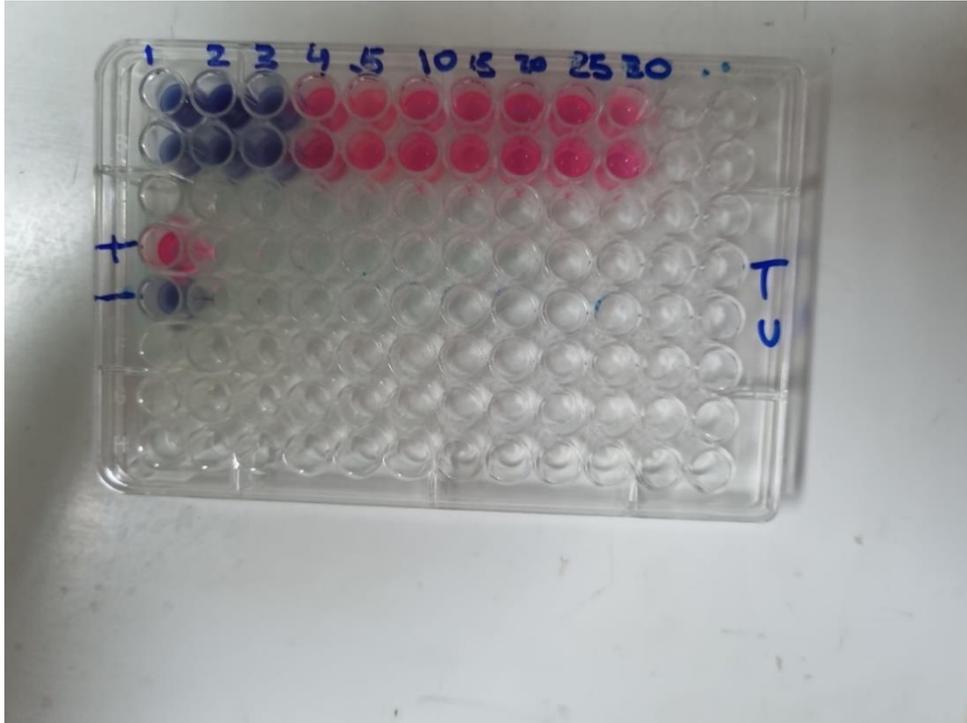
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 26** - CIM do extrato de própolis amostra 10 para *Bacillus cereus*



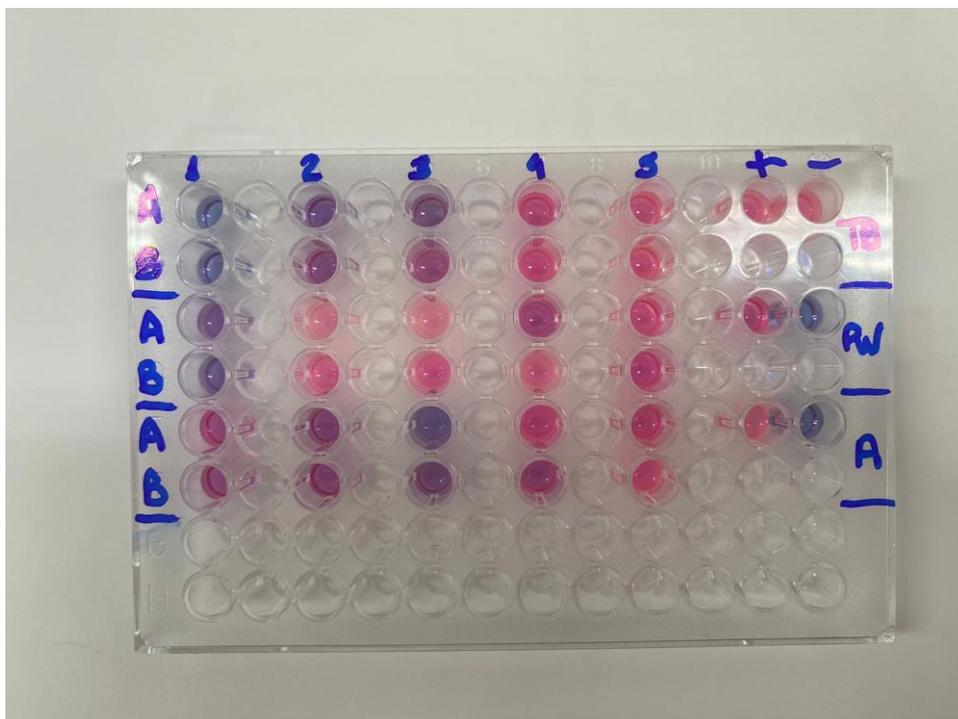
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 27** - CIM do extrato de própolis amostra 11 para *Bacillus cereus*



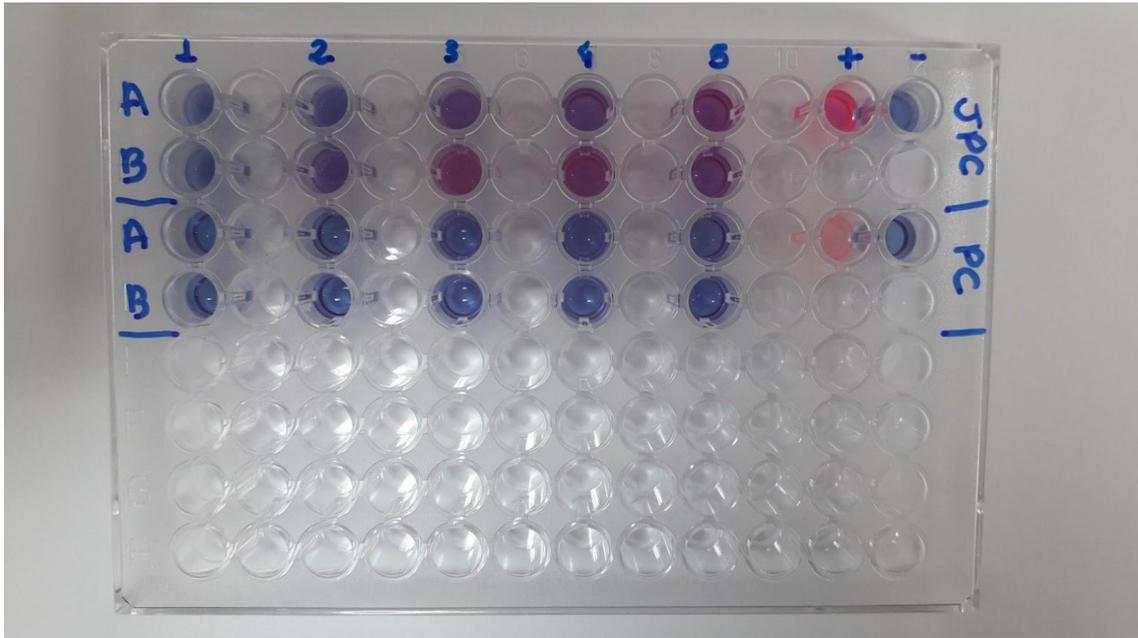
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 28** - CIM dos extratos de própolis amostra 1, amostra 2 e amostra 3 para *Staphylococcus aureus*



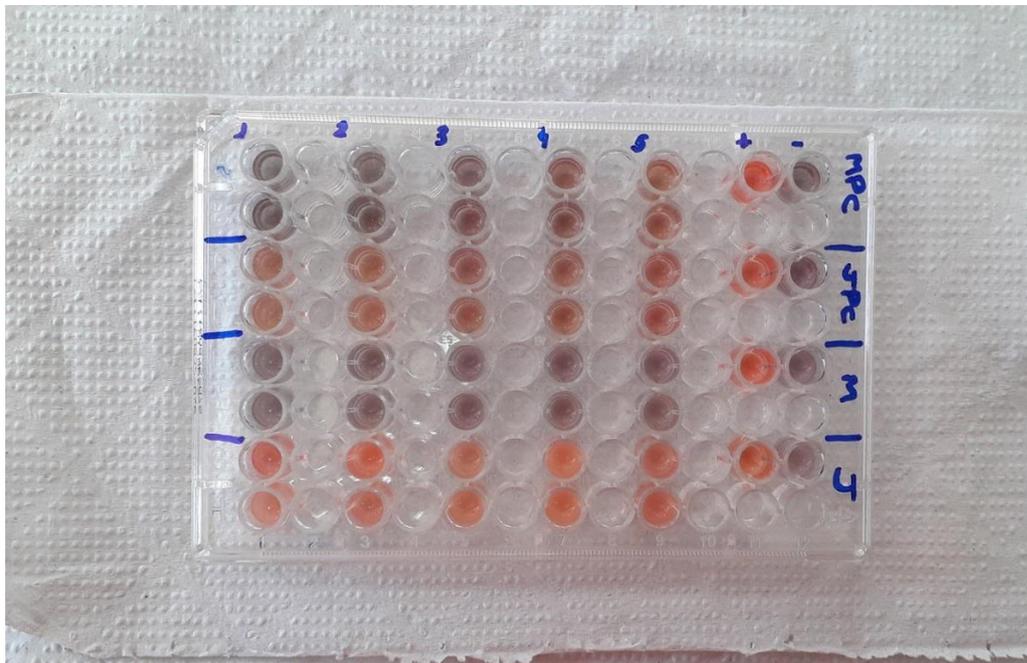
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 29** - CIM dos extratos de própolis amostra 9 e amostra 4 para *Staphylococcus aureus*



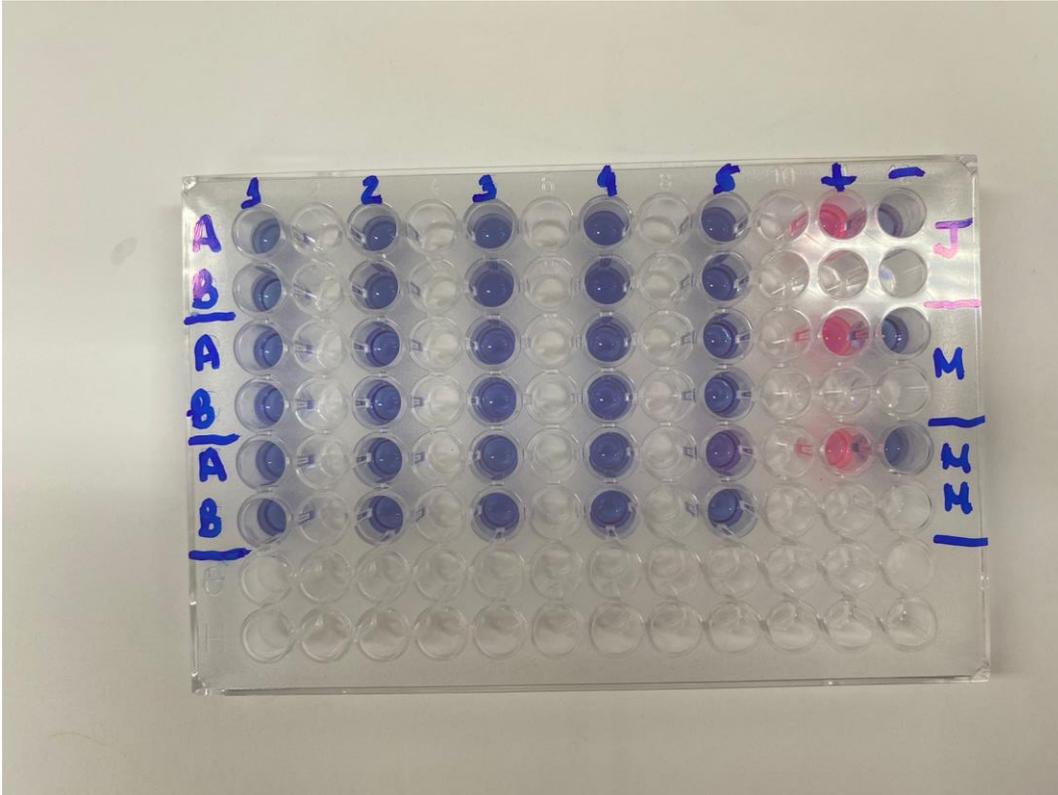
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 30** - CIM dos extratos de própolis amostra 7, amostra 9, amostra 5 e amostra 8 para *Staphylococcus aureus*



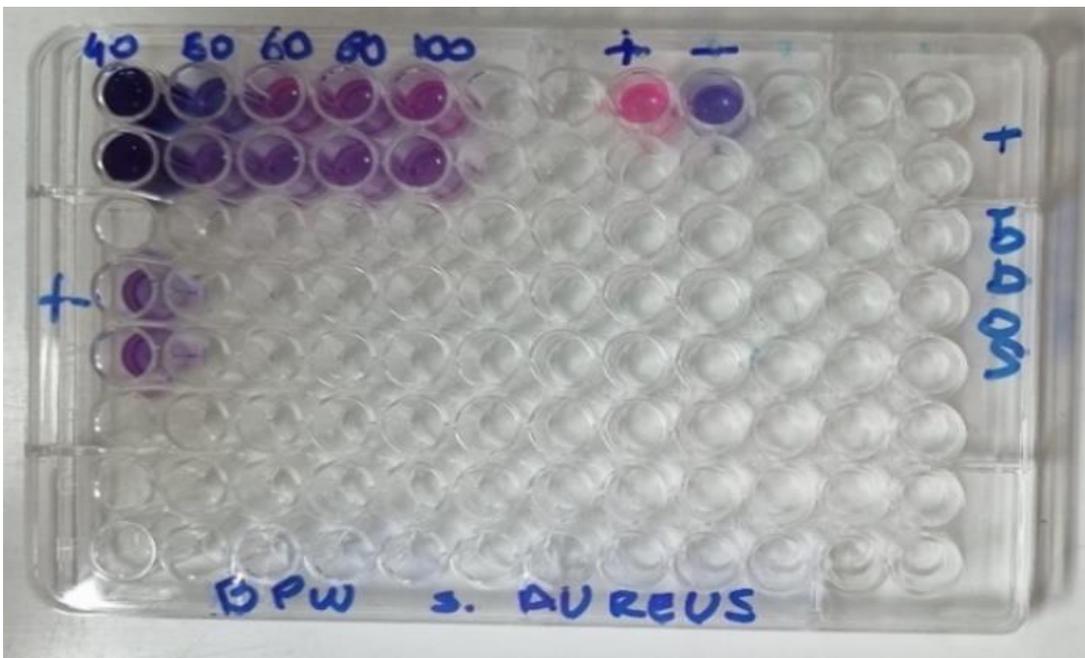
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 31** - CIM do extrato de própolis amostra 6 para *Staphylococcus aureus*



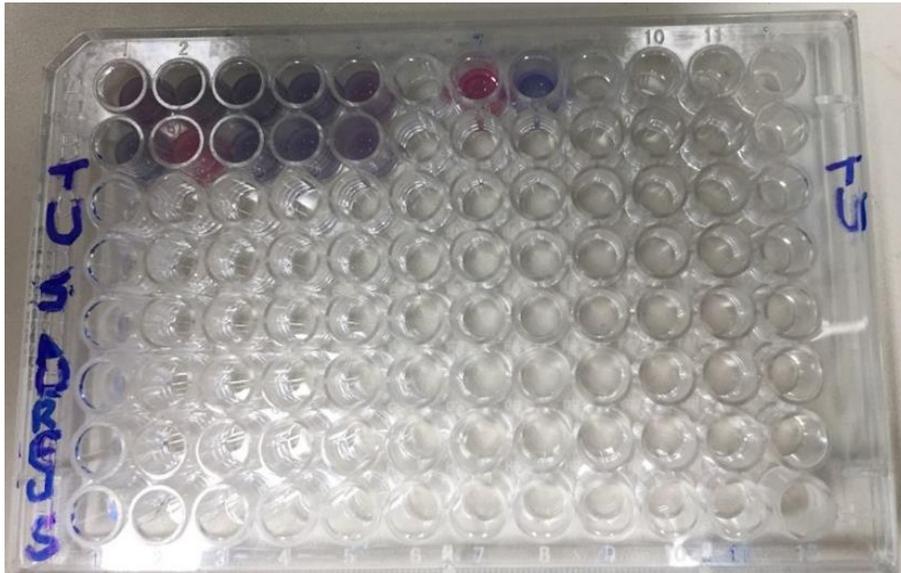
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 32** - CIM do extrato de própolis amostra 10 para *Staphylococcus aureus*



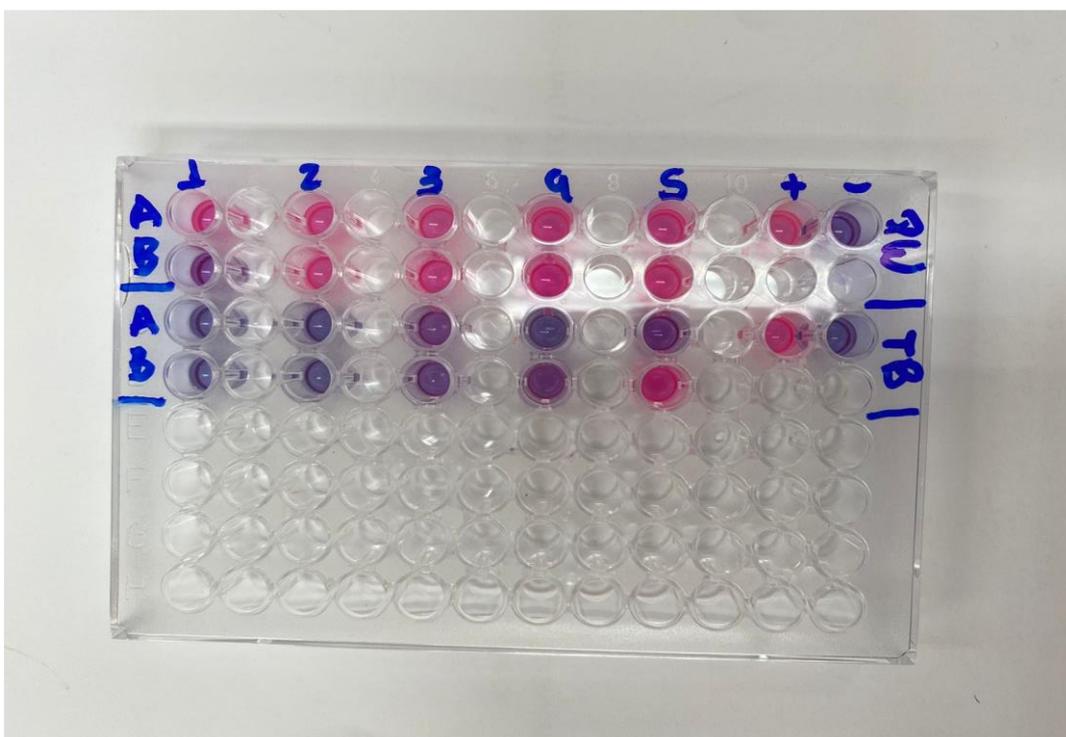
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 33** – CIM do extrato de própolis amostra 11 para *Staphylococcus aureus*



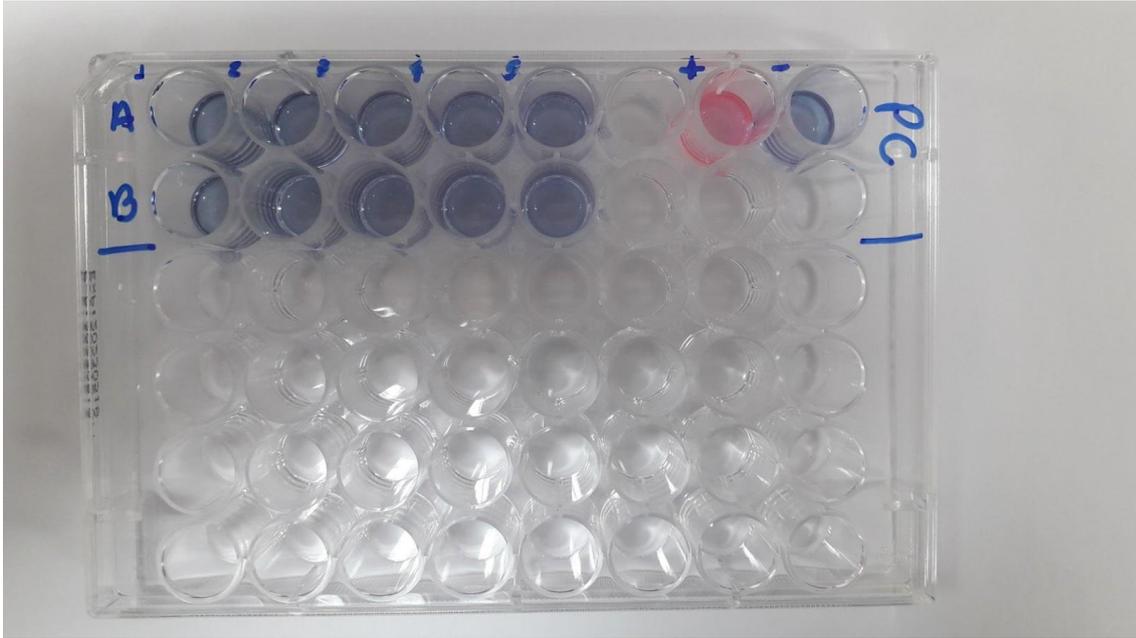
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 34** – CIM dos extratos de própolis amostra 2 e amostra 1 para *Streptococcus mutans*



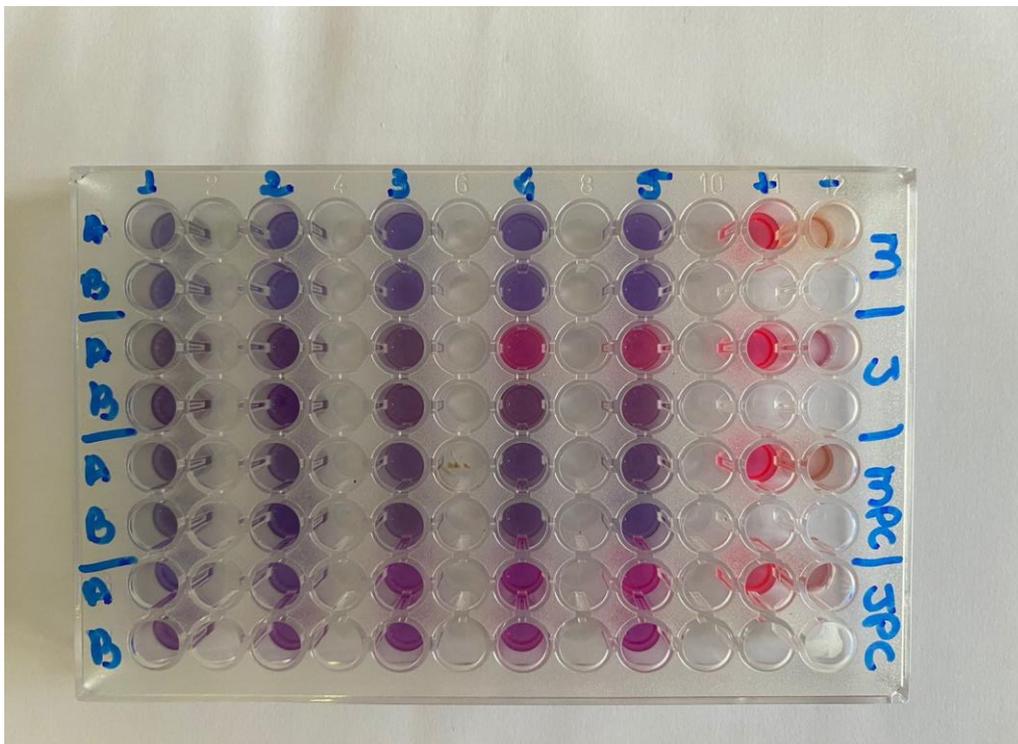
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 35** – CIM do extrato de própolis amostra 4 para *Streptococcus mutans*



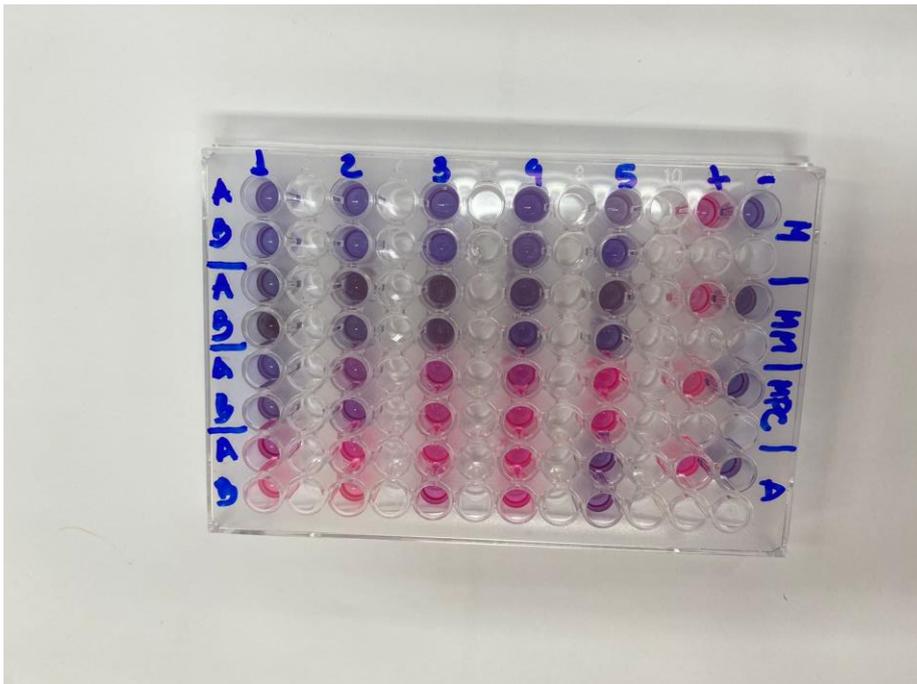
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 36** – CIM dos extratos de própolis amostra 5, amostra 8, amostra 7 e amostra 9 para *Streptococcus mutans*



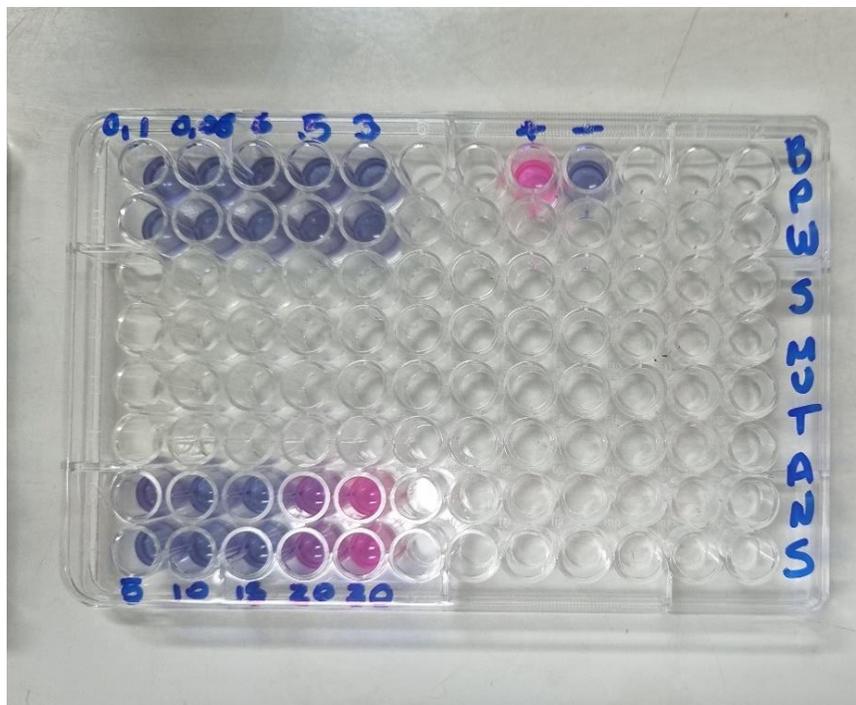
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 37** – CIM dos extratos de própolis amostra 5, amostra 6, amostra 7 e amostra 3 para *Streptococcus mutans*



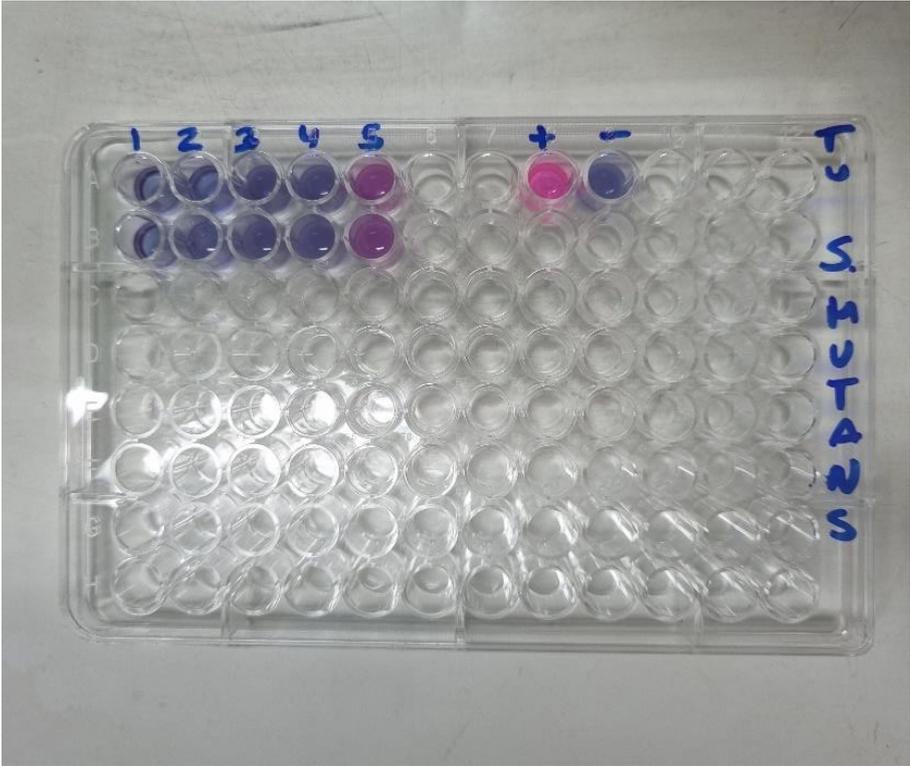
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 38** – CIM do extrato de própolis amostra 10 para *Streptococcus mutans*



Fonte: (Autoria própria, 2024).

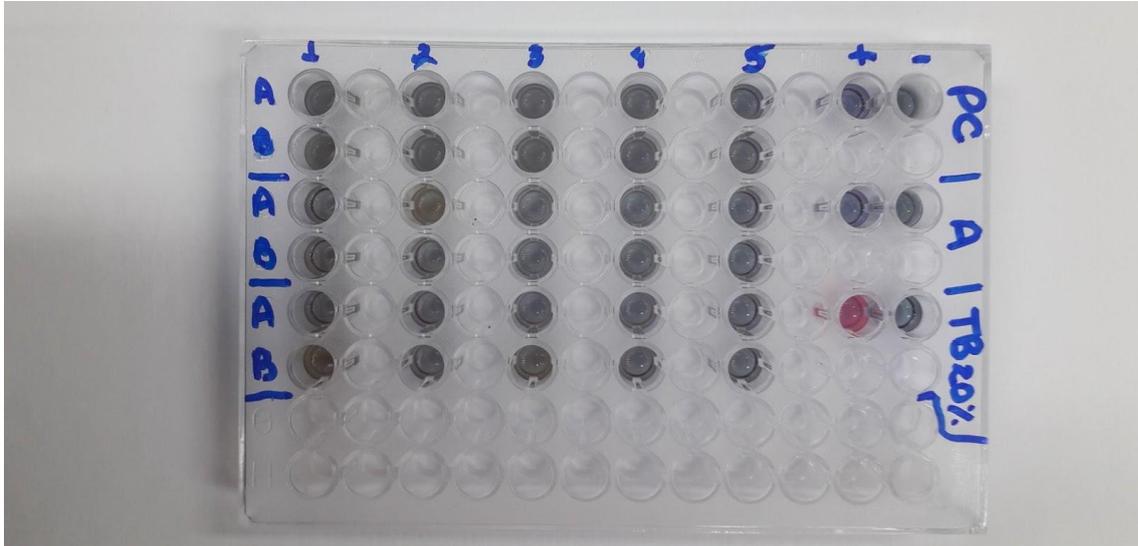
**IMAGEM 39** – CIM do extrato de própolis amostra 11 para *Streptococcus mutans*



Fonte: (Autoria própria, 2024).

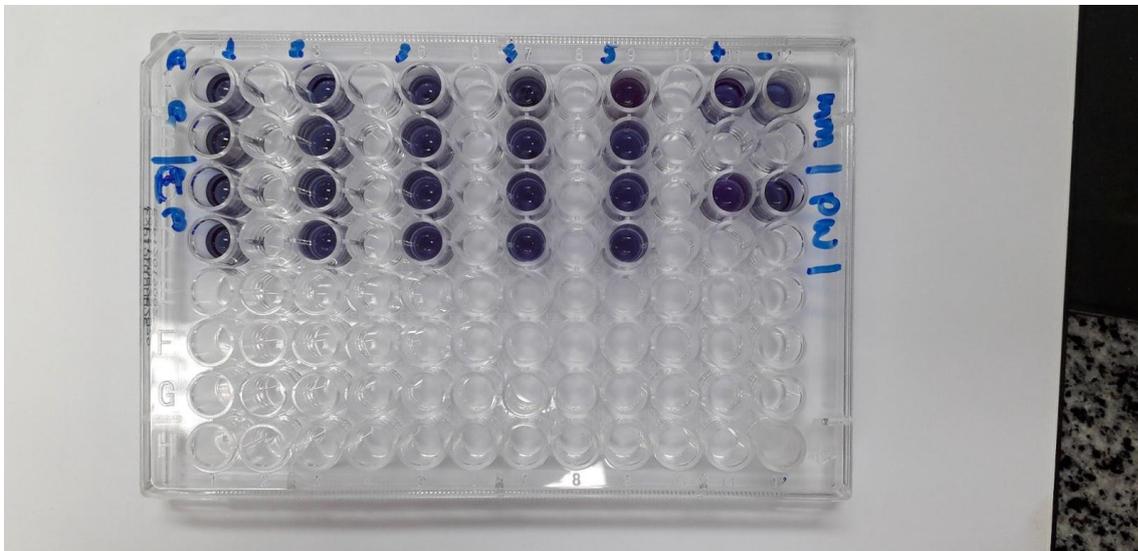
**APÊNDICE 2.4** – Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos de própolis para as bactérias Gram-negativas

**IMAGEM 40** – CIM dos extratos de própolis amostra 4, amostra 3 e amostra 1 para *Pseudomonas aeruginosa*



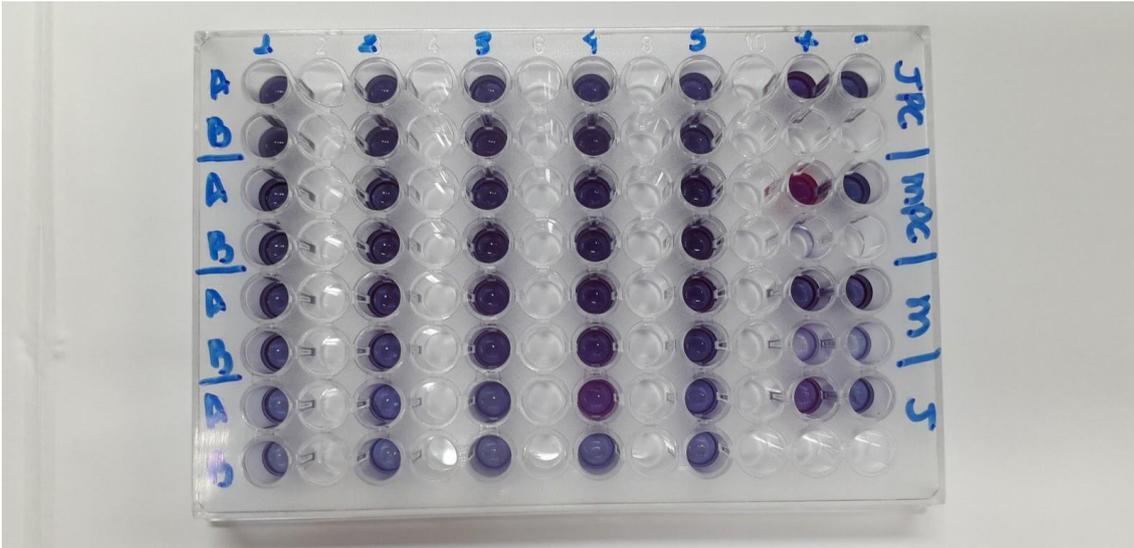
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 41** – CIM dos extratos de própolis amostra 6 e amostra 2 para *Pseudomonas aeruginosa*



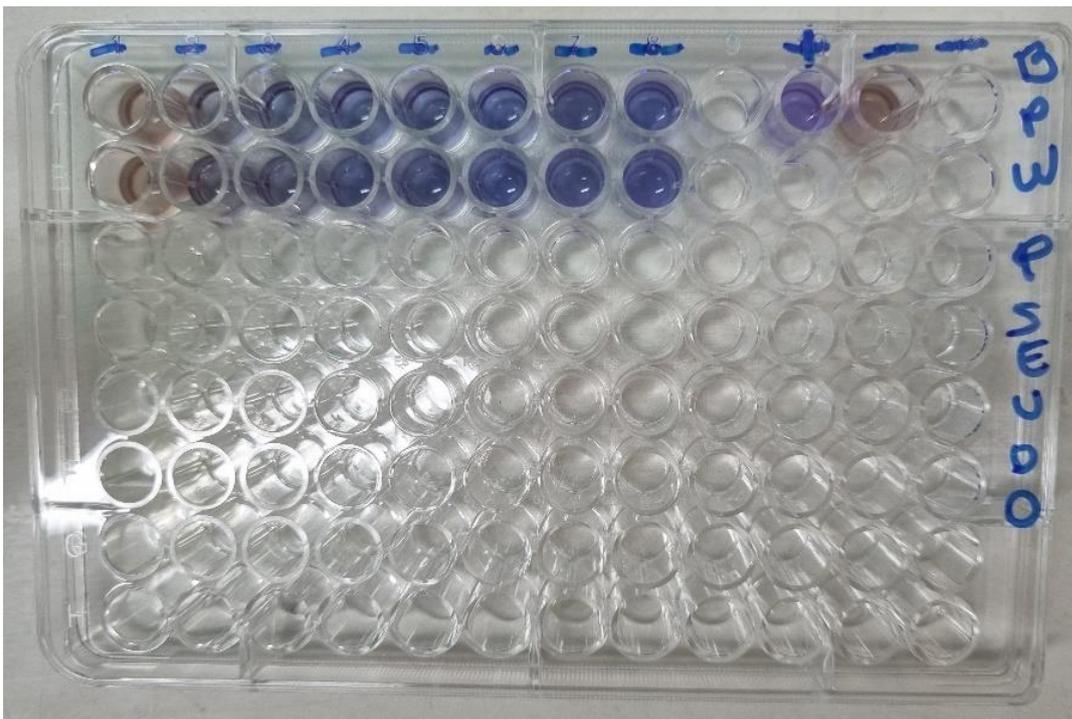
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 42** – CIM dos extratos de própolis amostra 9, amostra 7, amostra 5 e amostra 8 para *Pseudomonas aeruginosa*



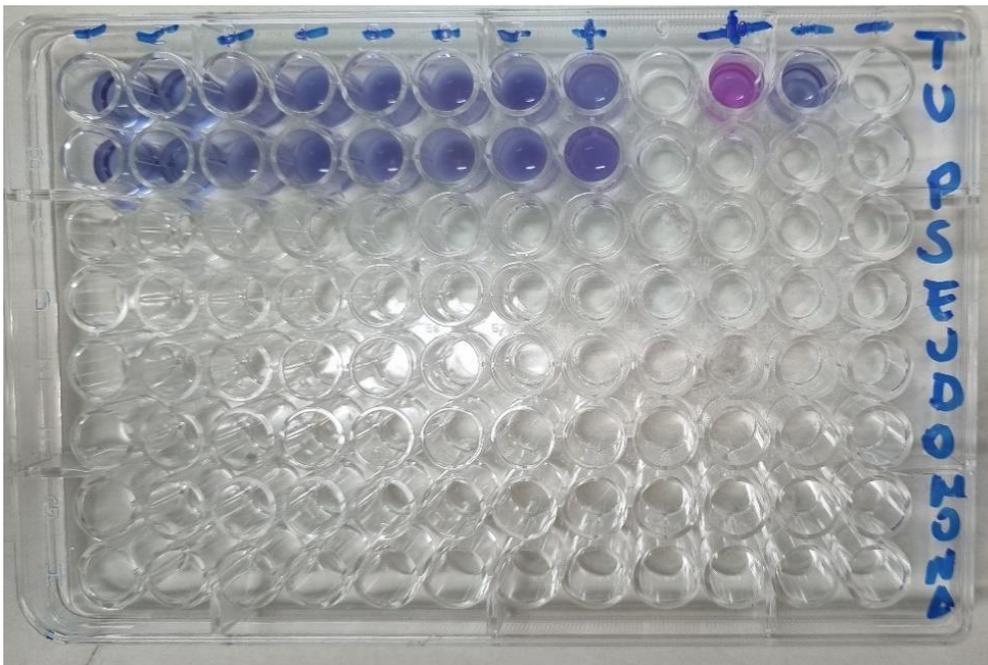
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 43** – CIM do extrato de própolis amostra 10 para *Pseudomonas aeruginosa*



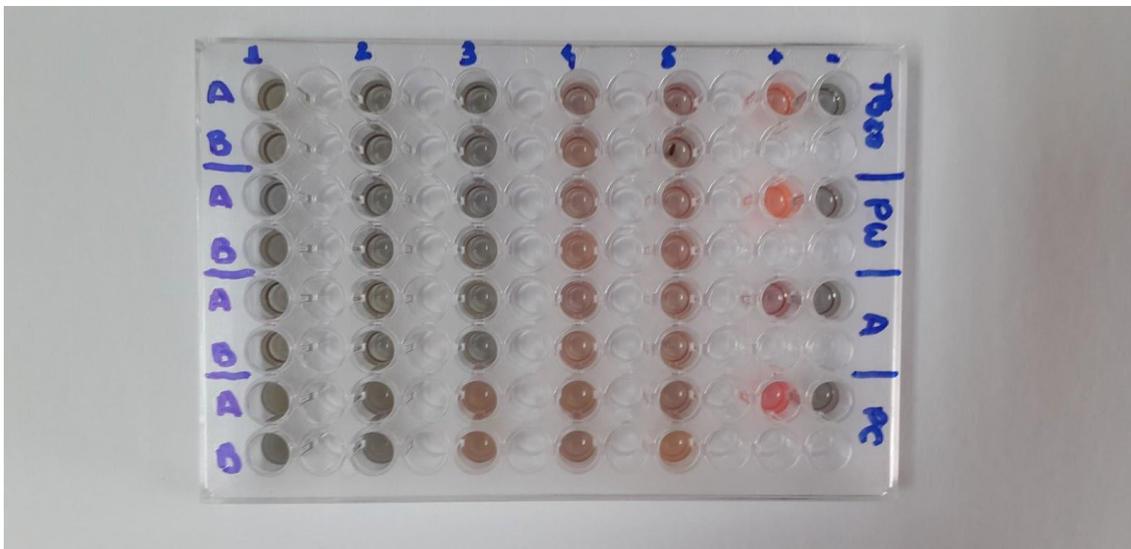
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 44** – CIM do extrato de própolis amostra 11 para *Pseudomonas aeruginosa*



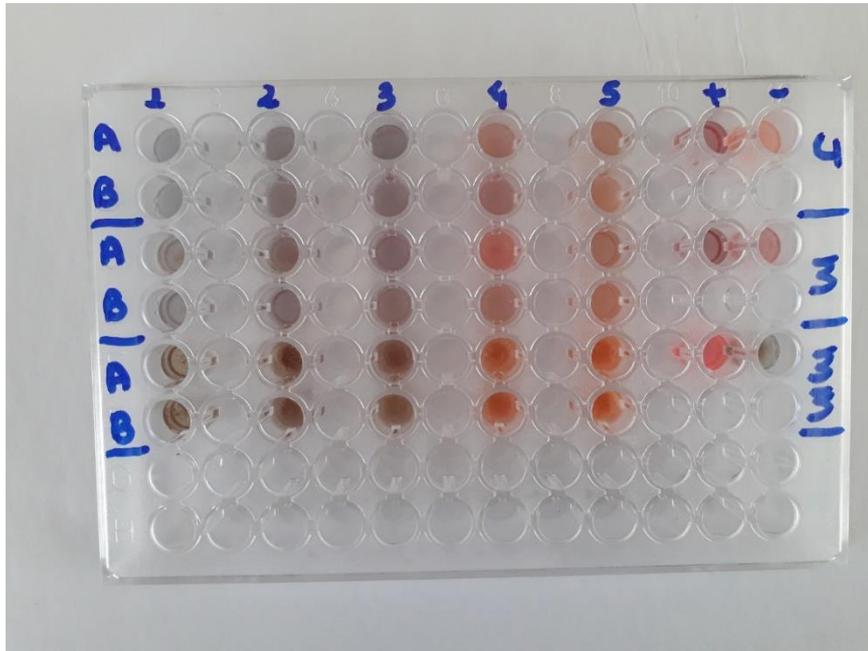
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 45** – CIM dos extratos de própolis amostras 1, 2, 3 e 4 para *Klebsiella pneumoniae*



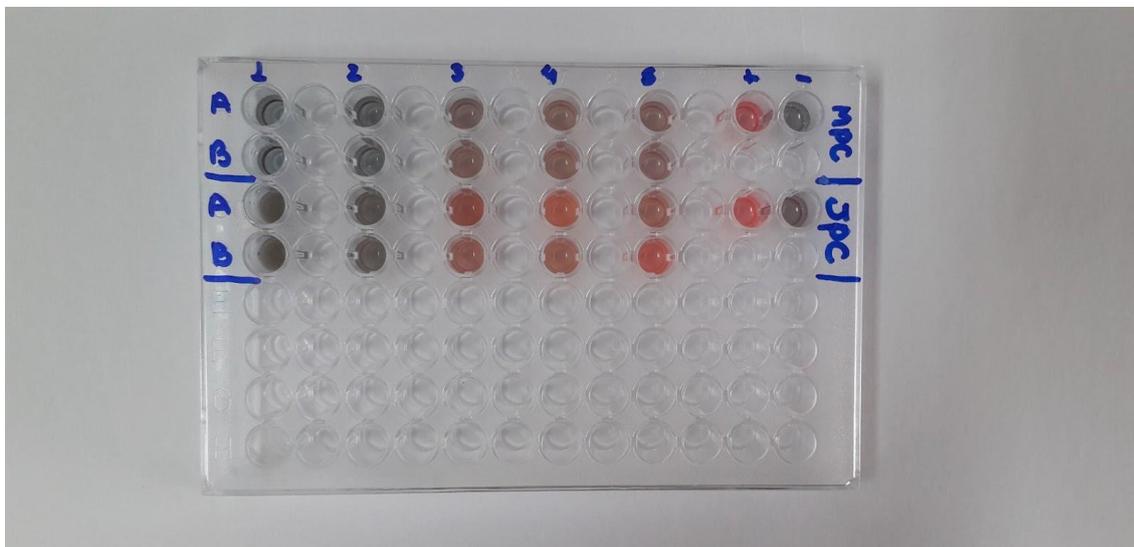
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 46** – CIM dos extratos de própolis amostra 8, amostra 5 e amostra 6 para *Klebsiella pneumoniae*



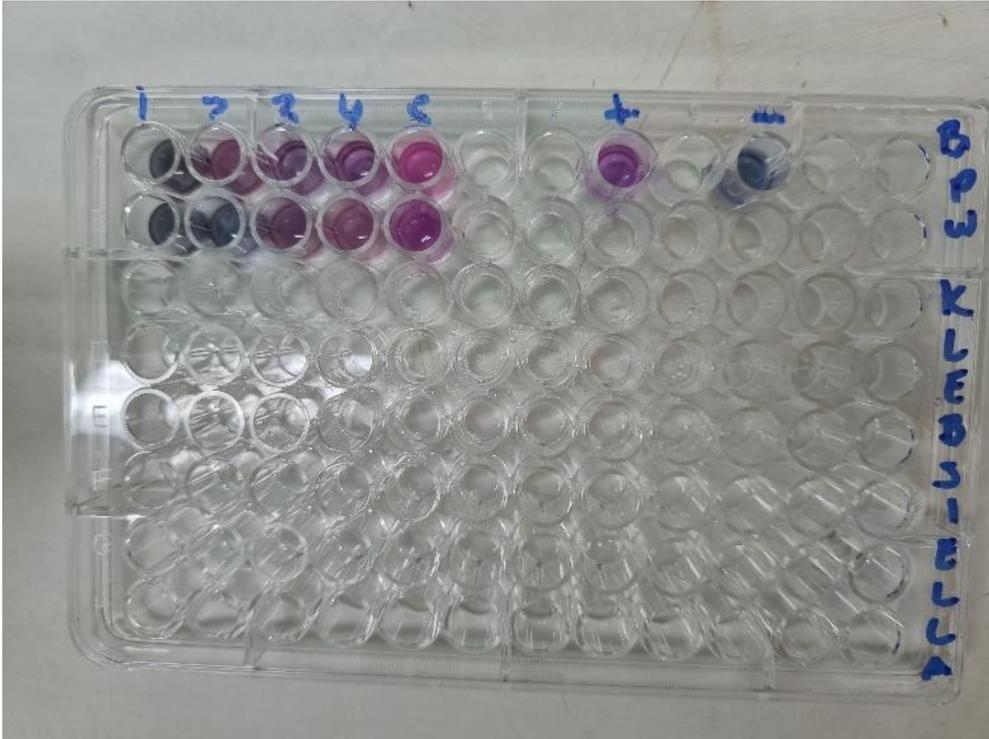
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 47** – CIM dos extratos de própolis amostra 7 e amostra 9 para *Klebsiella pneumoniae*



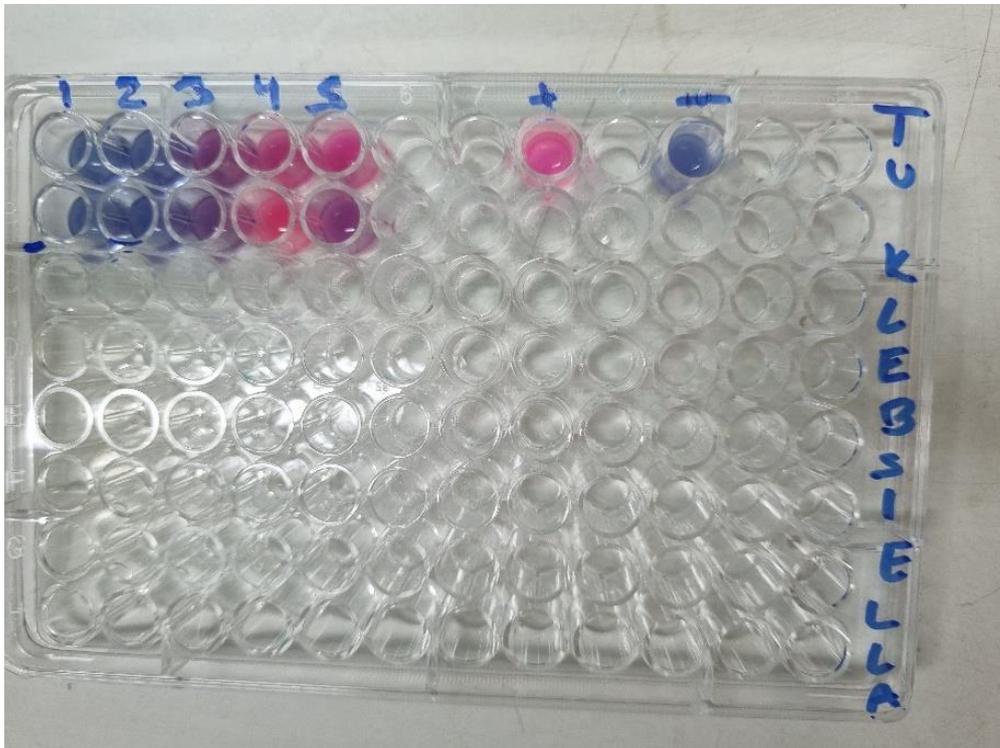
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 48** – CIM do extrato de própolis amostra 10 para *Klebsiella pneumoniae*



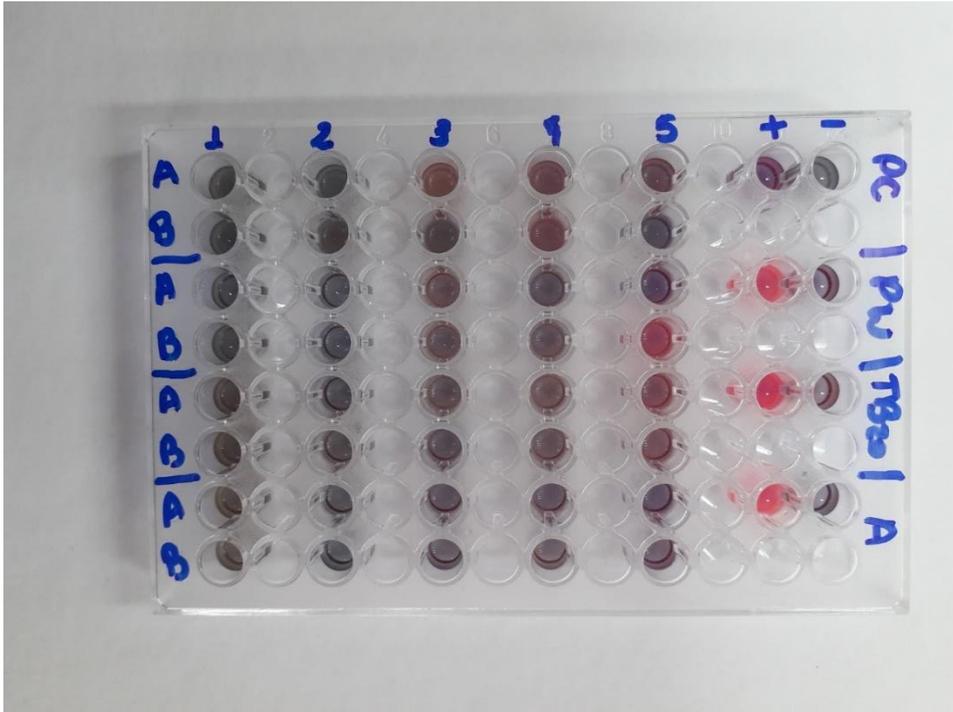
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 49** – CIM do extrato de própolis amostra 11 para *Klebsiella pneumoniae*



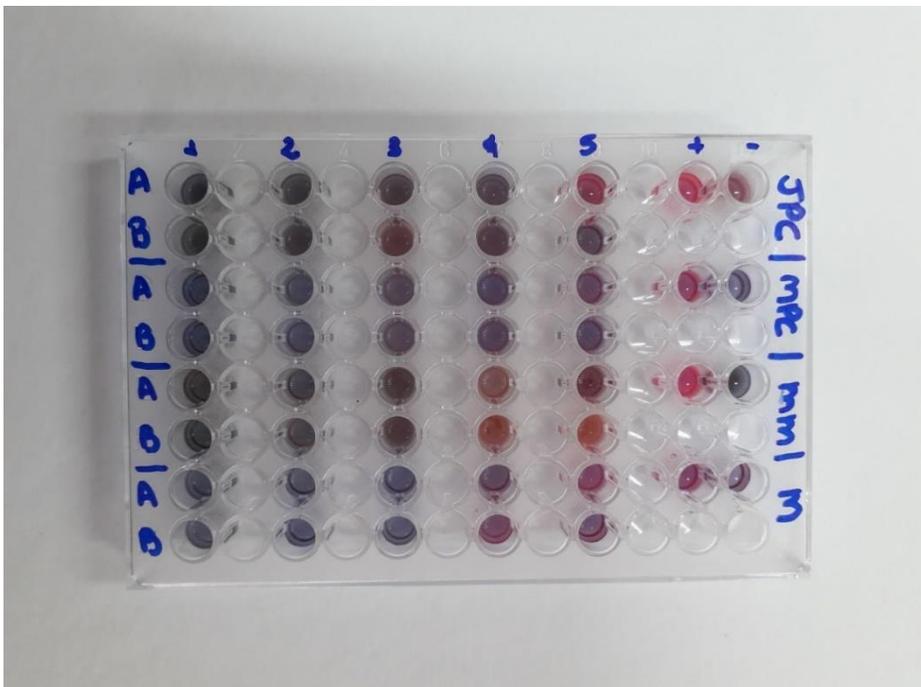
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 50** – CIM dos extratos de própolis amostra 4, amostra 2, amostra 1 e amostra 3 para *Salmonella entérica*



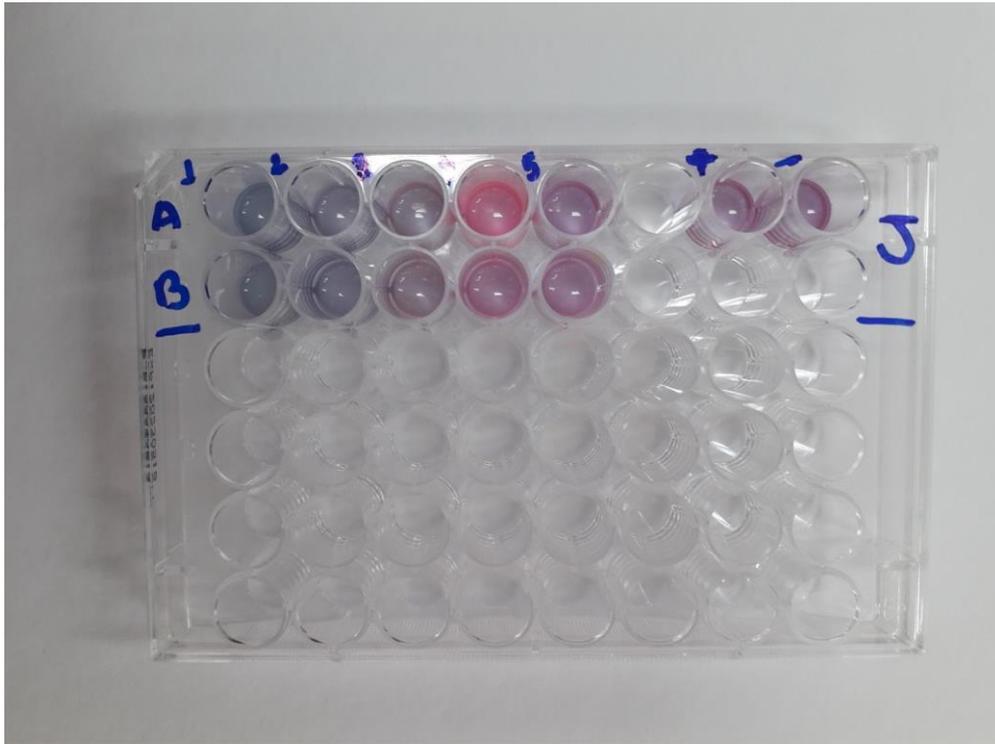
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 51** – CIM dos extratos de própolis amostra 9, amostra 7, amostra 6 e amostra 5 para *Salmonella entérica*



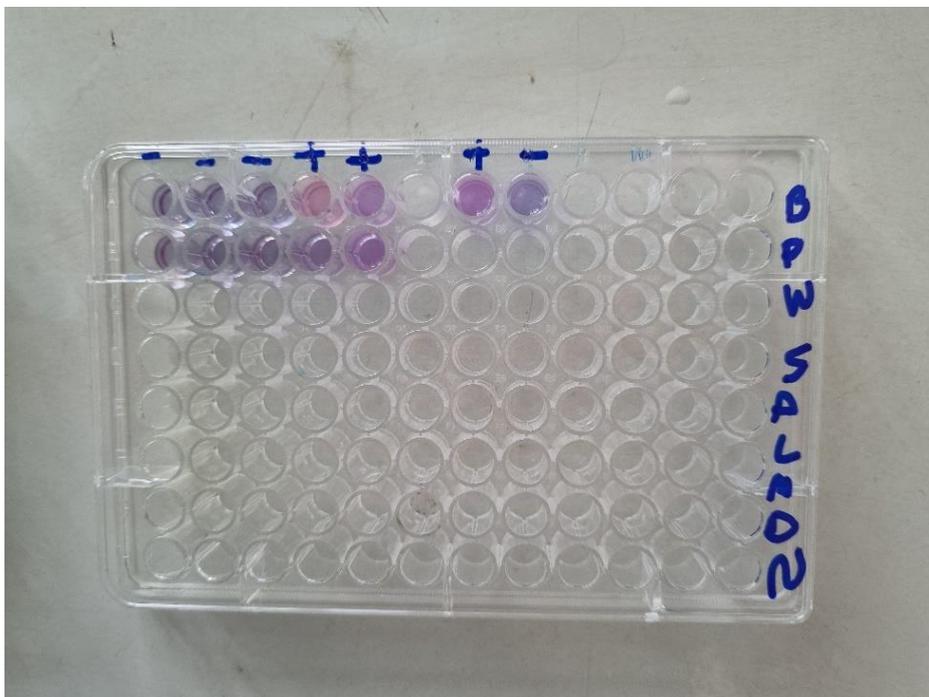
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 52** – CIM do extrato de própolis amostra 8 para *Salmonella enterica*



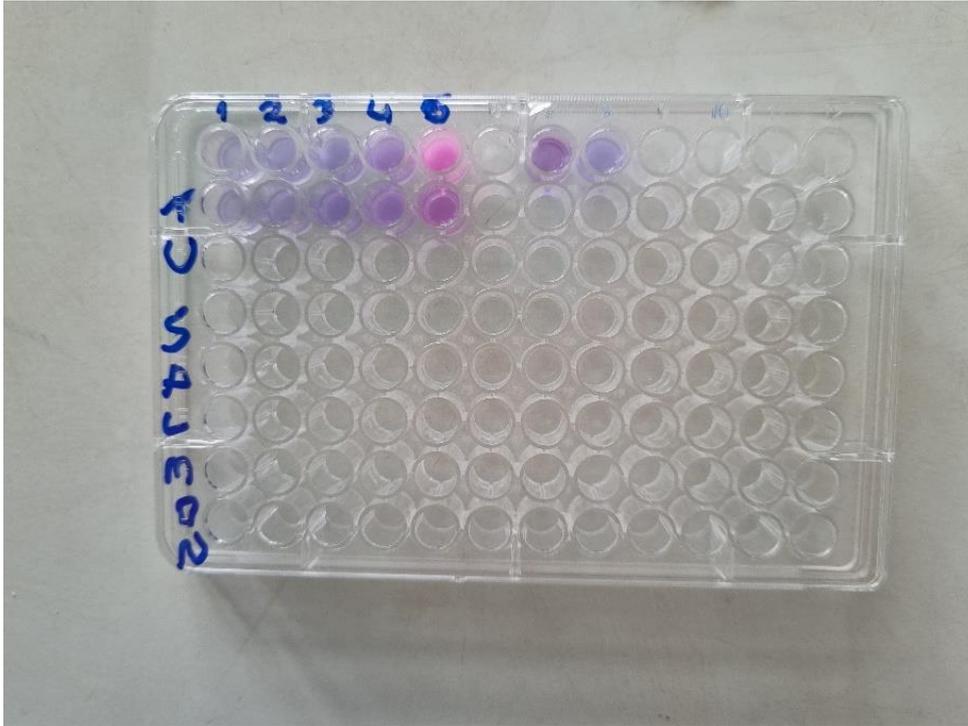
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 53** – CIM do extrato de própolis amostra 10 para *Salmonella enterica*



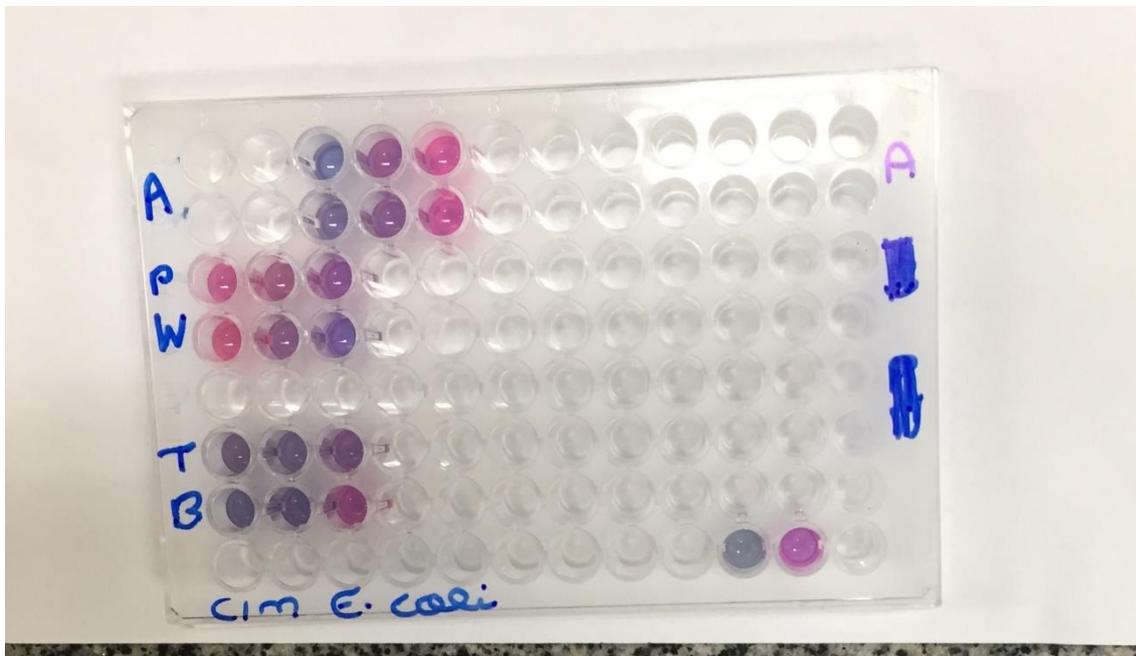
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 54** – CIM do extrato de própolis amostra 11 para *Salmonella enterica*



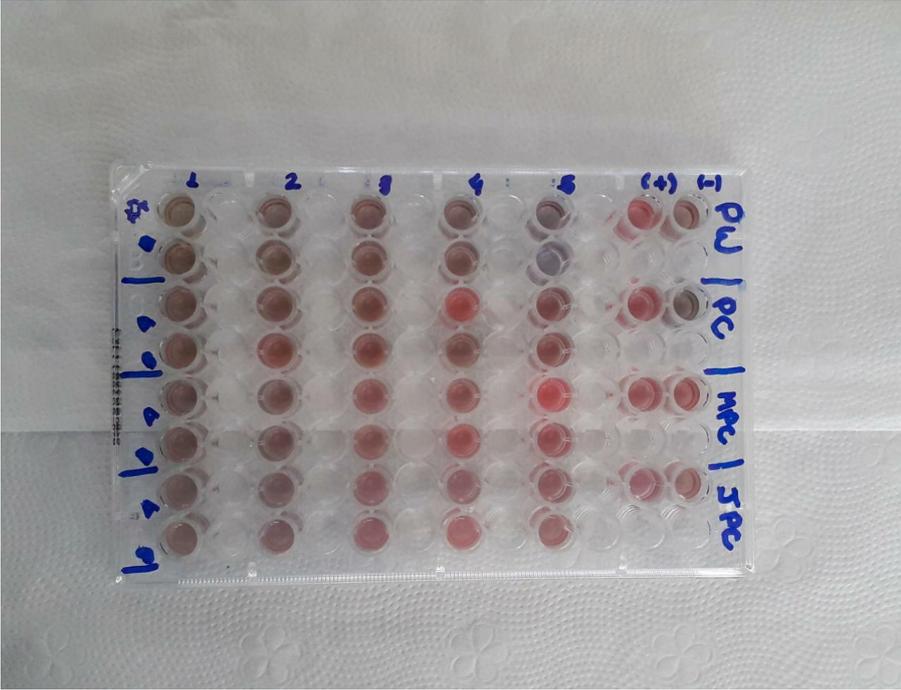
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 55** – CIM do extrato de própolis amostra 3, amostra 2 e amostra 1 para *Escherichia coli*



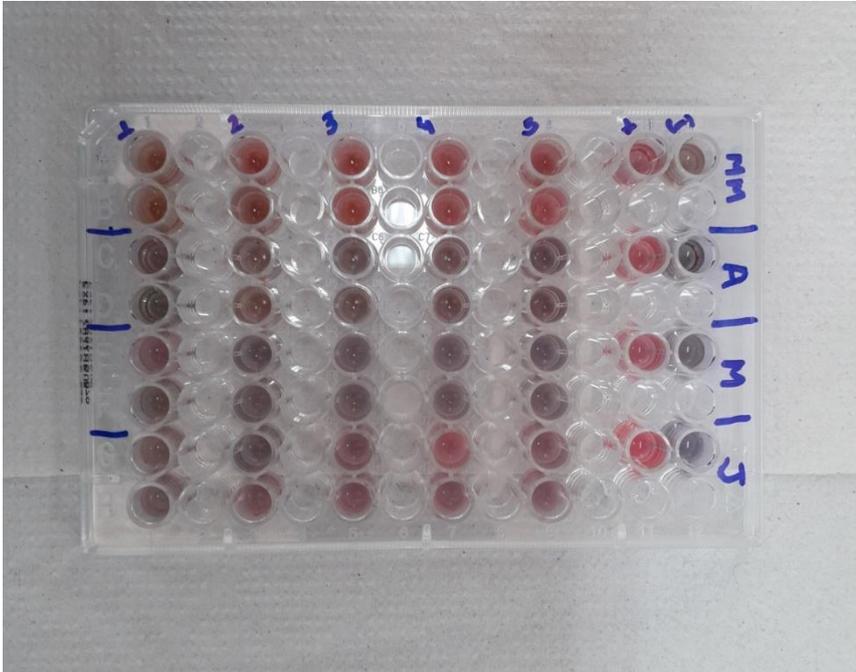
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 56** – CIM dos extratos de própolis amostra 2, amostra 4, amostra 7 e amostra 9 para *Escherichia coli*



Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 57** – CIM dos extratos de própolis amostra 6, amostra 3, amostra 5 e amostra 8 para *Escherichia coli*



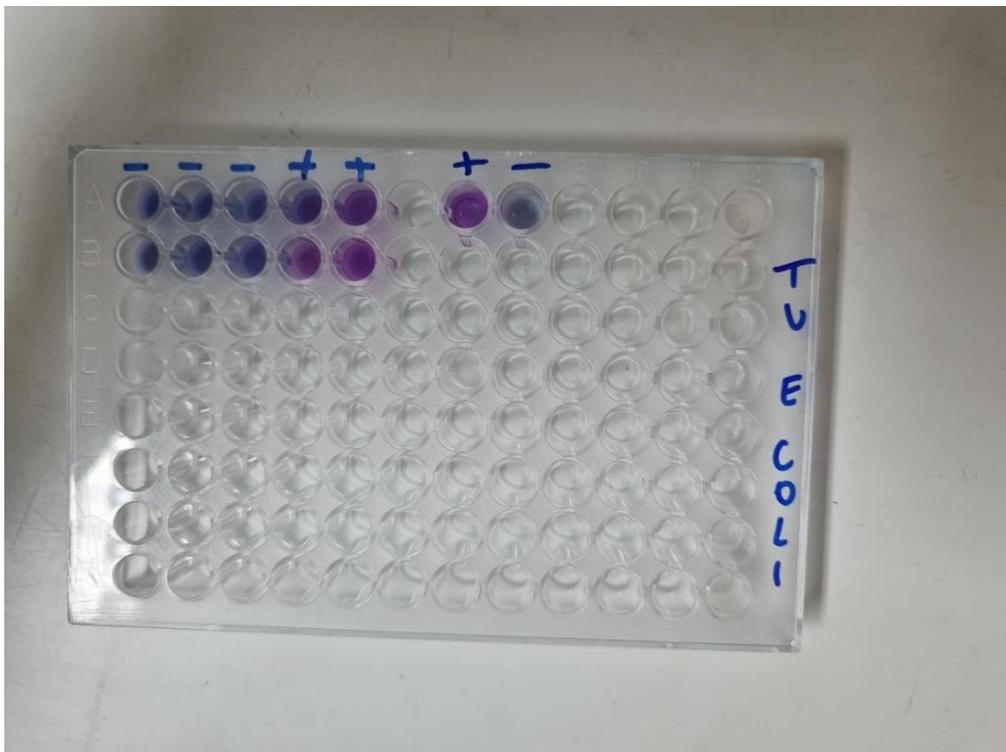
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 58** – CIM do extrato de própolis amostra 10 para *Escherichia coli*



Fonte: (Autoria própria, 2024).

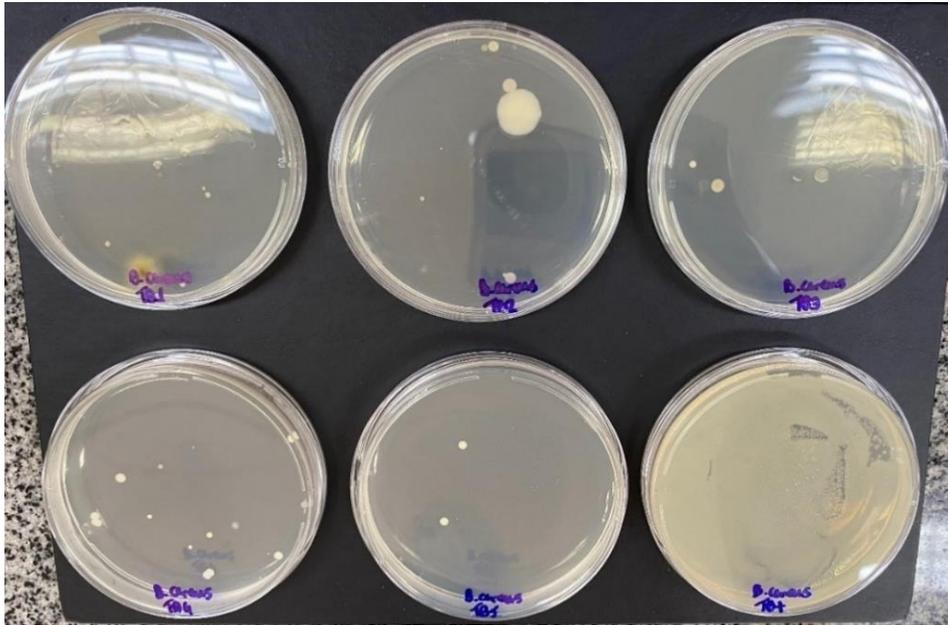
**IMAGEM 59** – CIM do extrato de própolis amostra 11 para *Escherichia coli*



Fonte: (Autoria própria, 2024).

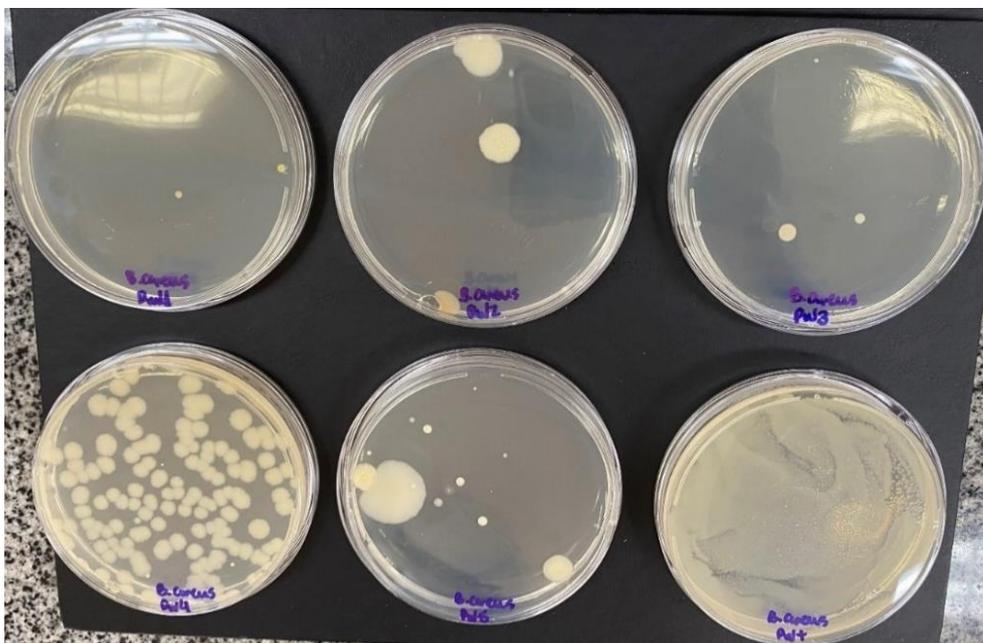
**APÊNDICE 2.5** – Concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos de própolis para as bactérias Gram-positivas

**IMAGEM 60** - CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para *Bacillus cereus*



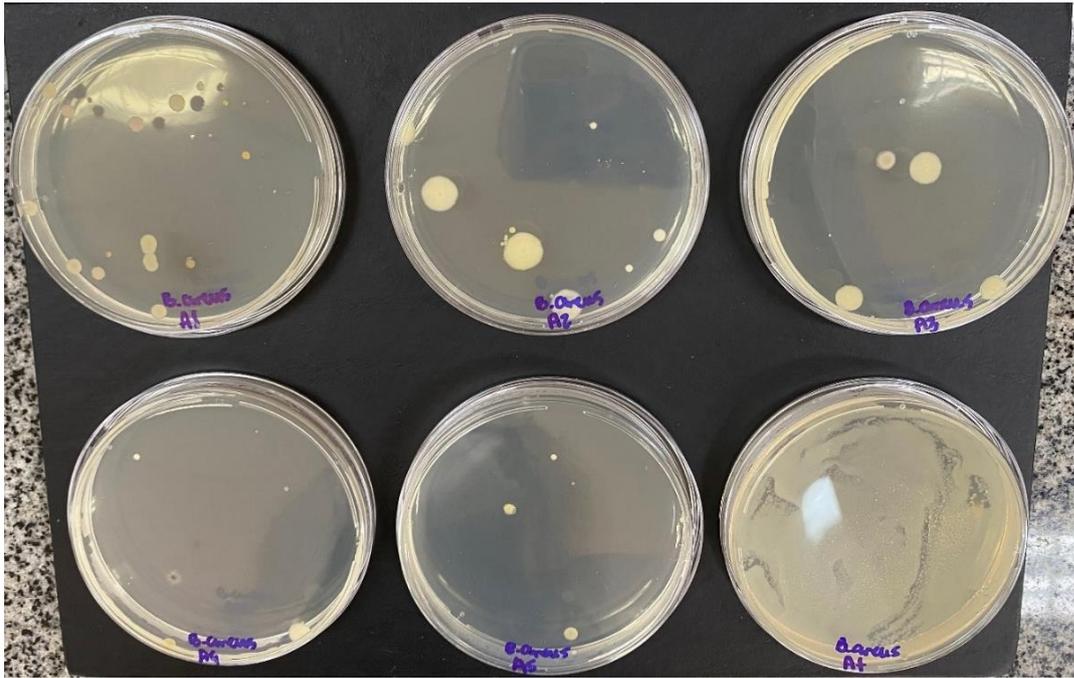
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 61** – CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para *Bacillus cereus*



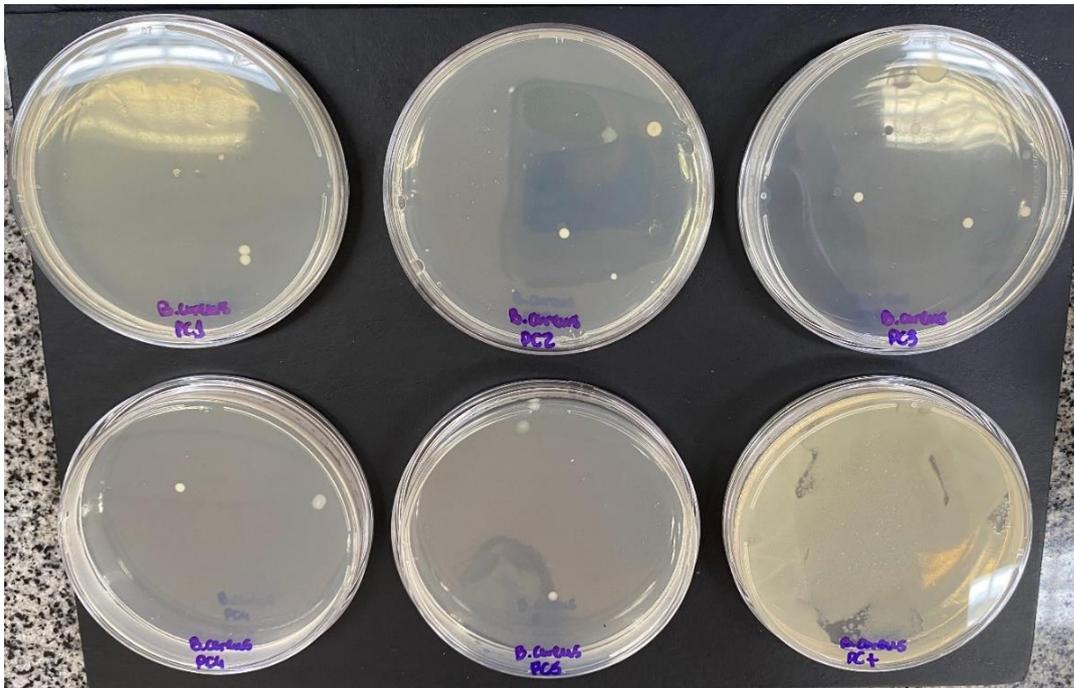
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 62** - CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para *Bacillus cereus*



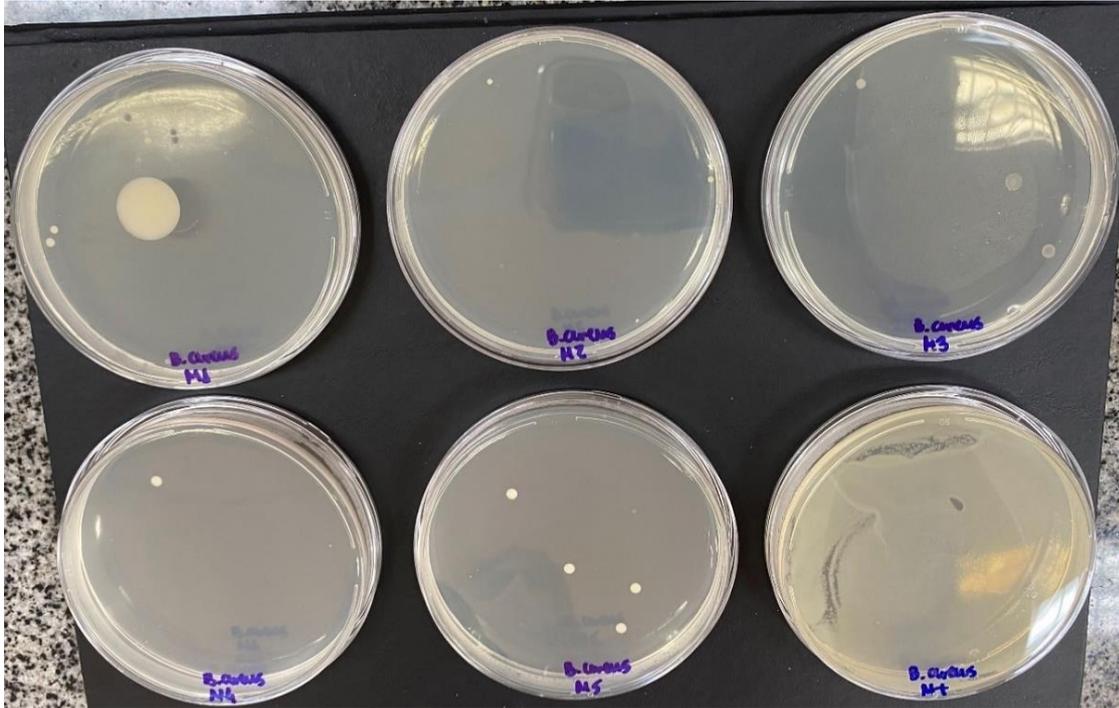
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 63** - CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para *Bacillus cereus*



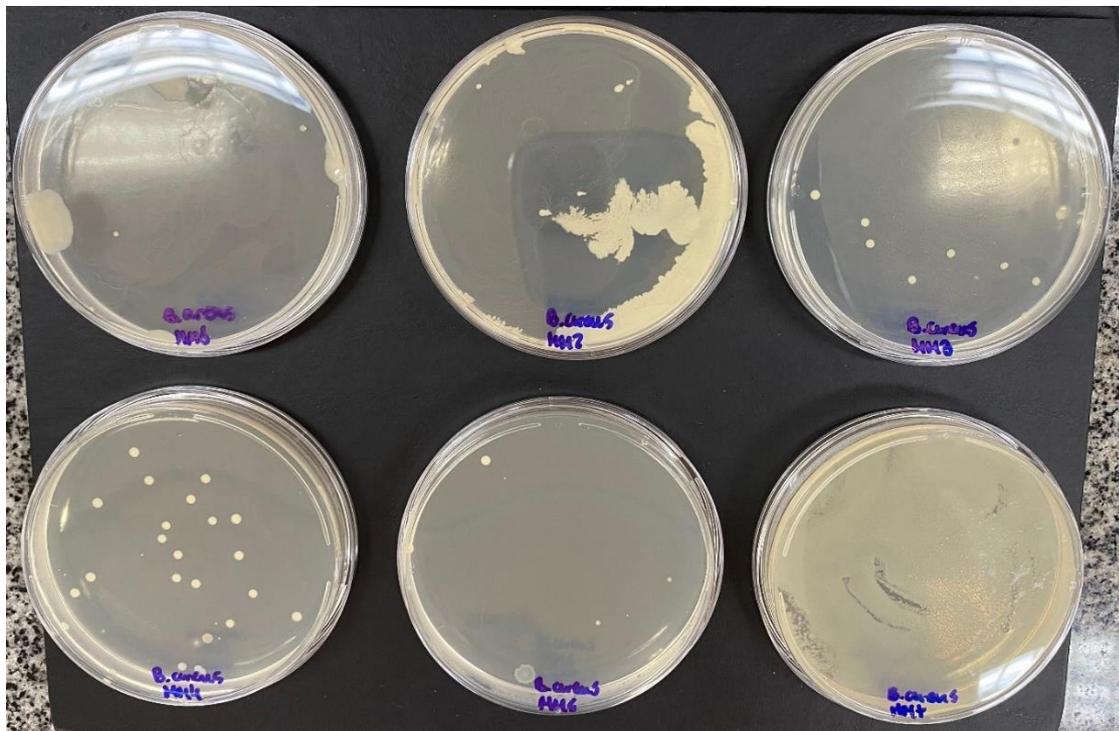
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 64** - CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 *in natura* para *Bacillus cereus*



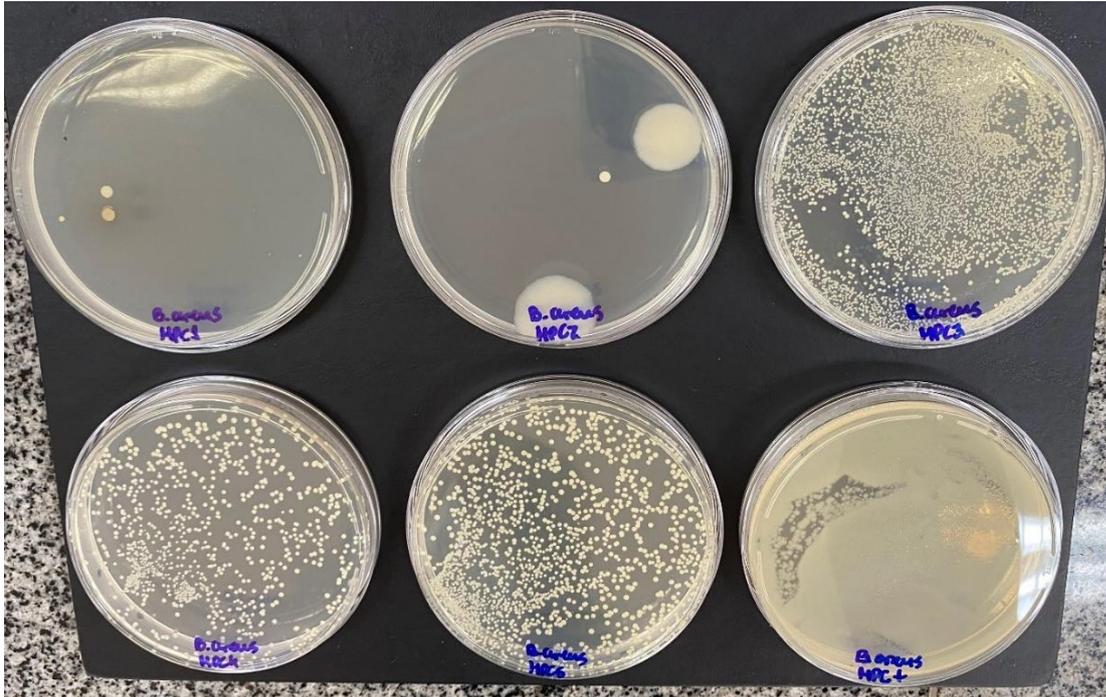
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 65** - CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para *Bacillus cereus*



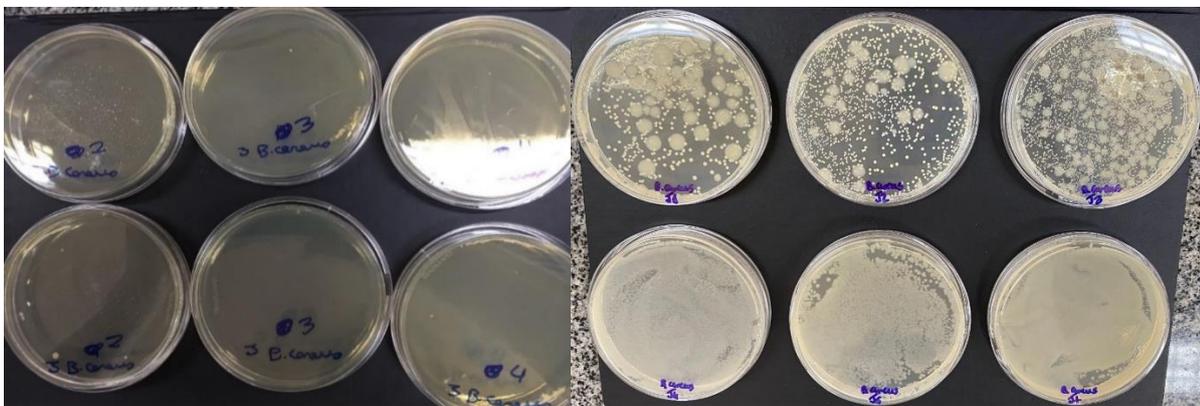
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 66** - CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial para *Bacillus cereus*



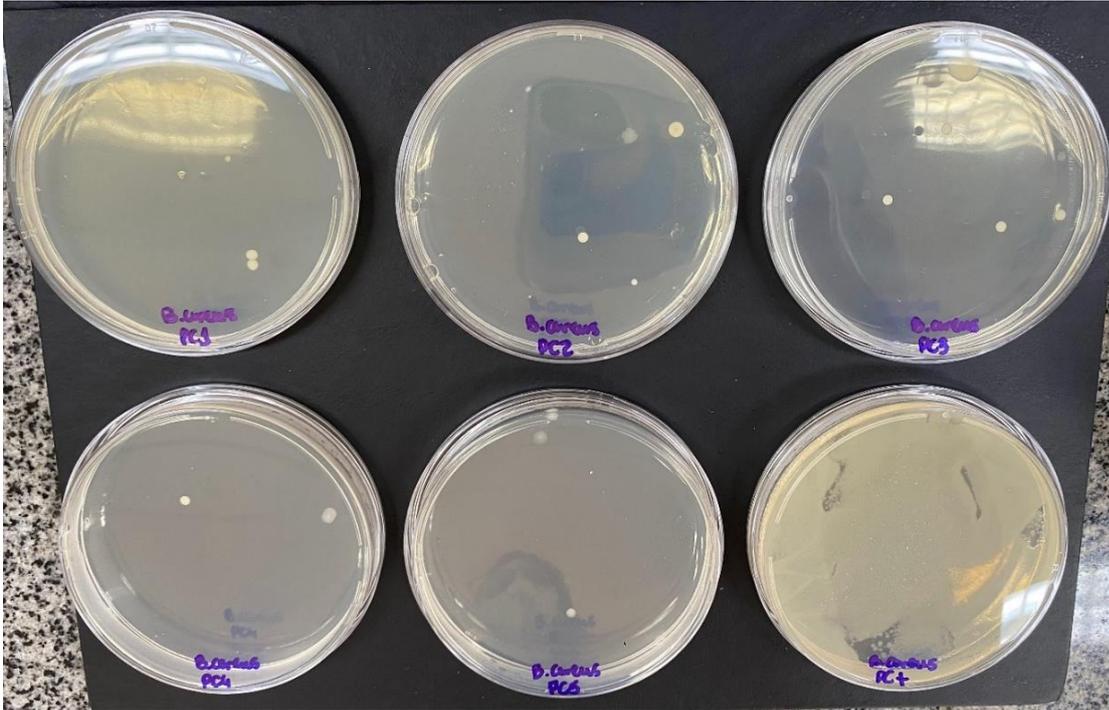
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 67** - CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura* para *Bacillus cereus*



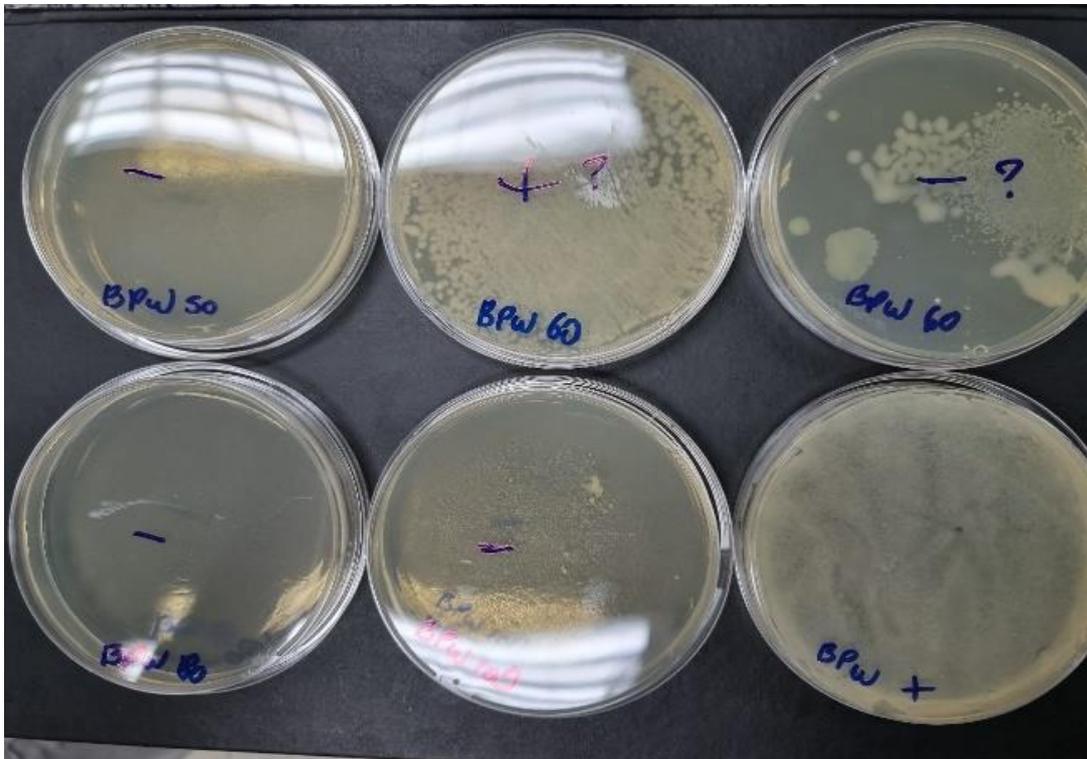
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 68** - CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para *Bacillus cereus*



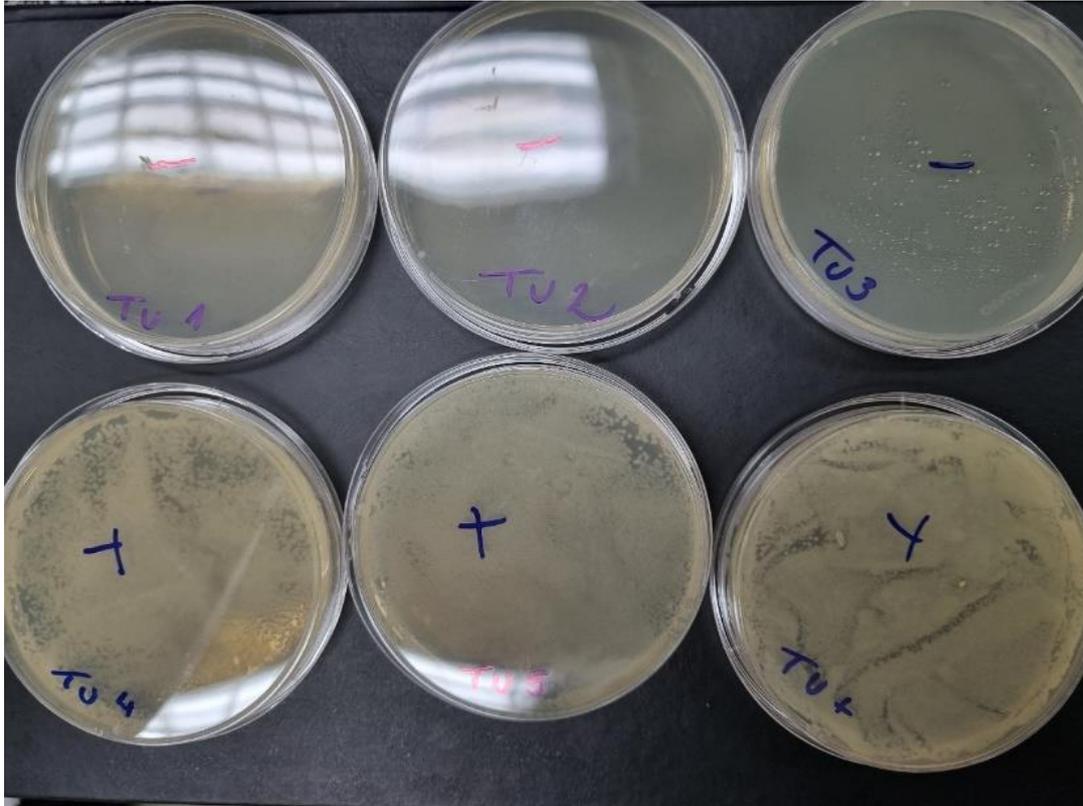
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 69** - CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para *Bacillus cereus*



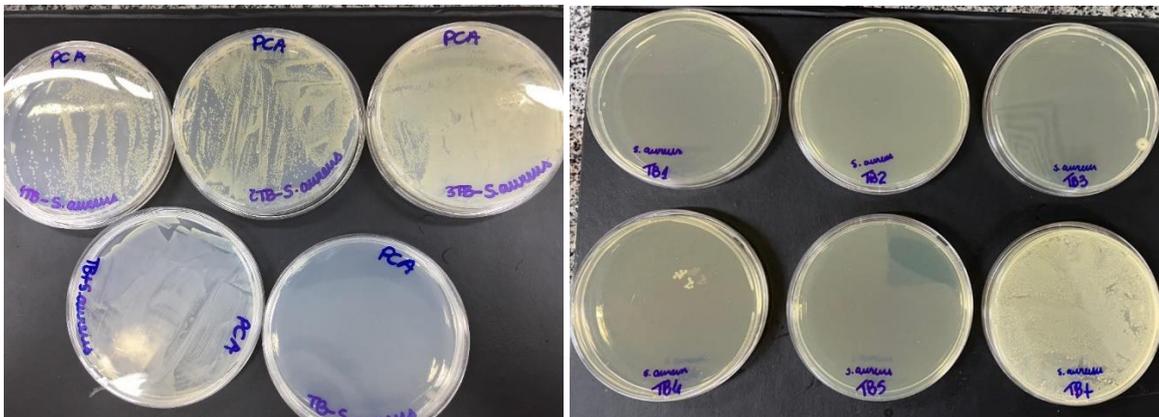
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 70** - CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para *Bacillus cereus*



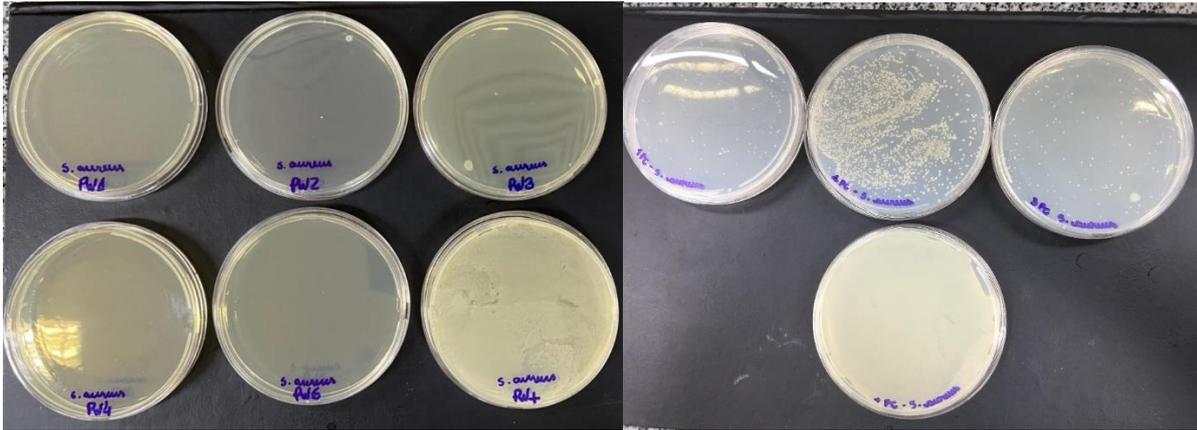
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 71** - CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para *Staphylococcus aureus*



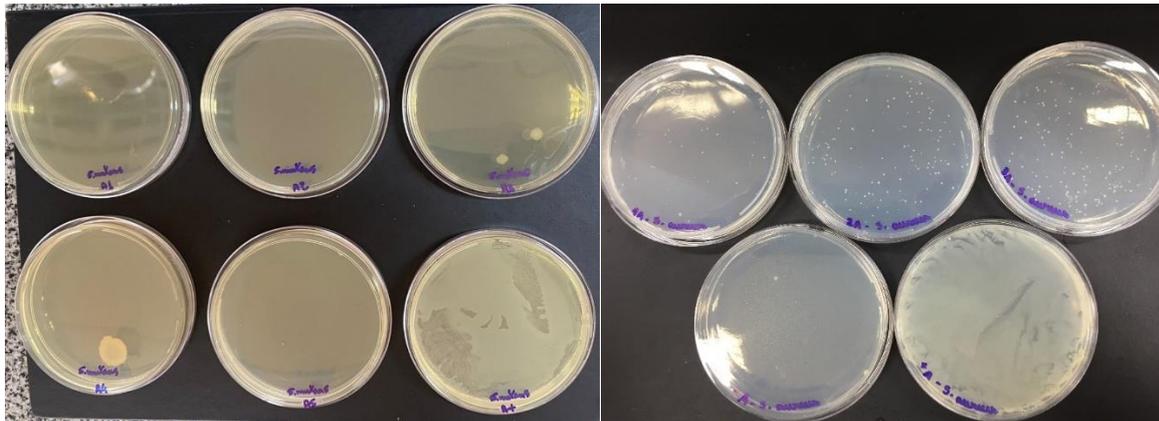
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 72** - CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para *Staphylococcus aureus*



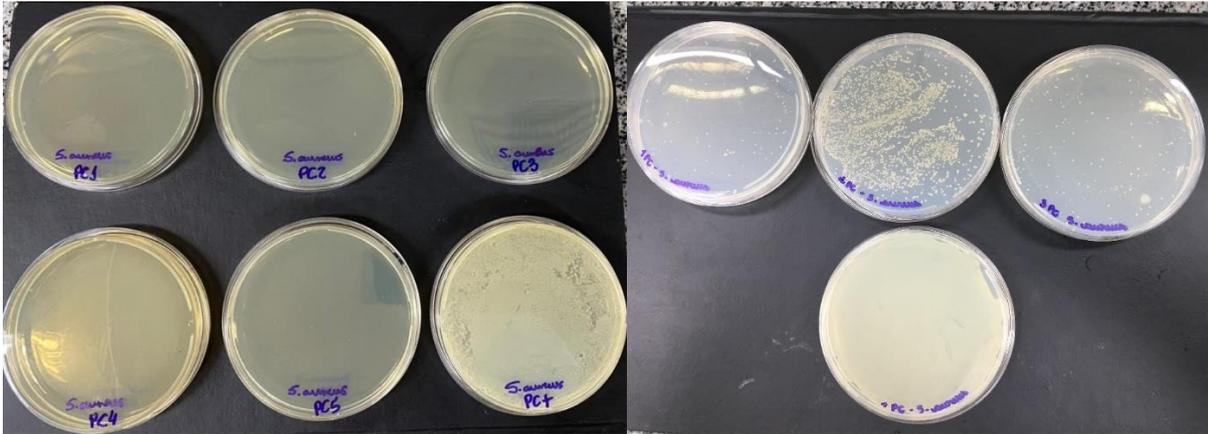
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 73** - CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para *Staphylococcus aureus*



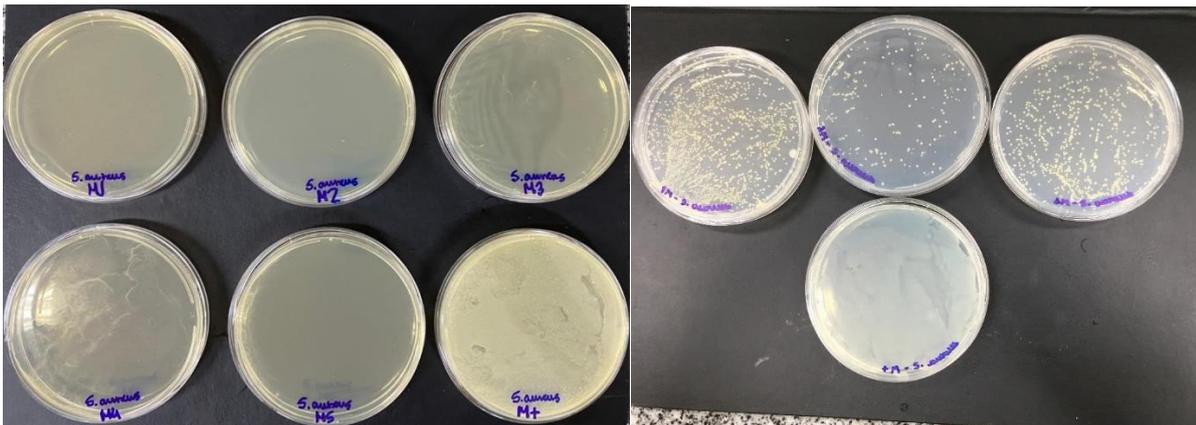
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 74** - CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para *Staphylococcus aureus*



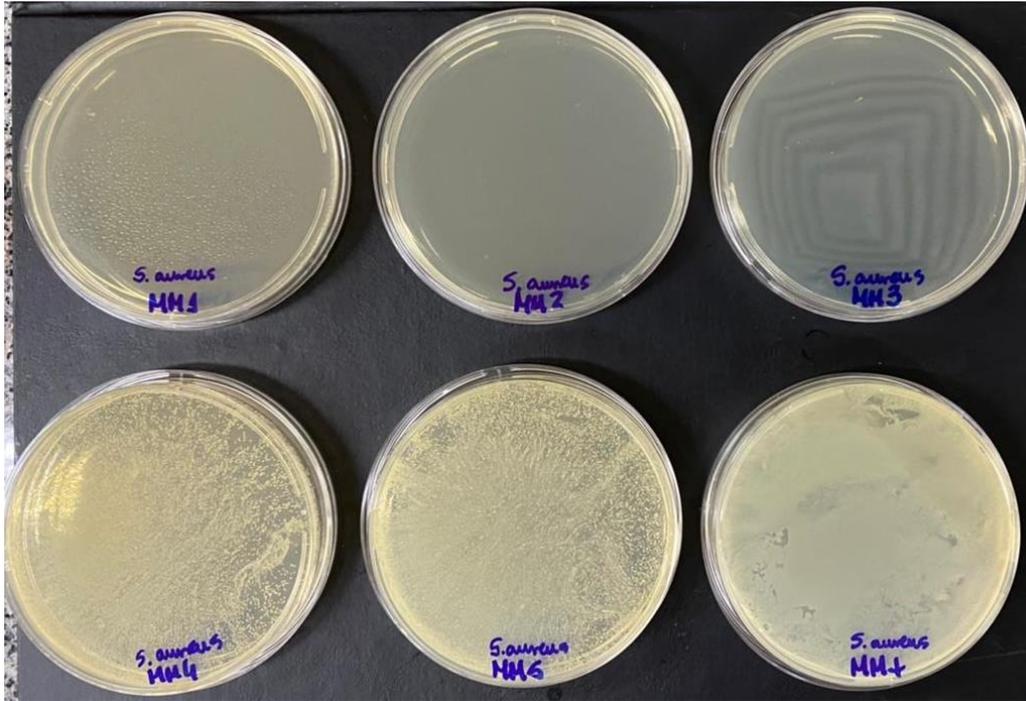
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 75**- CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 *in natura* para *Staphylococcus aureus*



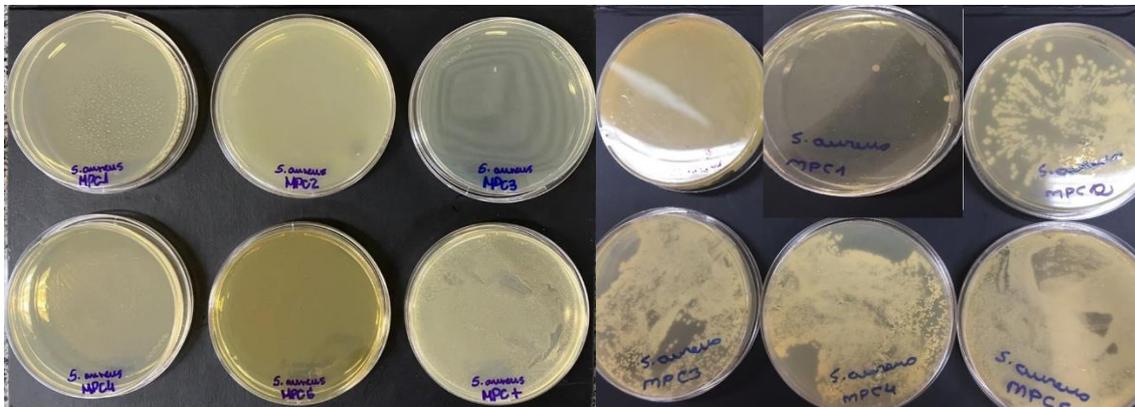
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 76** - CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para *Staphylococcus aureus*



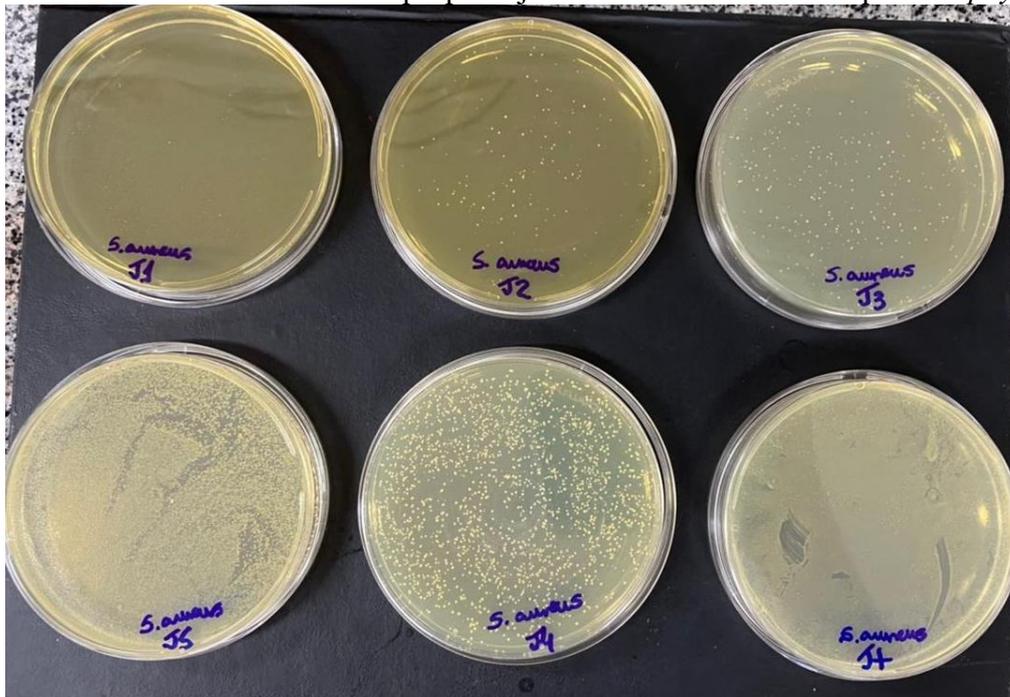
Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda:

**IMAGEM 77** - CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial para *Staphylococcus aureus*



Fonte: (Autoria própria, 2024).

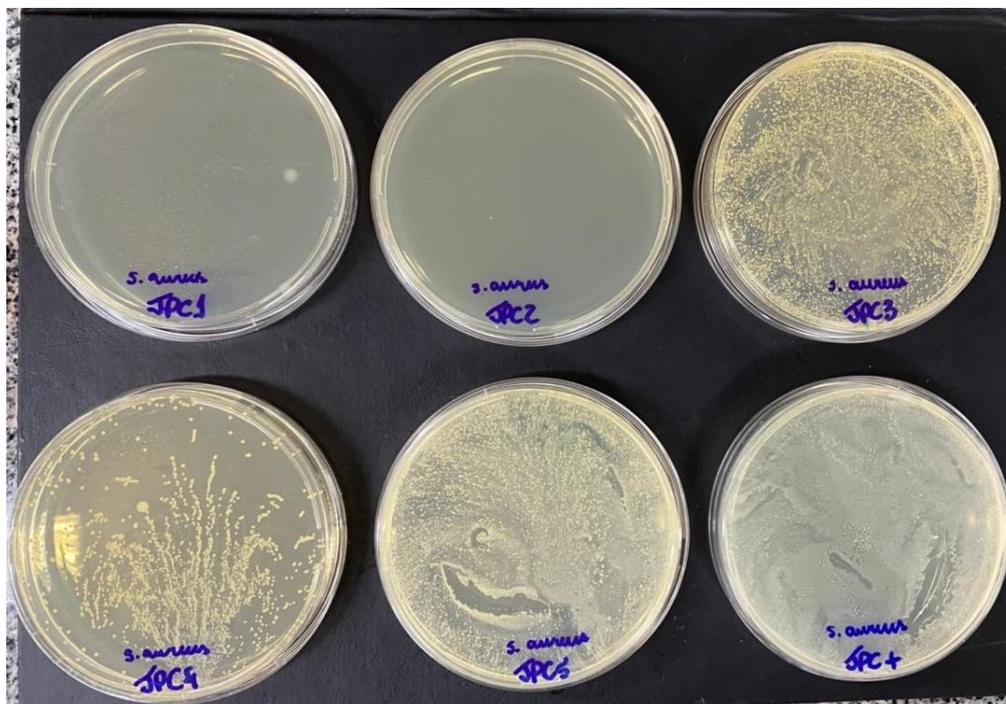
**IMAGEM 78** - CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura* para *Staphylococcus*



*aureus*

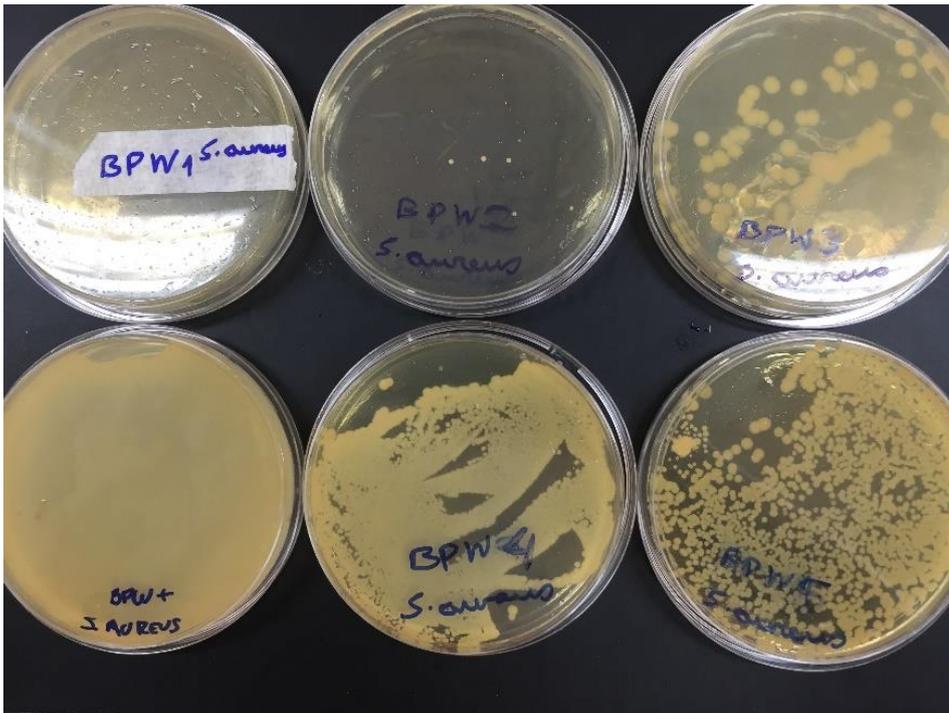
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 79** - CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para *Staphylococcus aureus*



Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 80** - CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para *Staphylococcus aureus*



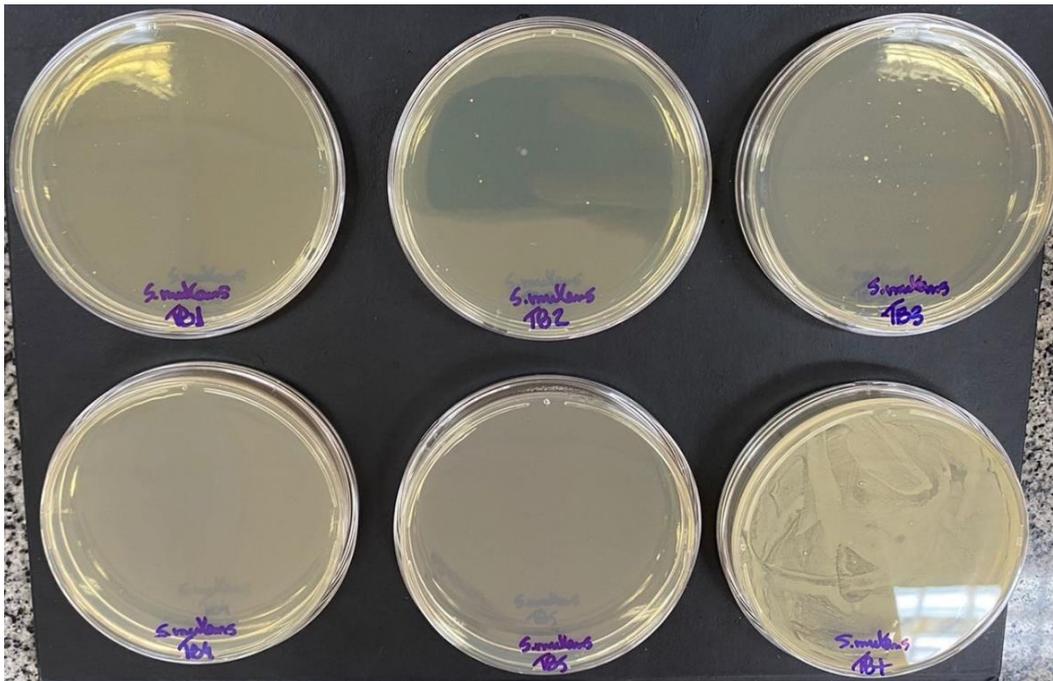
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 81** - CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para *Staphylococcus aureus*



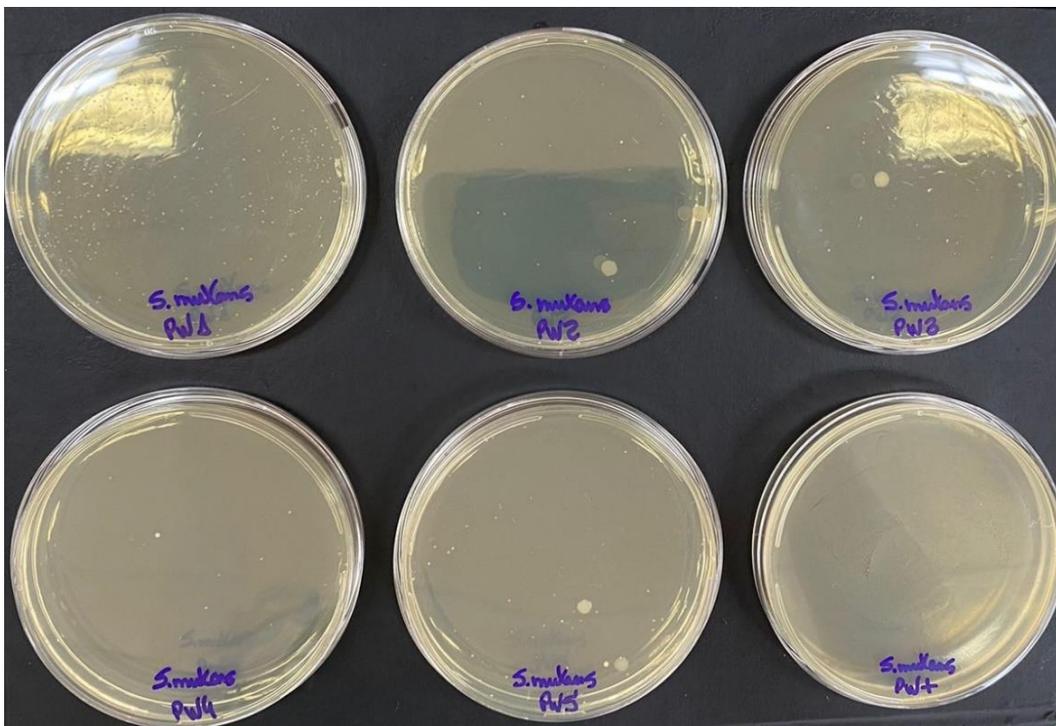
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 82** - CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para *Streptococcus mutans*



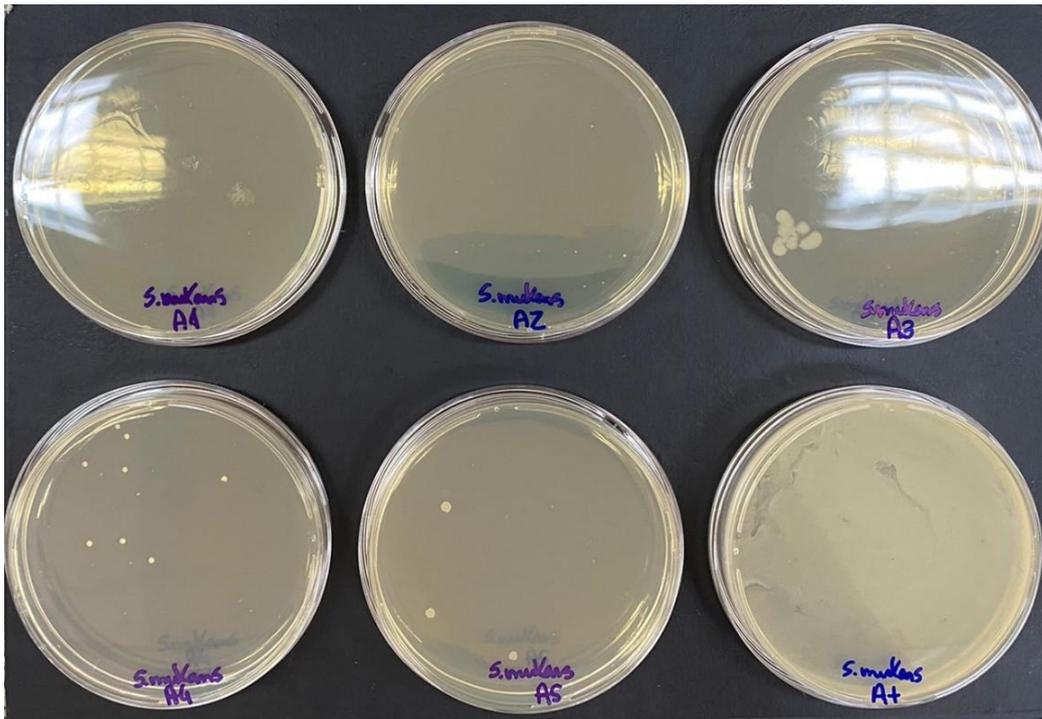
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 83** - CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para *Streptococcus mutans*



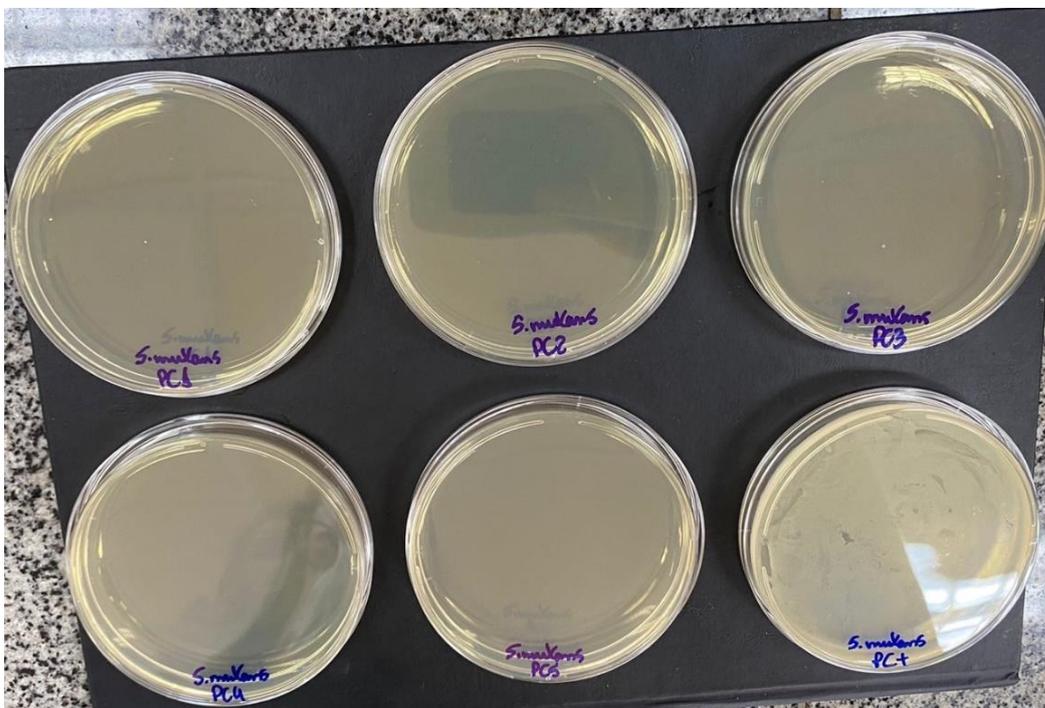
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 84** - CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para *Streptococcus mutans*



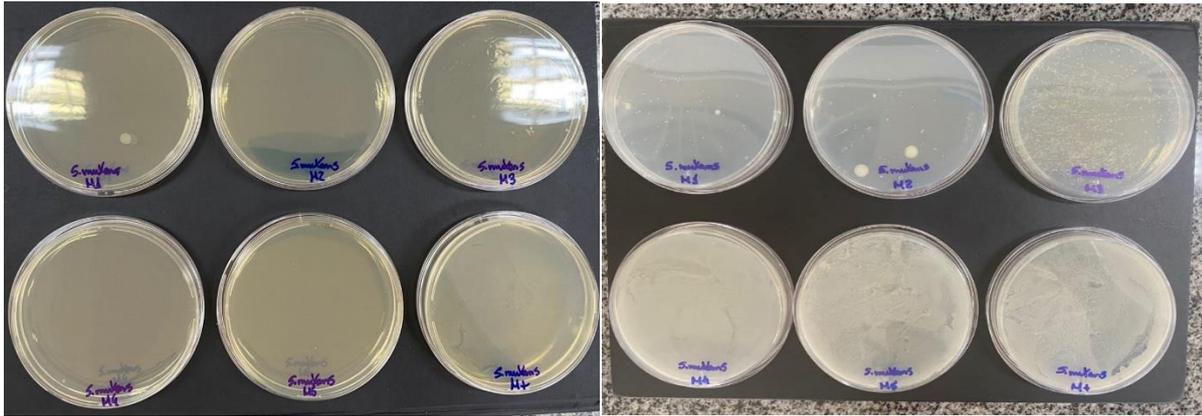
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 85** - CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para *Streptococcus mutans*



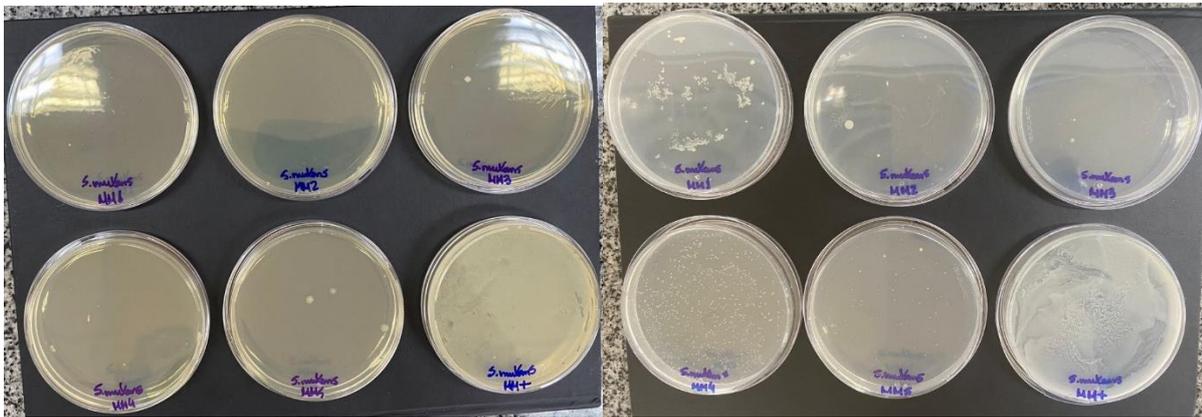
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 86** - CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 *in natura* para *Streptococcus mutans*



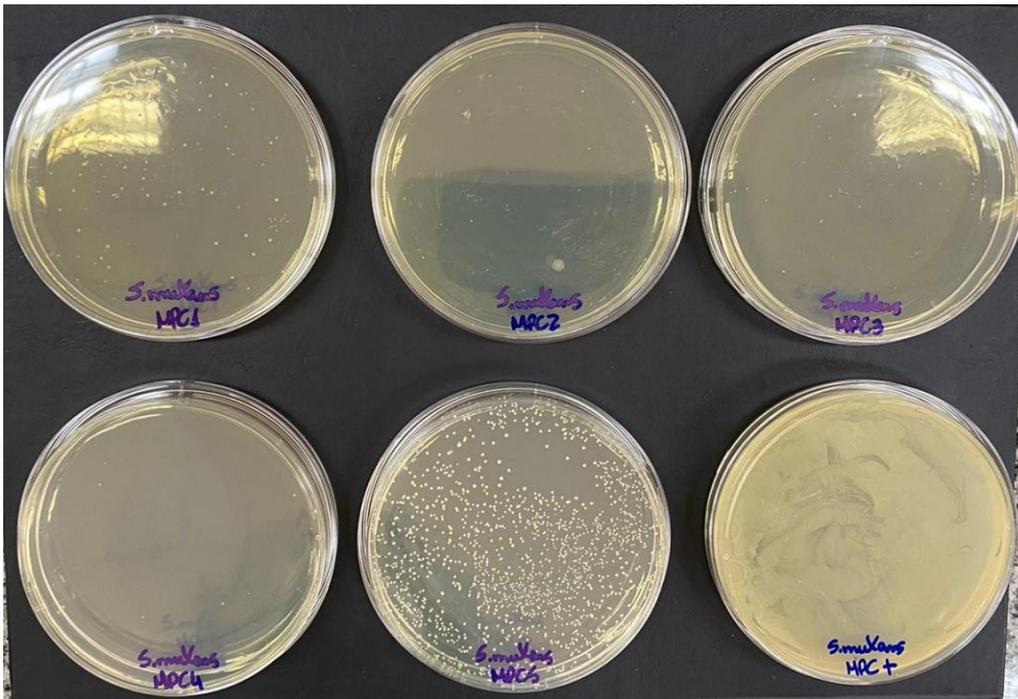
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 87** - CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para *Streptococcus mutans*



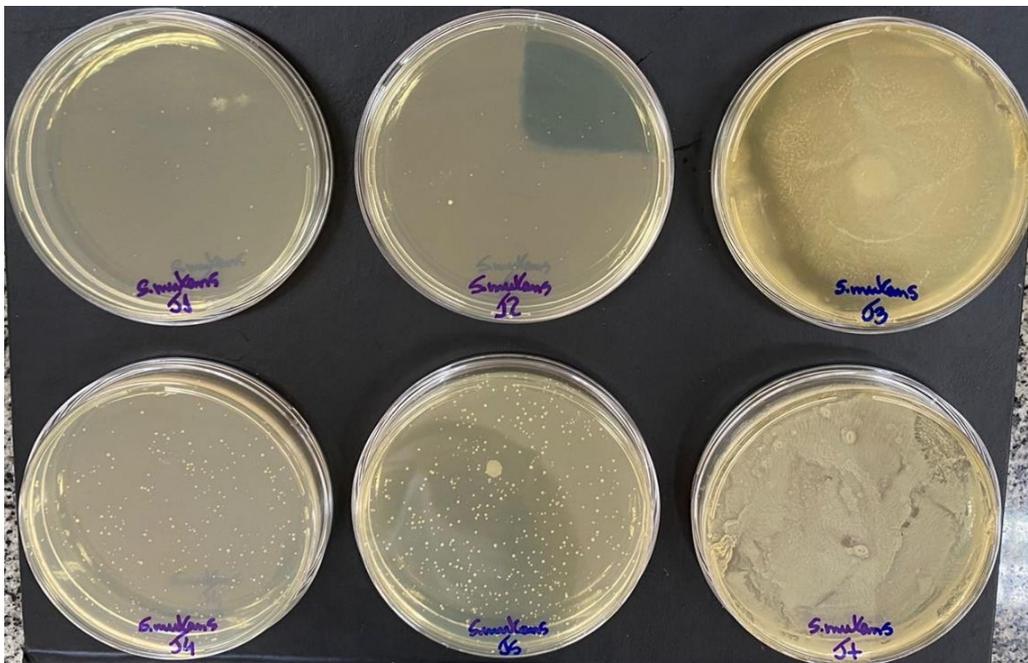
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 88** - CBM do extrato de própolis mandaçaiá amostra 7 comercial para *Streptococcus mutans*



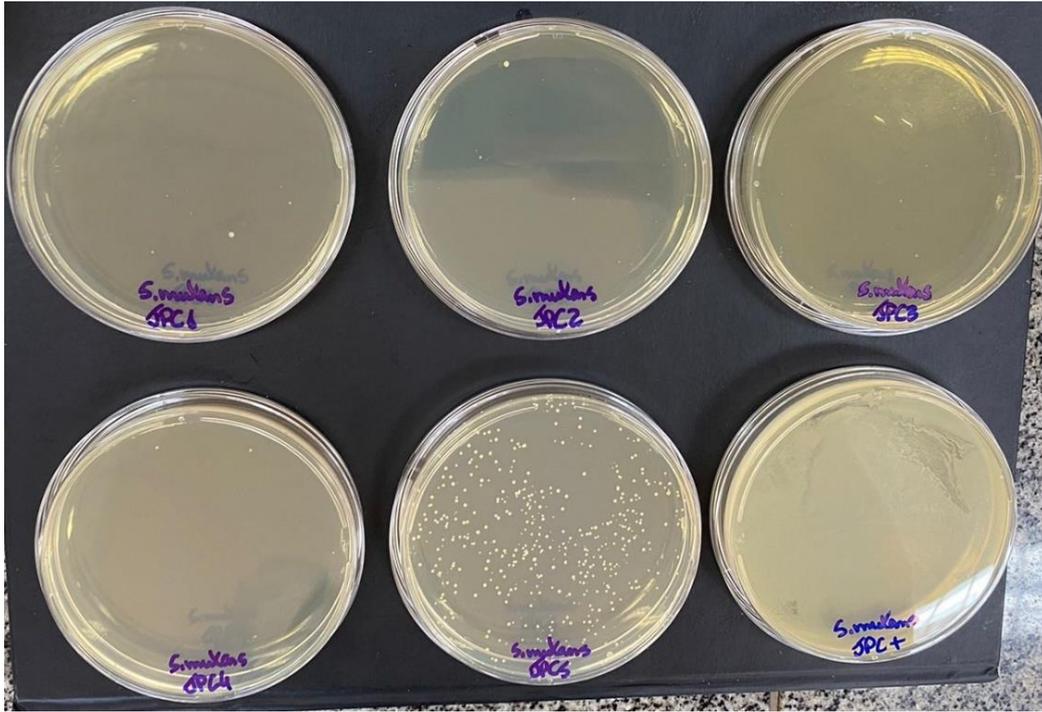
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 89** - CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura* para *Streptococcus mutans*



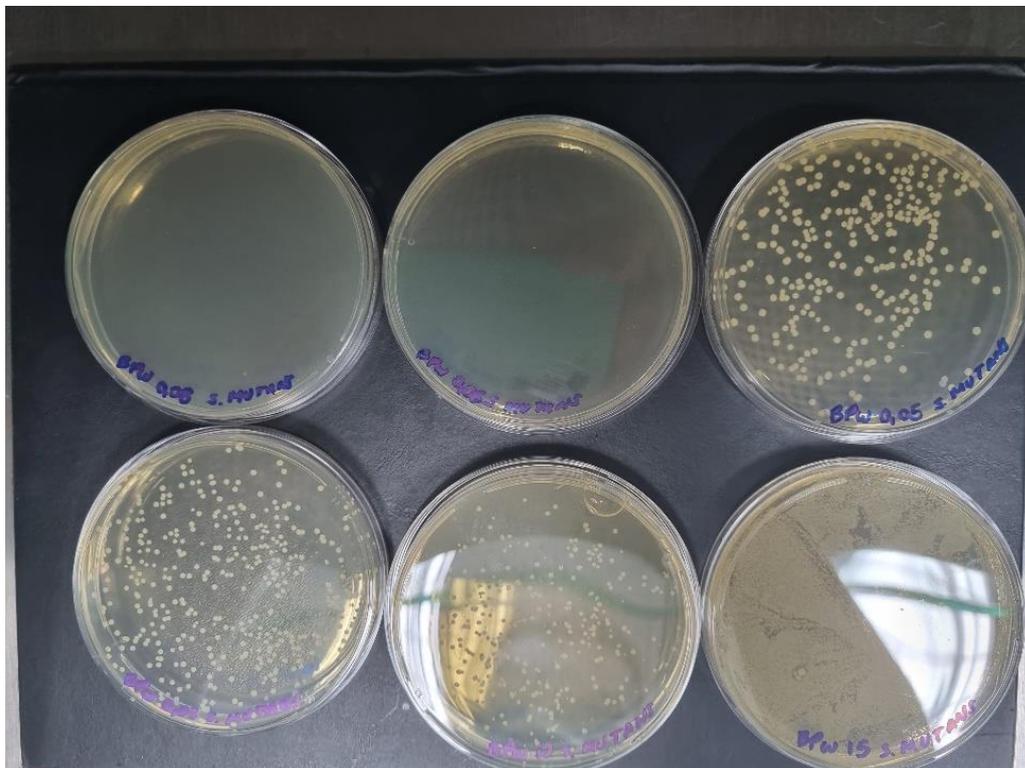
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 90** - CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para *Streptococcus mutans*



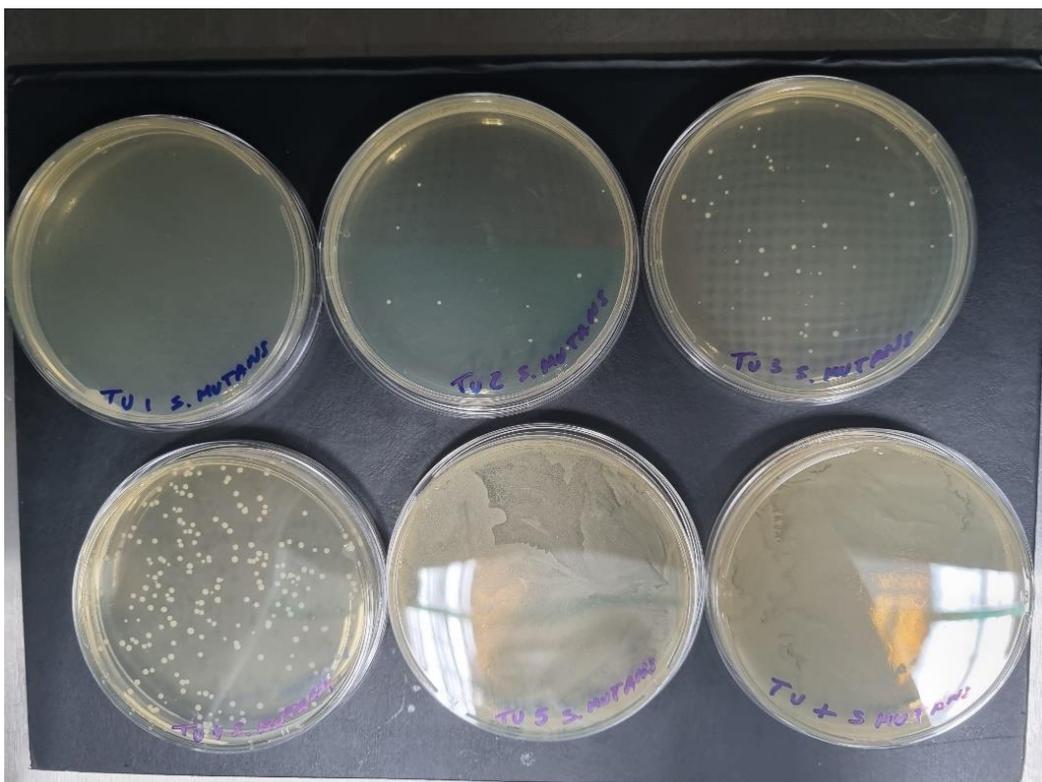
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 91** - CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para *Streptococcus mutans*



Fonte: (Autoria própria, 2024).

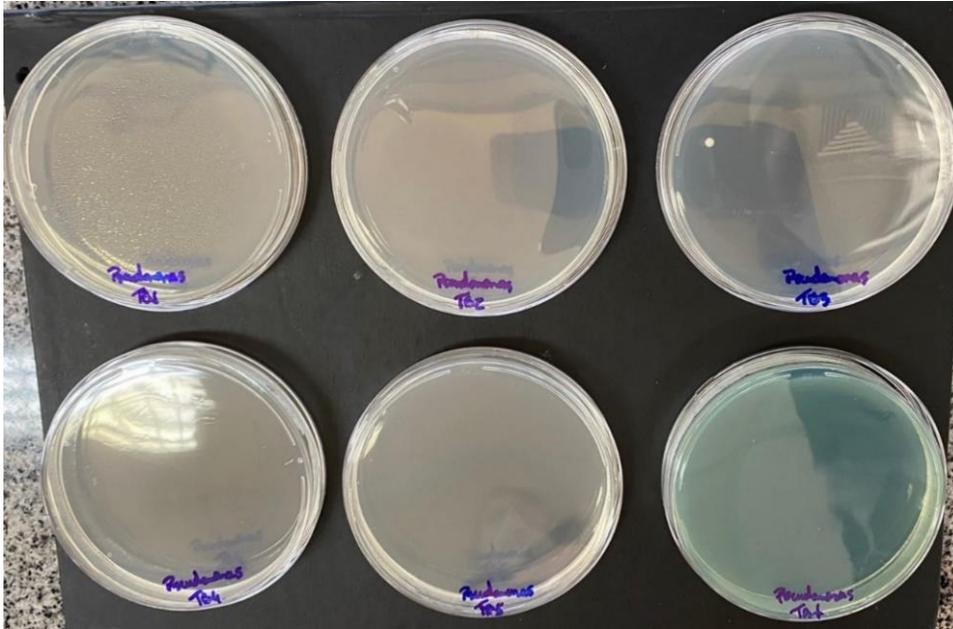
**IMAGEM 92** - CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para *Streptococcus mutans*



Fonte: (Autoria própria, 2024).

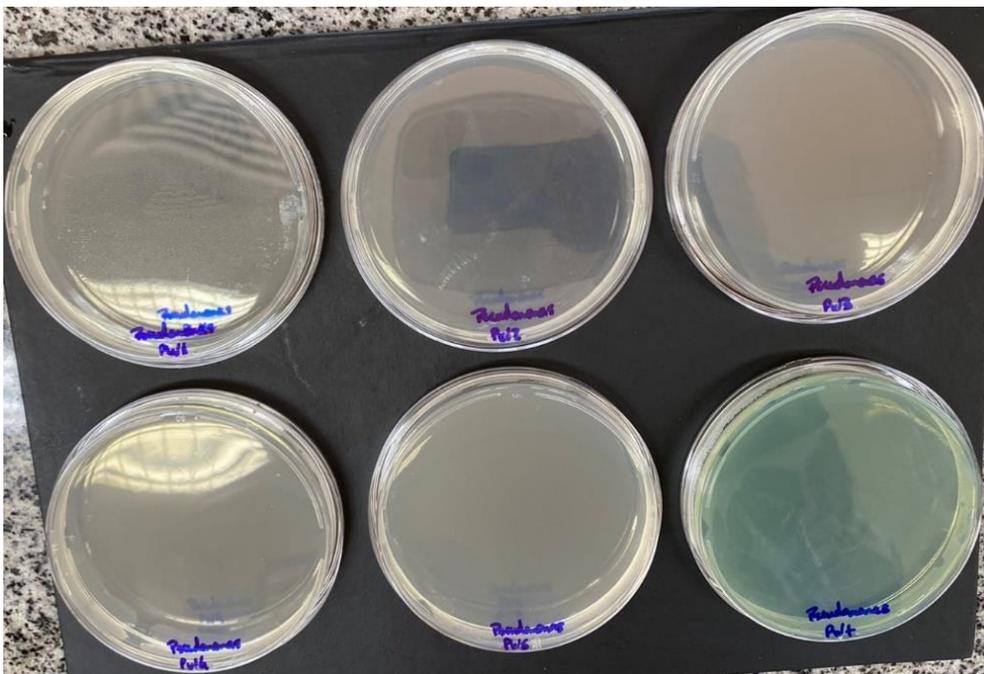
**APÊNDICE 2.6** – Concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos de própolis para as bactérias Gram-negativas

**IMAGEM 93** – CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para *Pseudomonas aeruginosa*



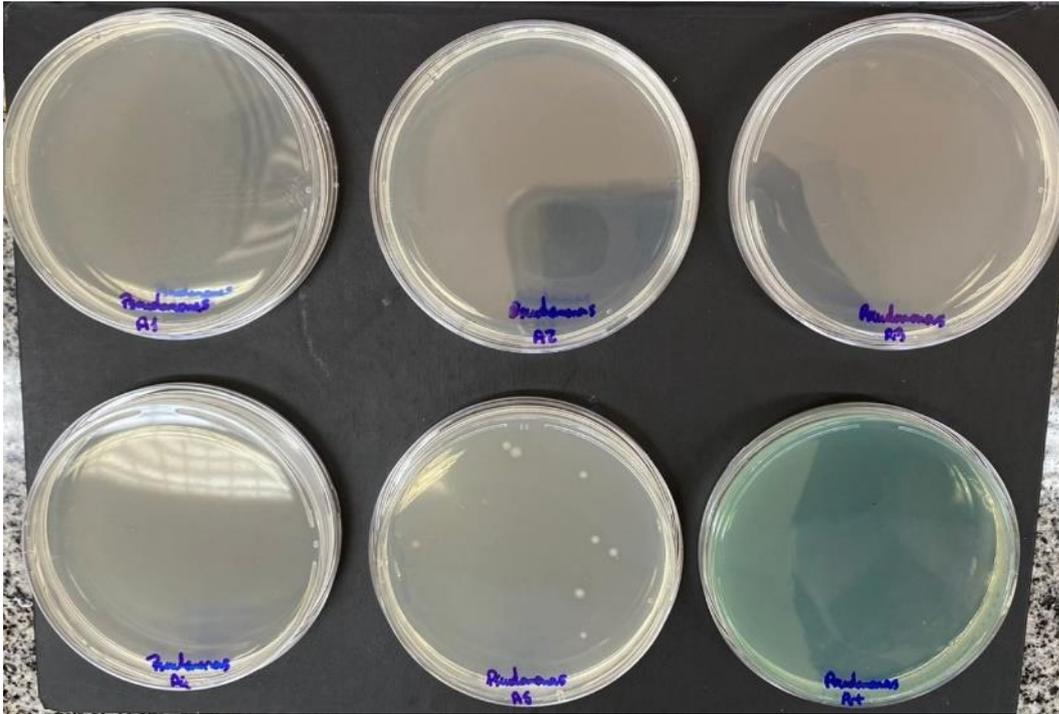
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 94** – CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para *Pseudomonas aeruginosa*



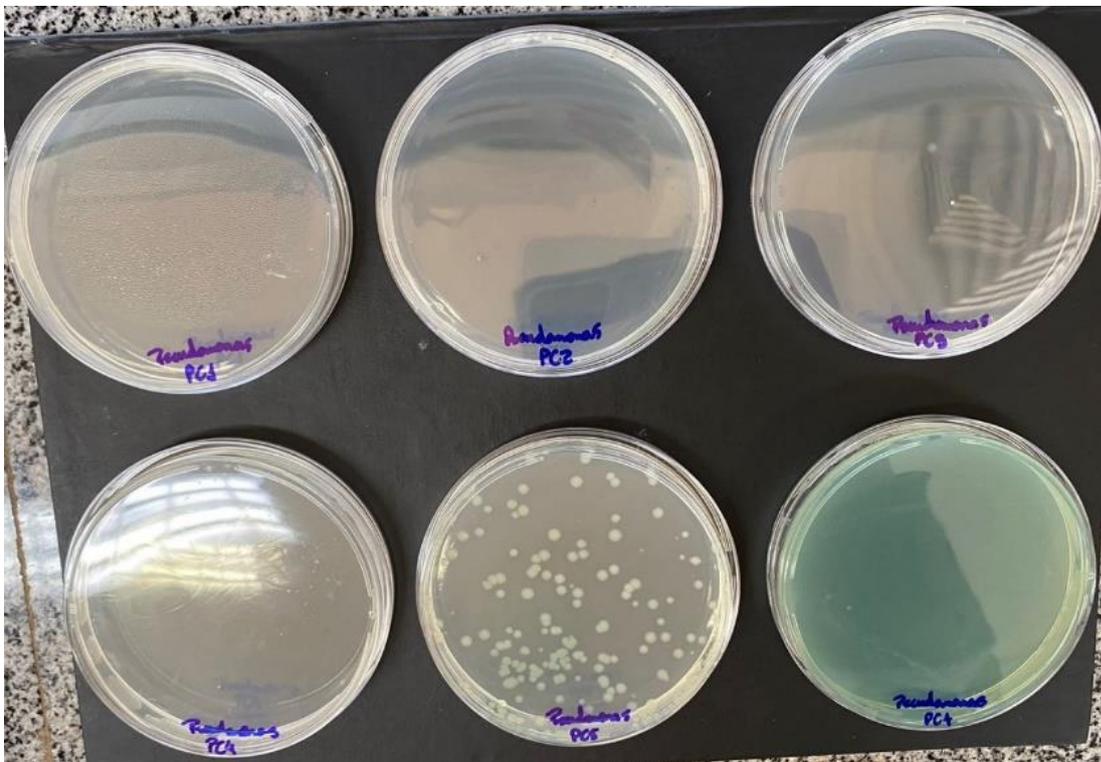
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 95** – CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para *Pseudomonas aeruginosa*



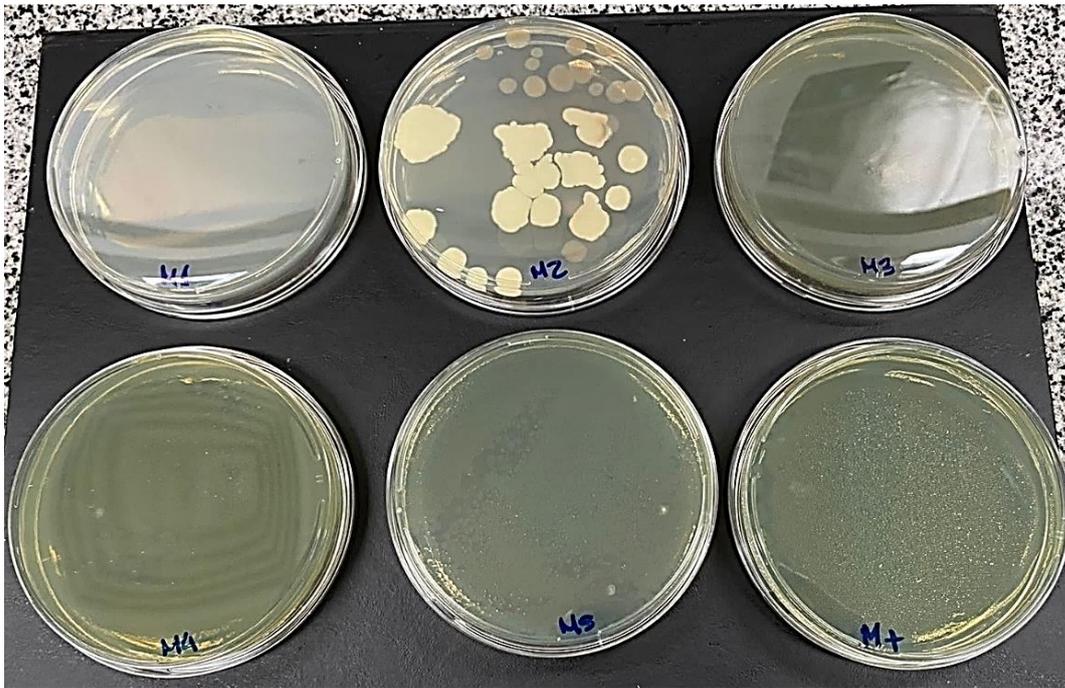
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 96** – CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para *Pseudomonas aeruginosa*



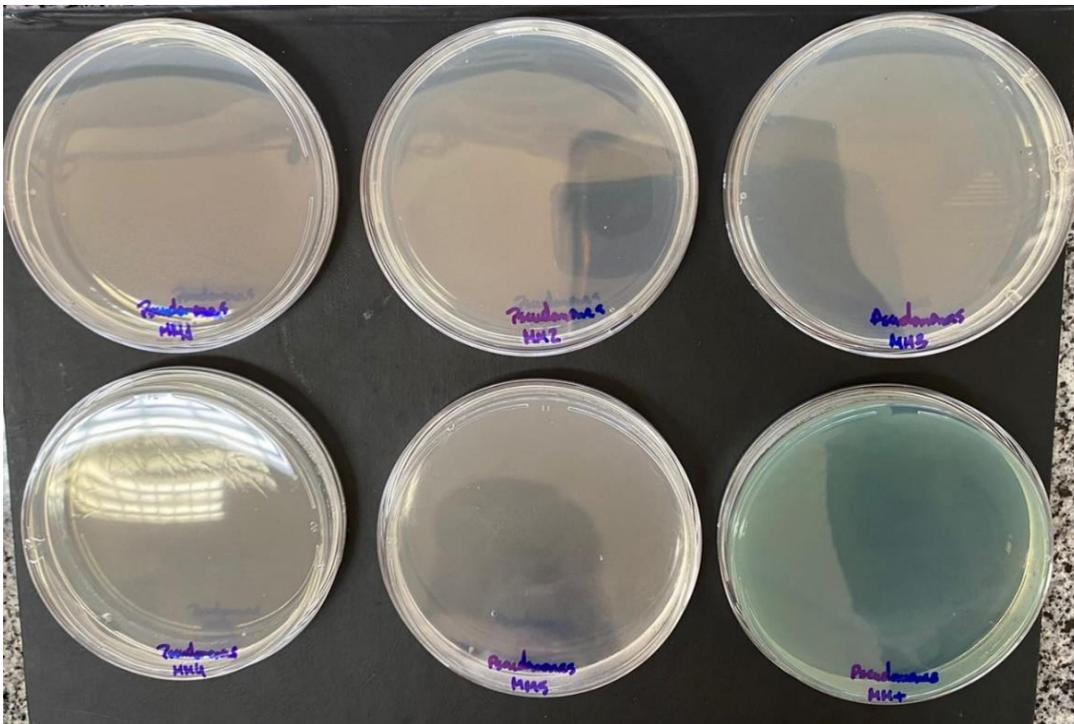
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 97** – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 *in natura* para *Pseudomonas aeruginosa*



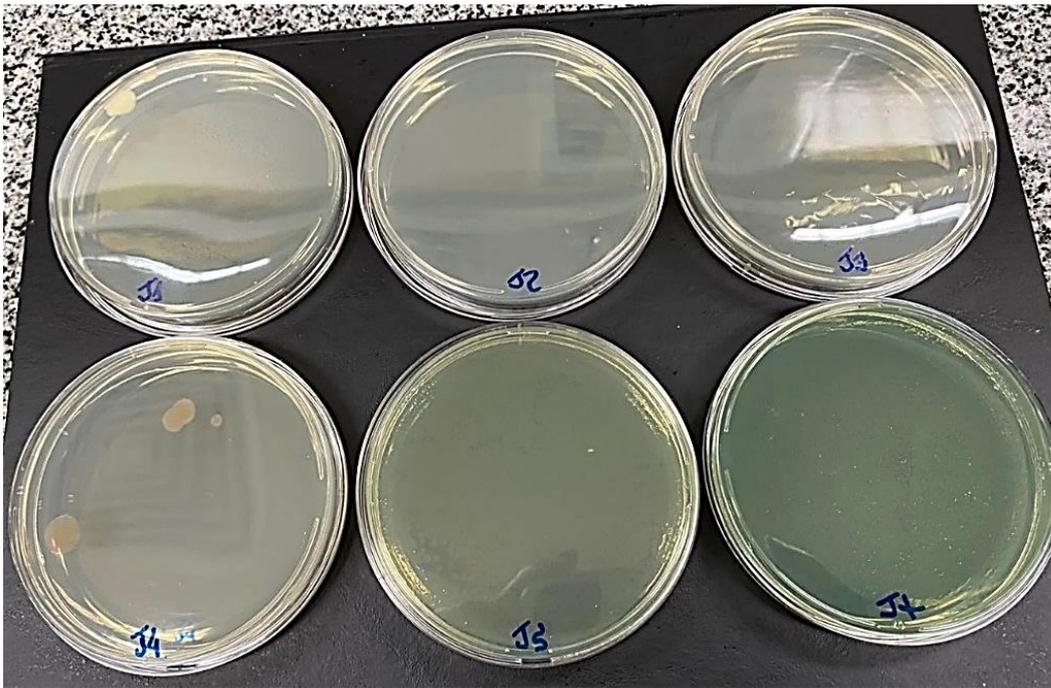
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 98** – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para *Pseudomonas aeruginosa*



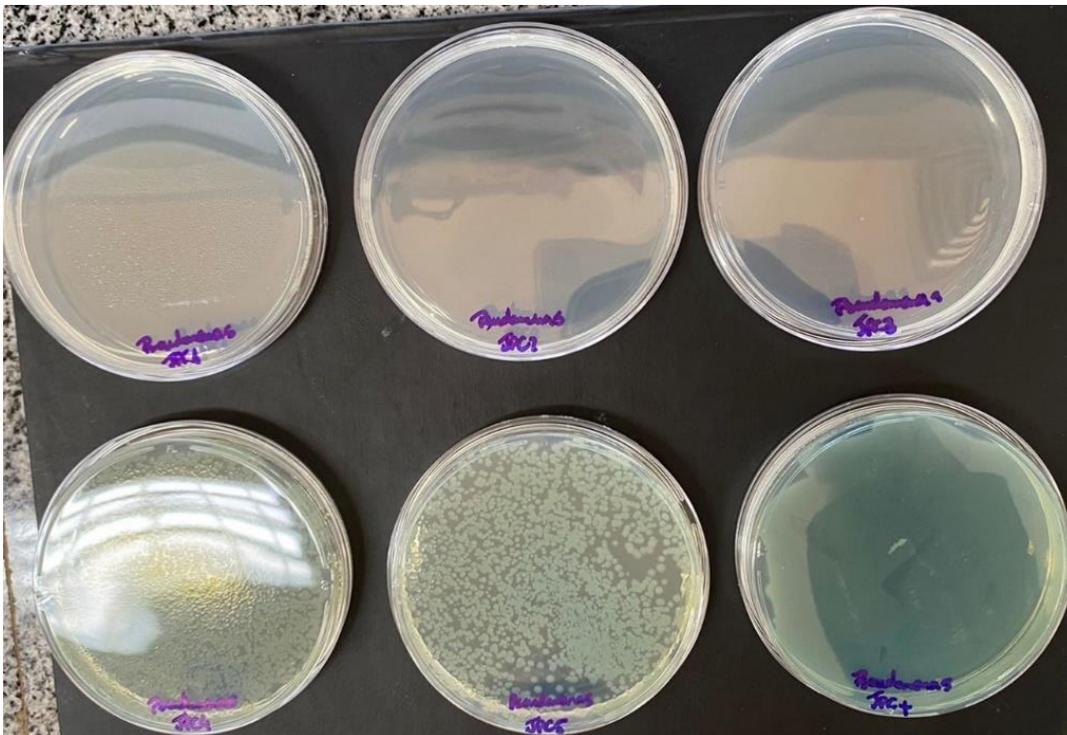
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 99** – CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura* para *Pseudomonas aeruginosa*



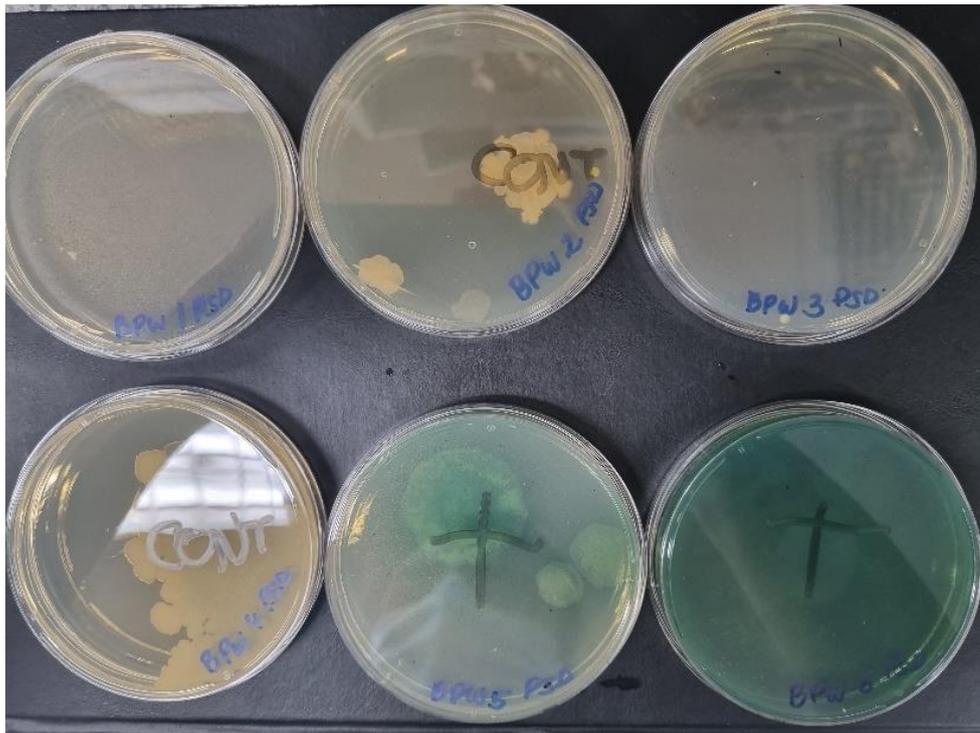
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 100** – CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para *Pseudomonas aeruginosa*



Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 101** – CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para *Pseudomonas aeruginosa*



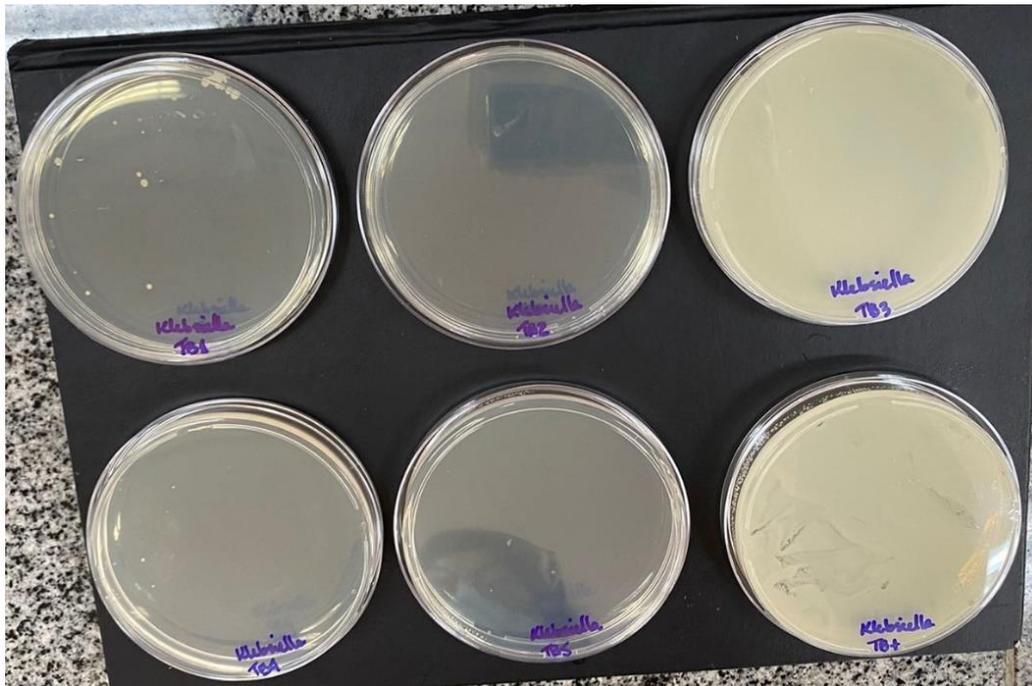
Fonte: (Autoria própria, 2024). Legenda:

**IMAGEM 102** – CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para *Pseudomonas aeruginosa*



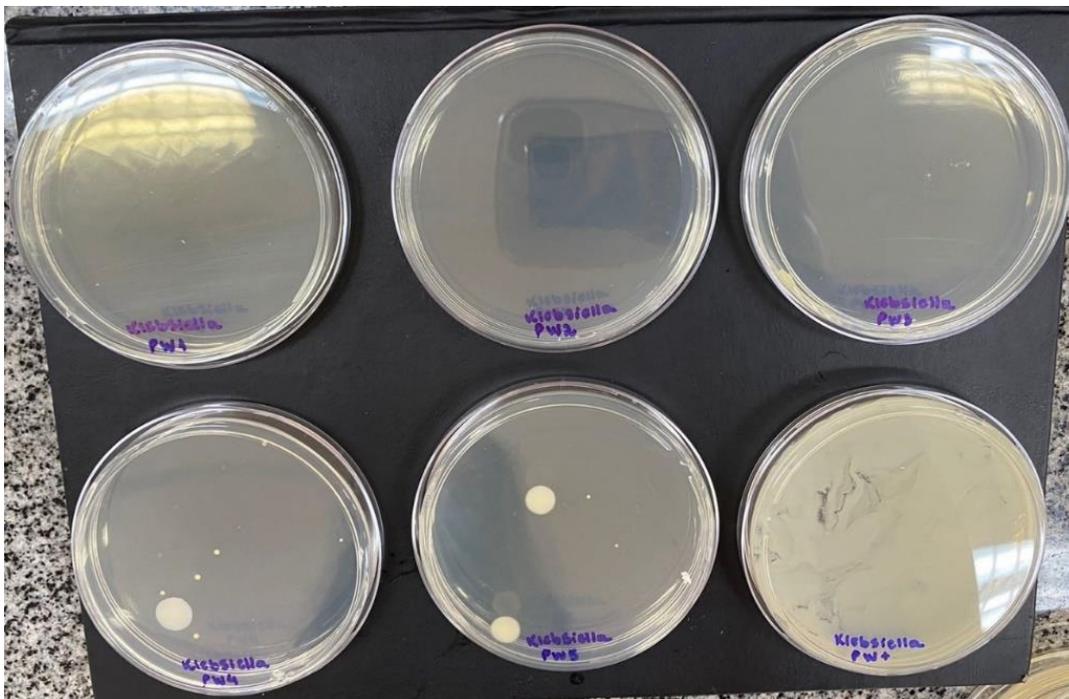
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 103** – CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para *Klebsiella pneumoniae*



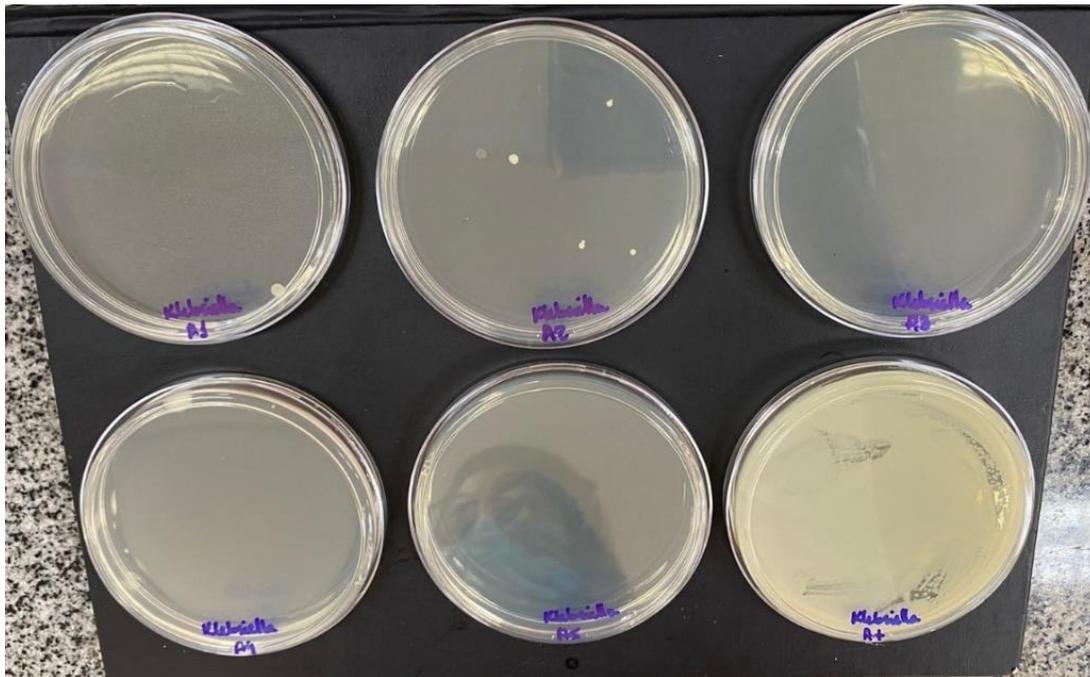
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 104** – CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para *Klebsiella pneumoniae*



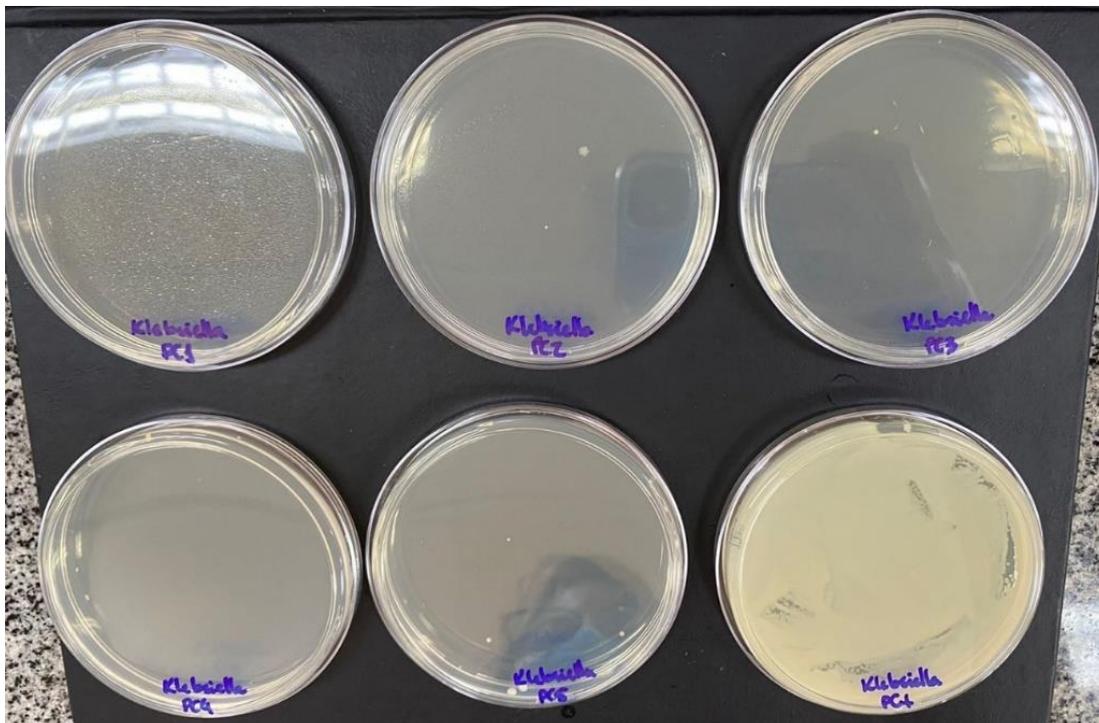
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 105** – CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para *Klebsiella pneumoniae*



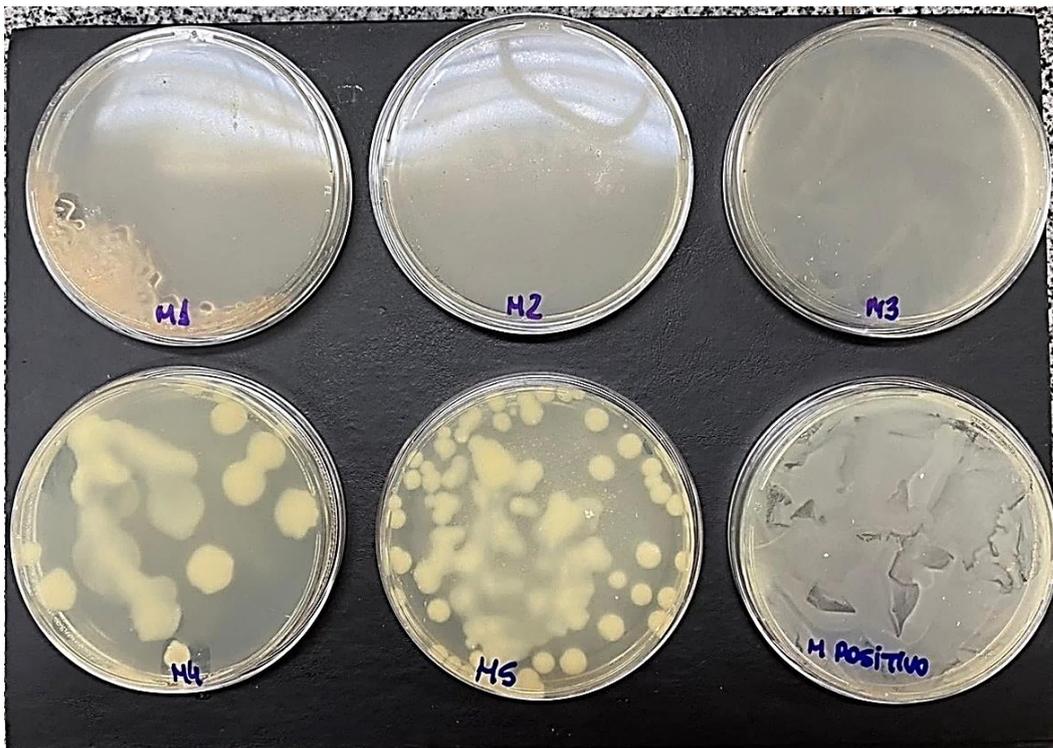
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 106** – CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para *Klebsiella pneumoniae*



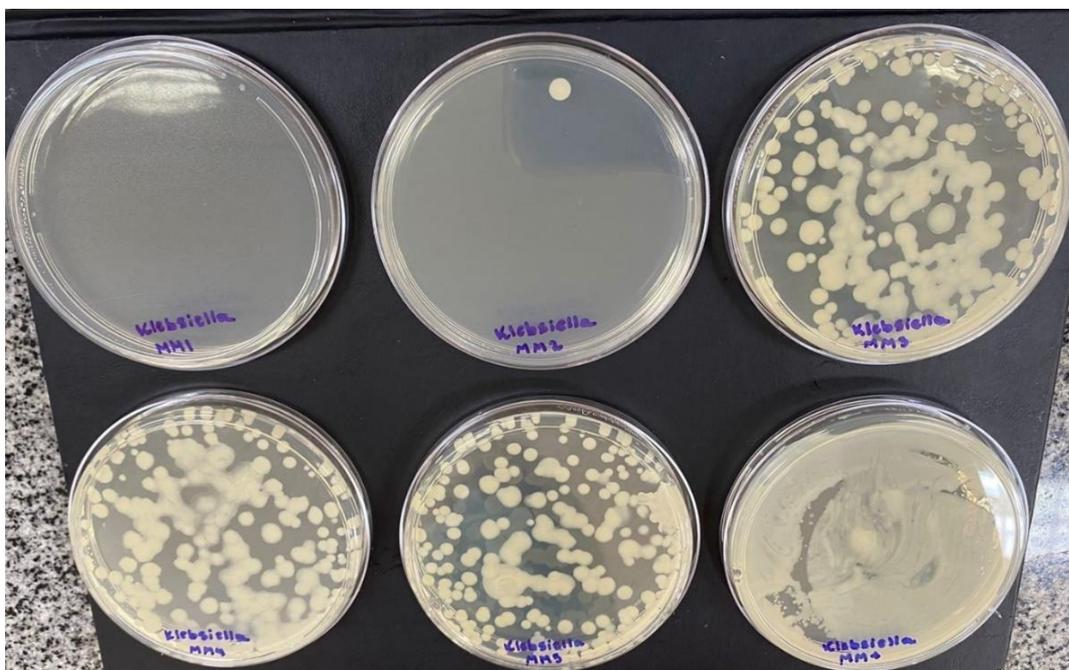
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 107** – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 *in natura* para *Klebsiella pneumoniae*



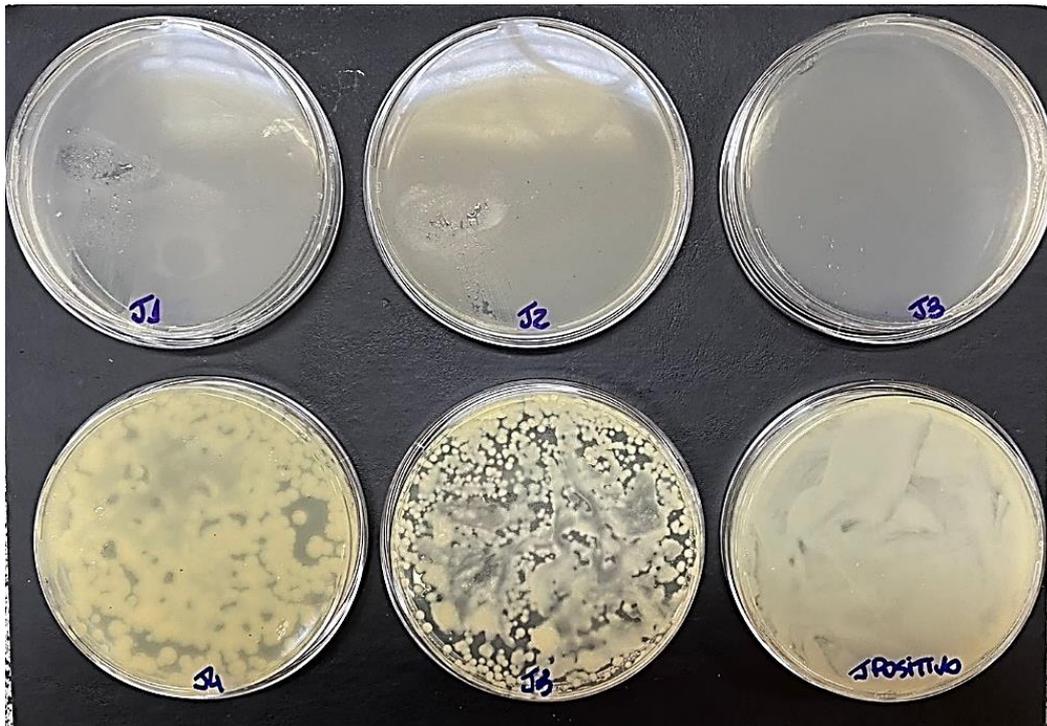
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 108** – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para *Klebsiella pneumoniae*



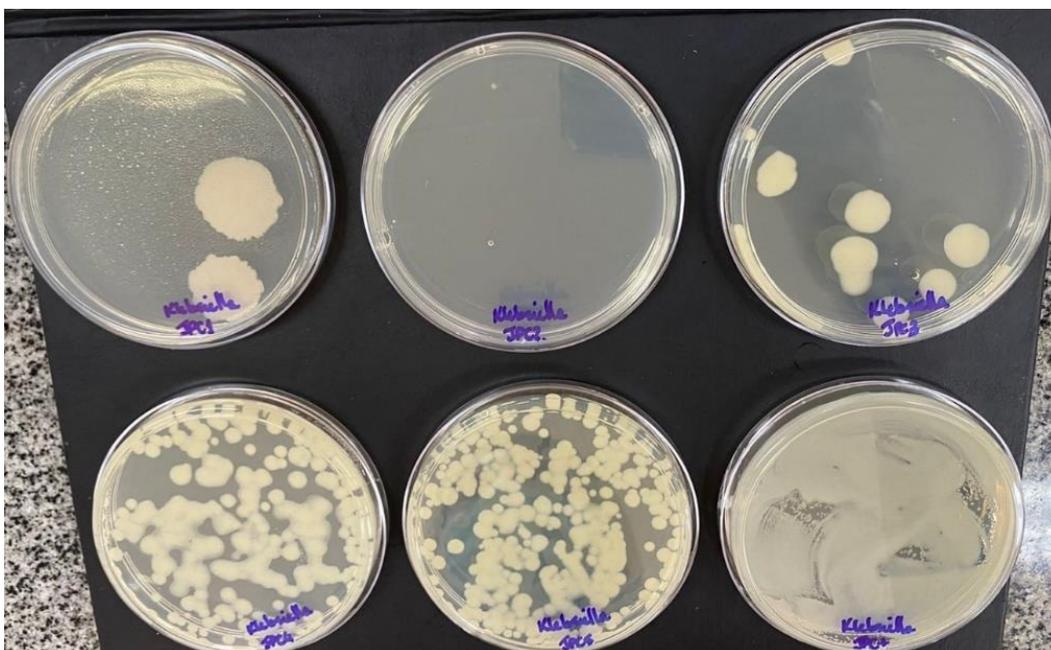
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 109** – CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura* para *Klebsiella pneumoniae*



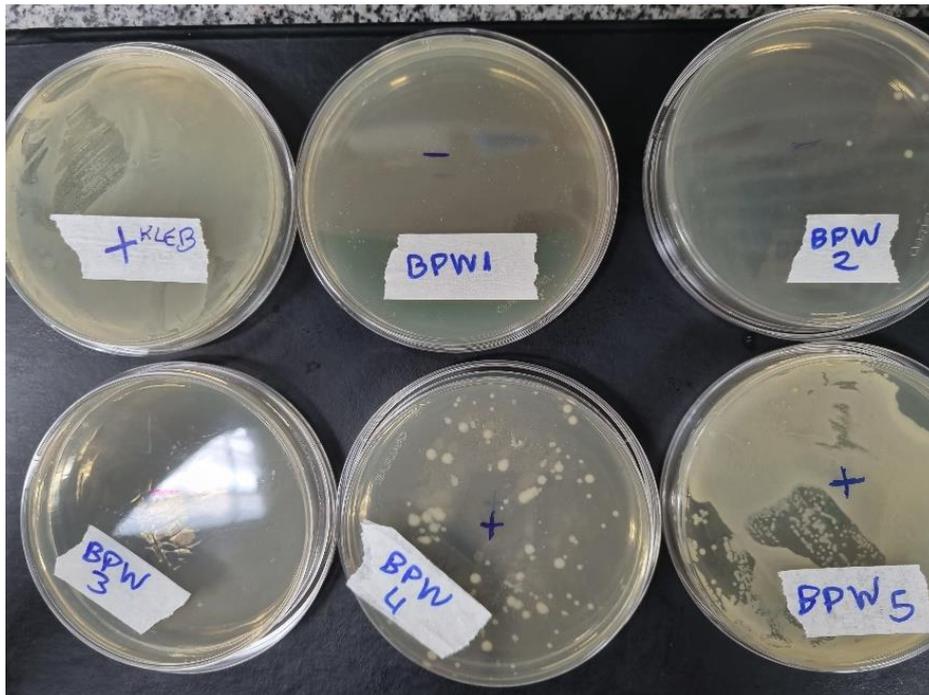
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 110** – CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para *Klebsiella pneumoniae*



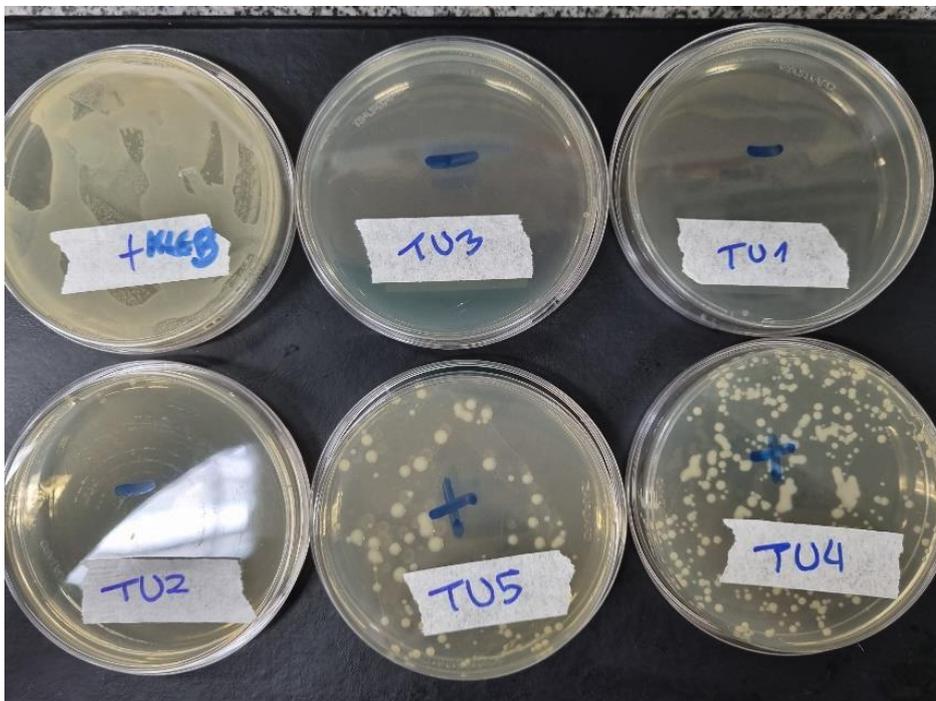
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 111** – CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para *Klebsiella pneumoniae*



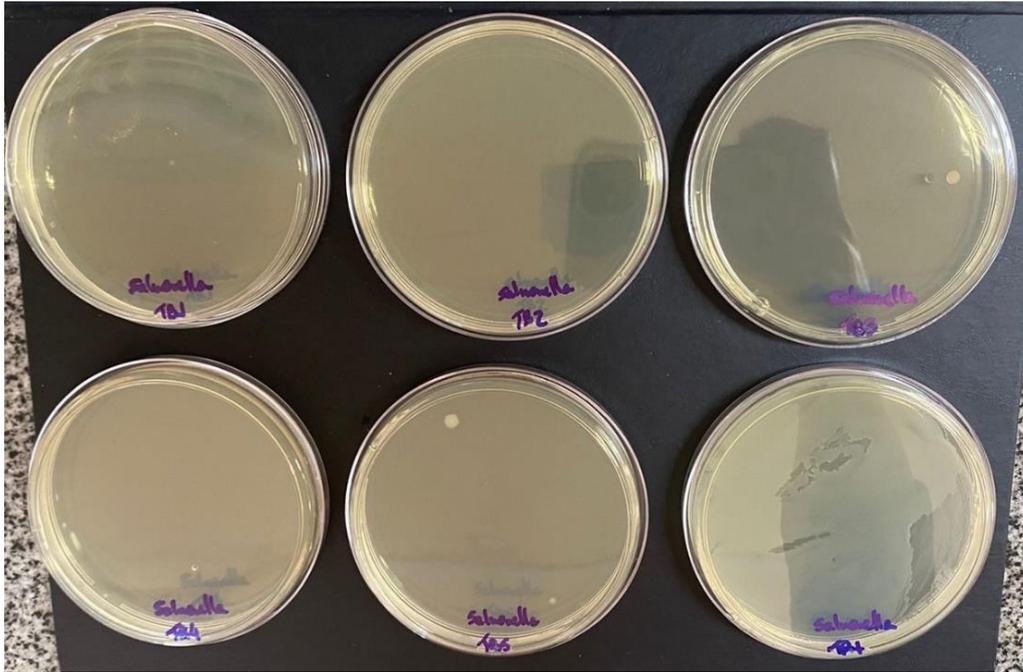
Fonte: (Autoria própria, 2024)

**IMAGEM 112** – CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para *Klebsiella pneumoniae*



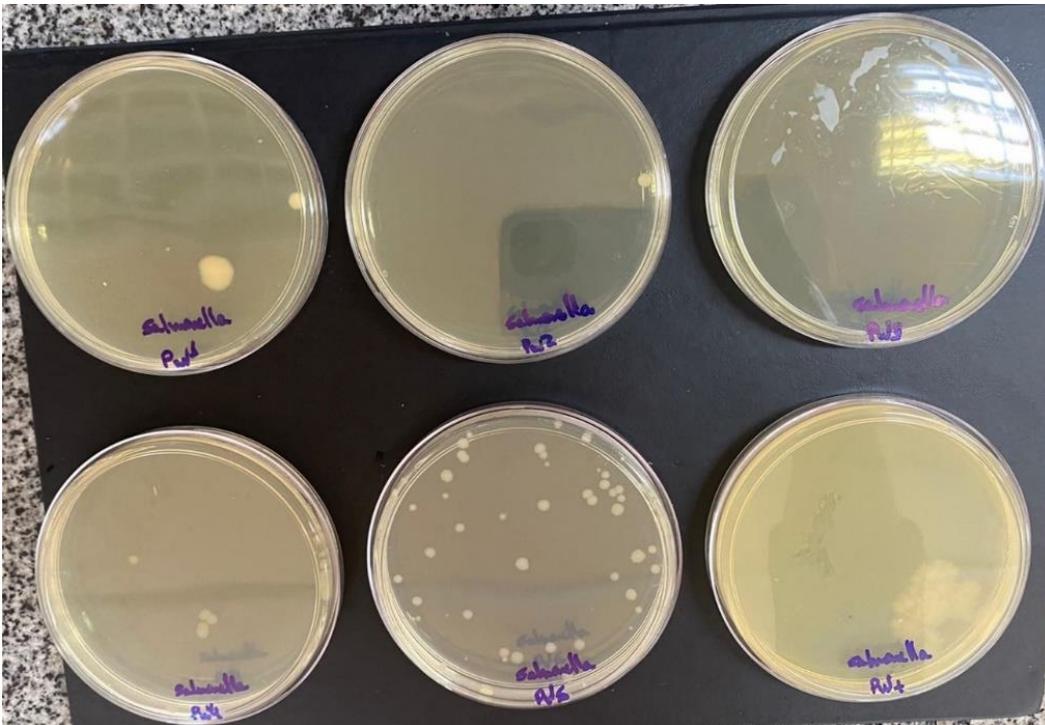
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 113** – CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para *Salmonella enterica*



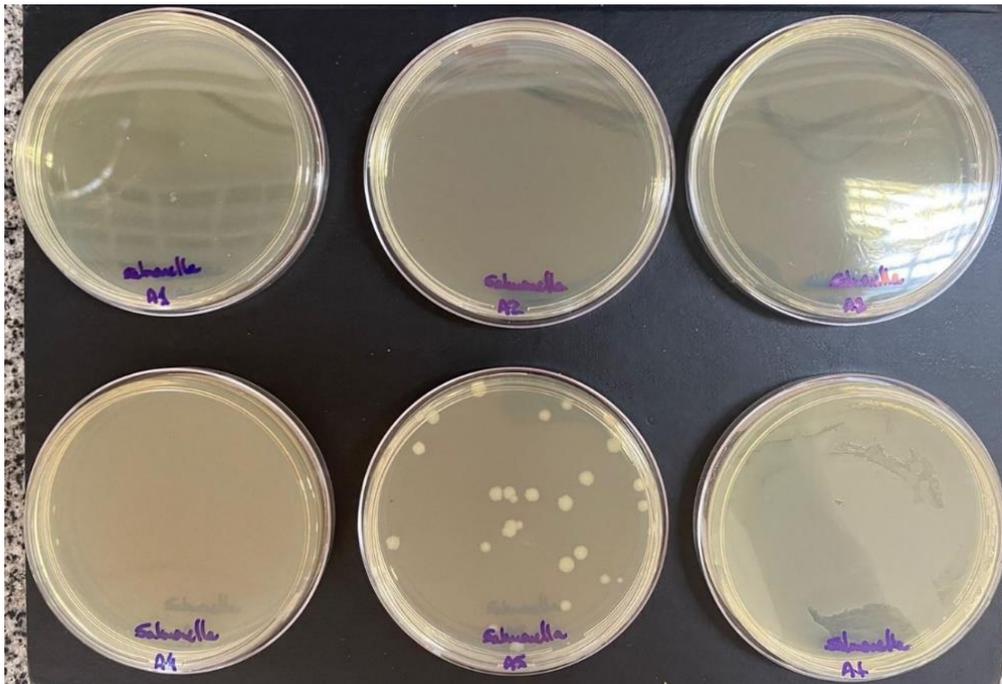
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 114** – CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para *Salmonella enterica*



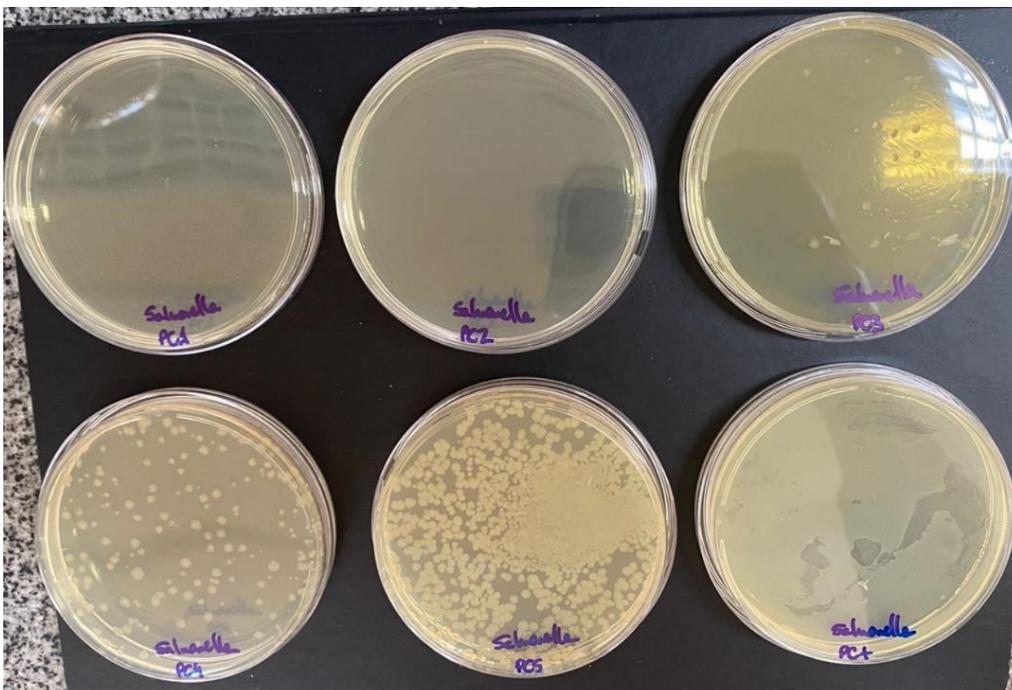
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 115** – CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para *Salmonella enterica*



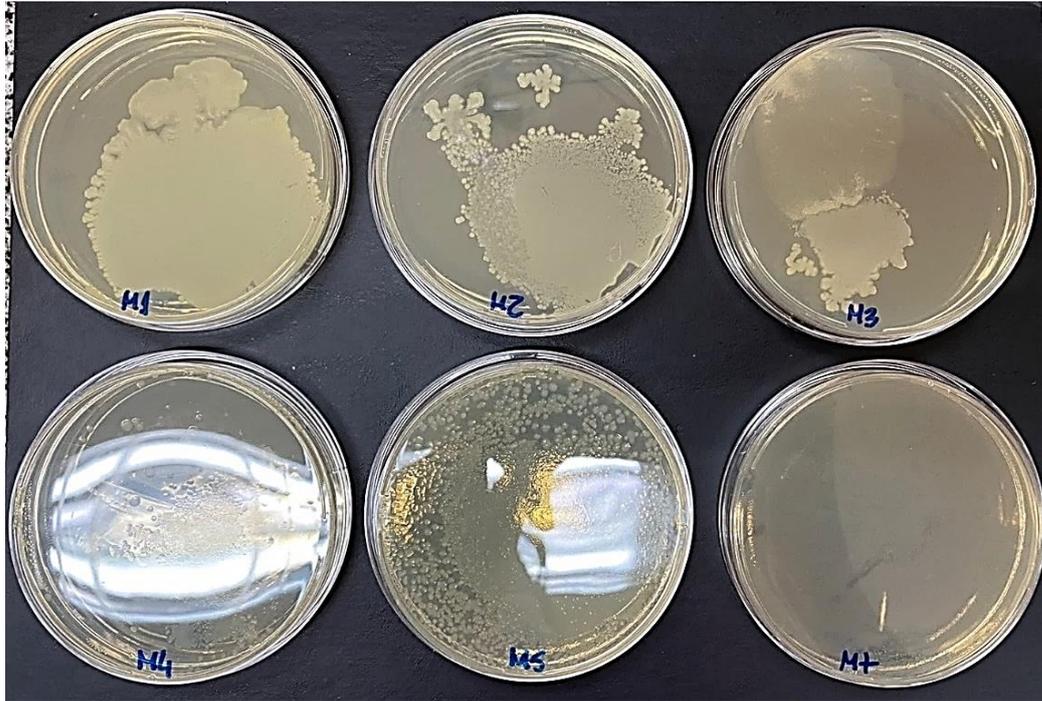
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 116** – CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para *Salmonella enterica*



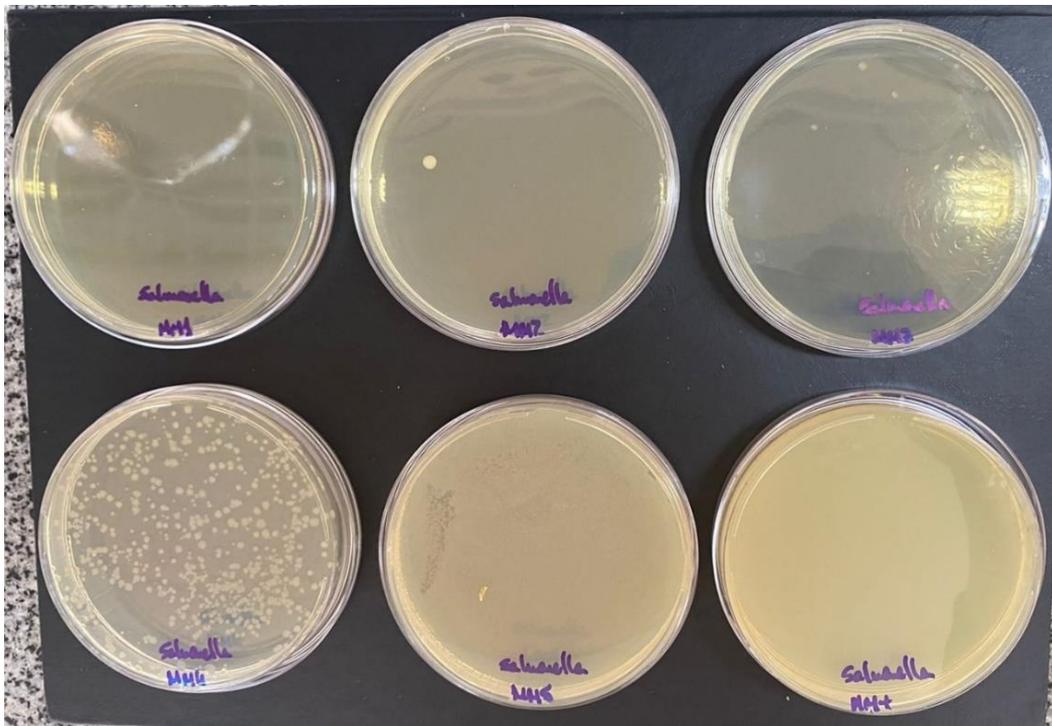
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 117** – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 *in natura* para *Salmonella enterica*



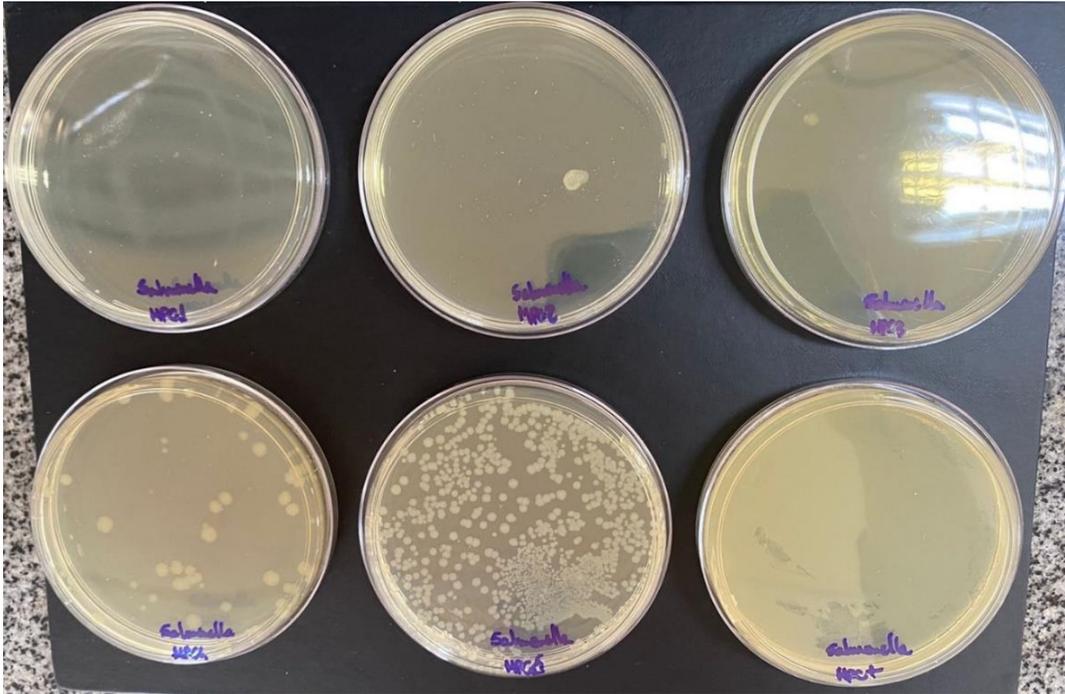
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 118** – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para *Salmonella enterica*



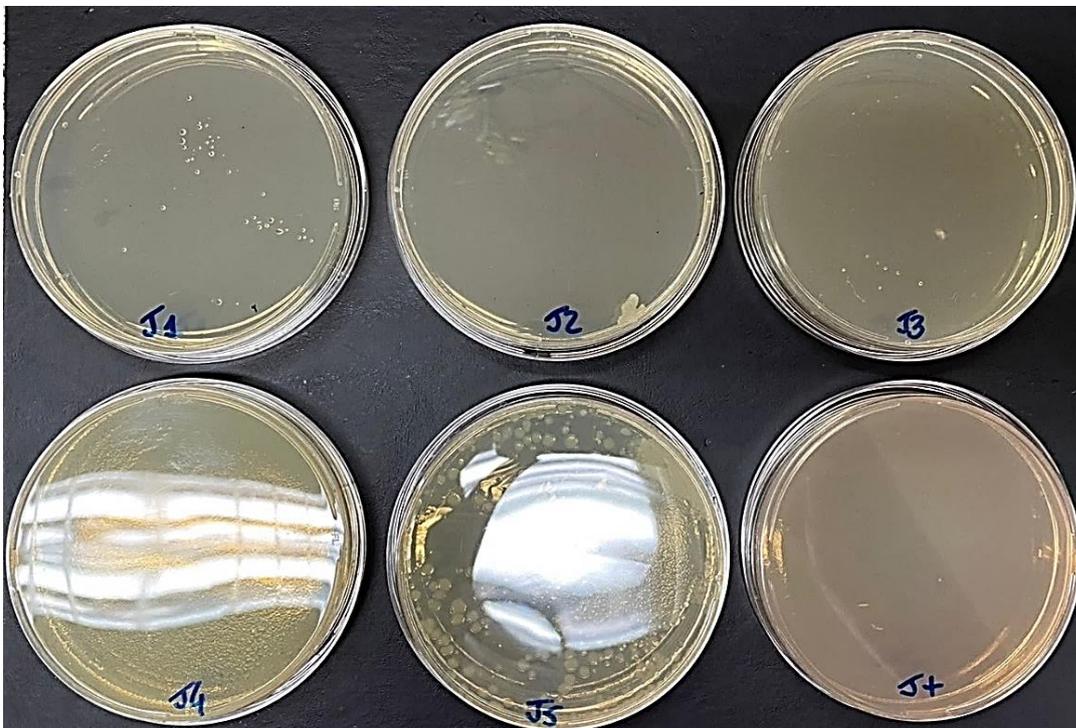
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 119** – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial para *Salmonella enterica*



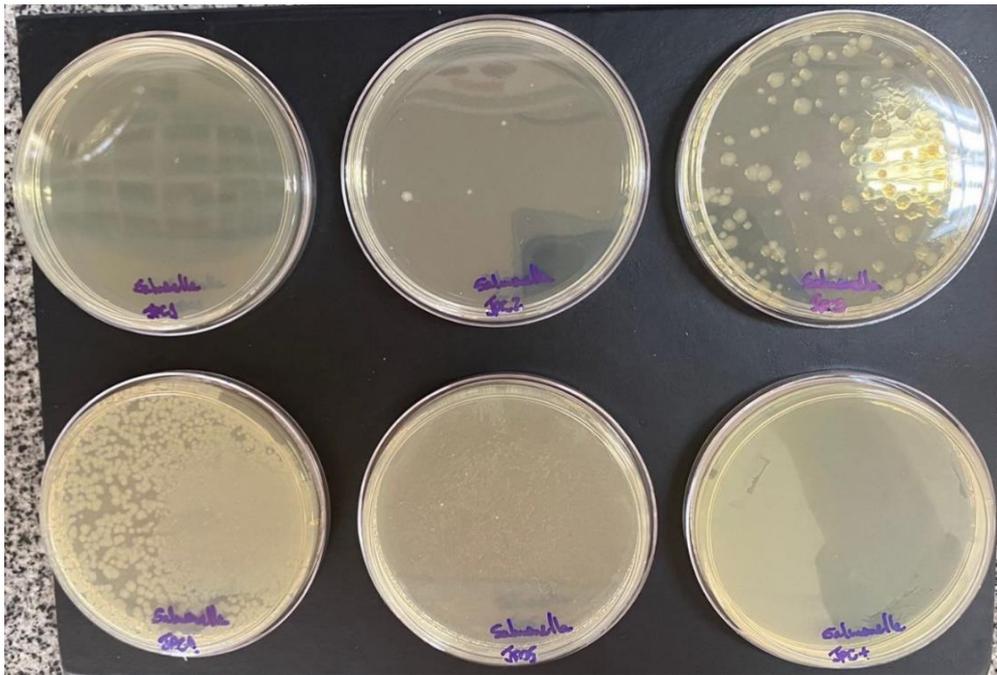
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 120** – CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura* para *Salmonella enterica*



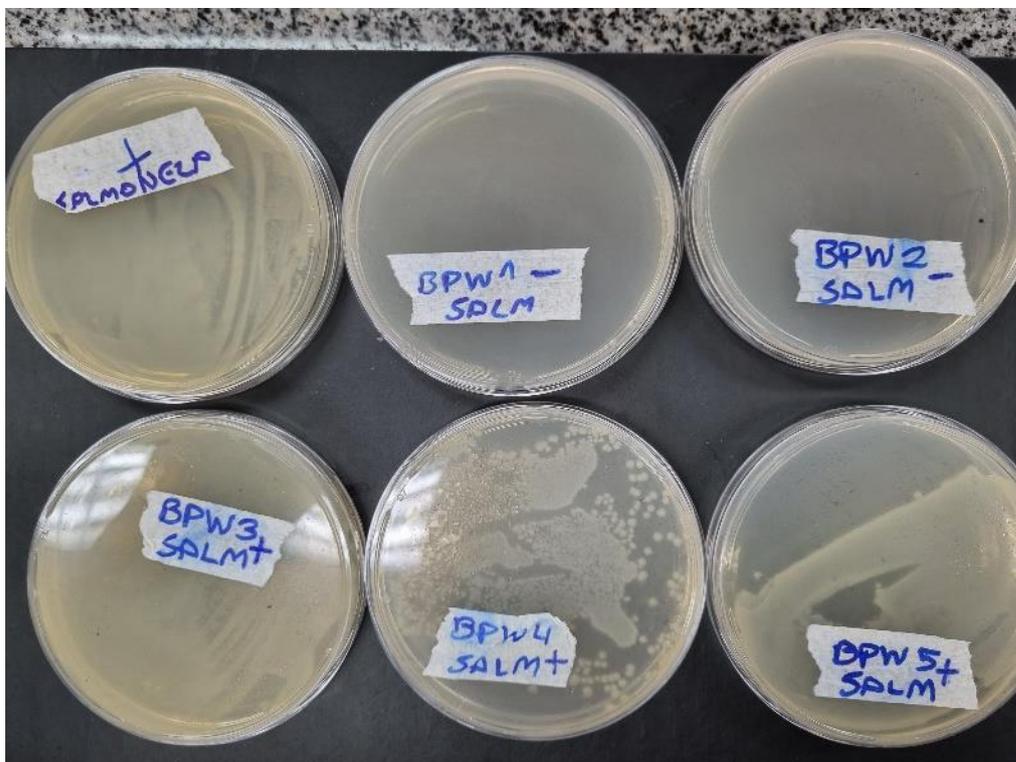
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 121** – CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para *Salmonella enterica*



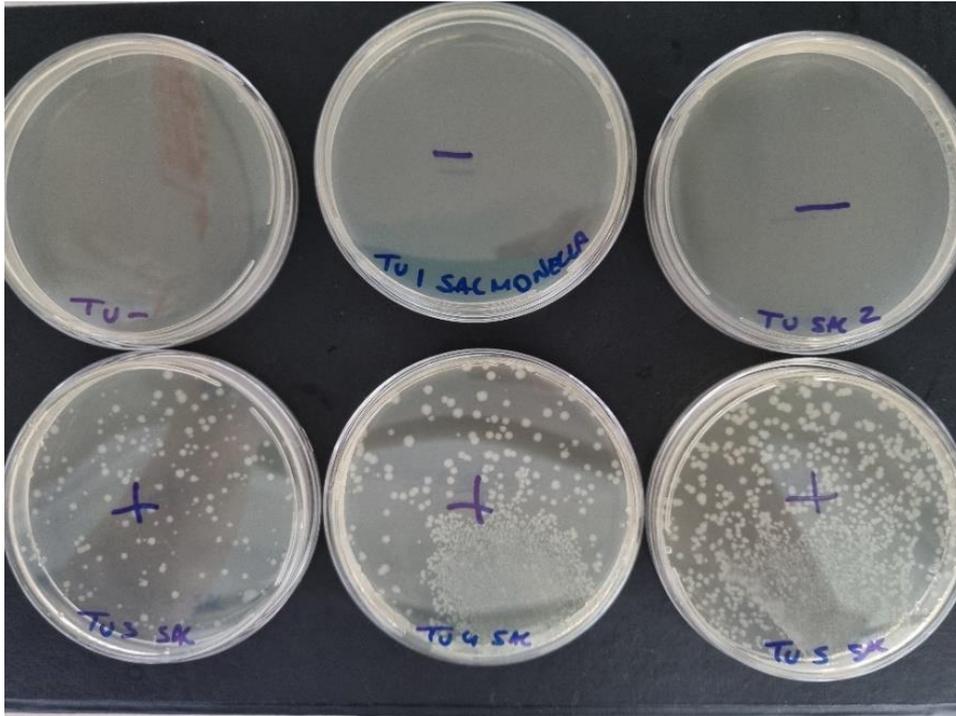
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 122** – CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para *Salmonella enterica*



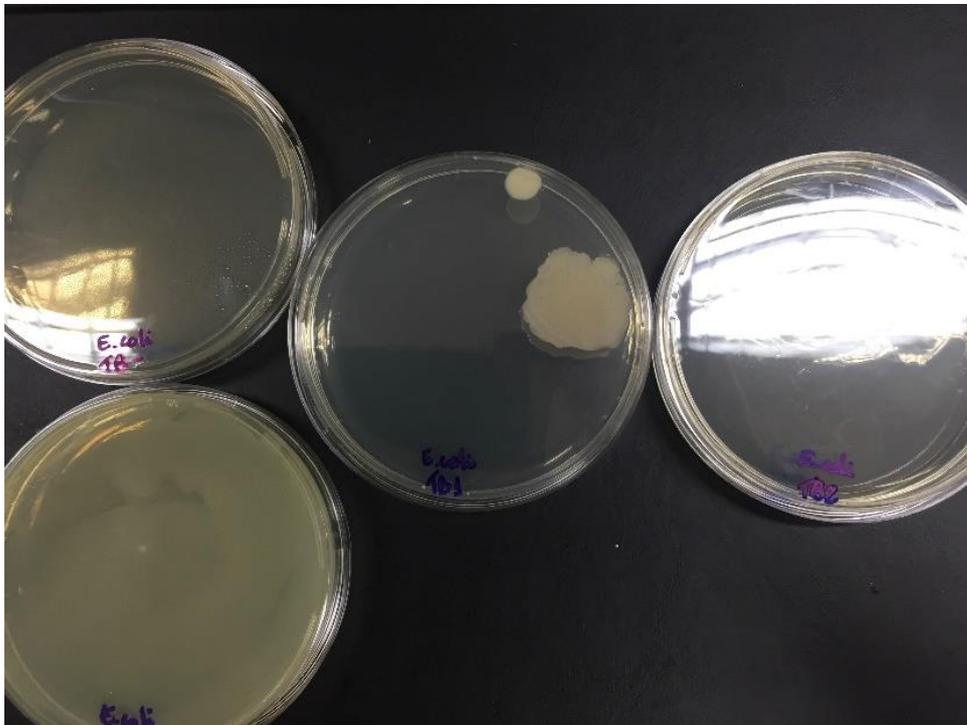
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 123** – CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para *Salmonella enterica*



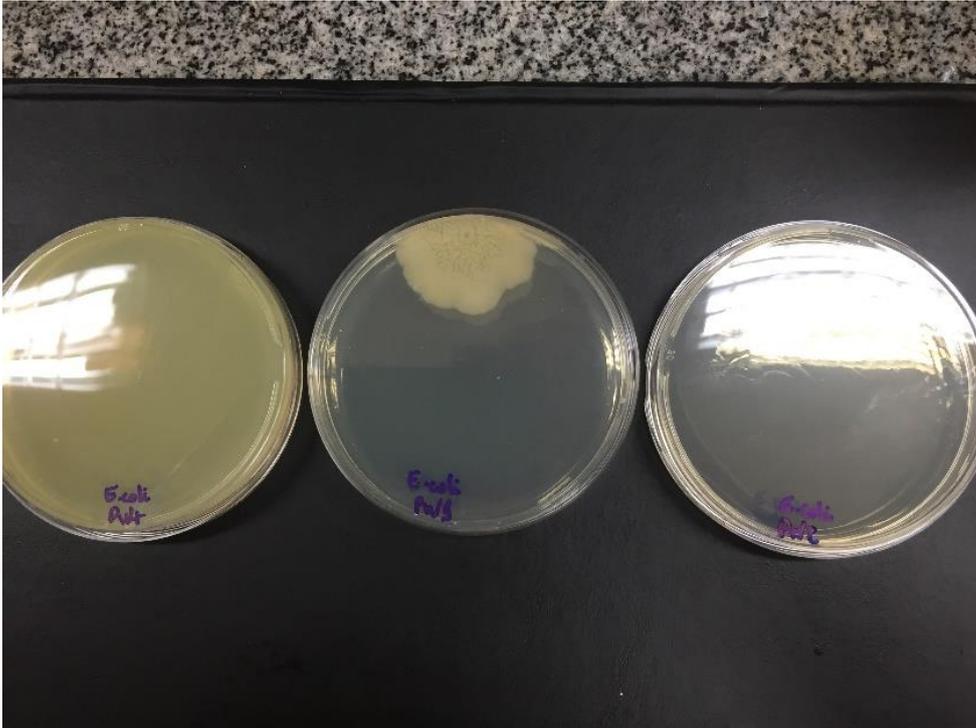
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 124** – CBM do extrato de própolis verde amostra 1 comercial para *Escherichia coli*



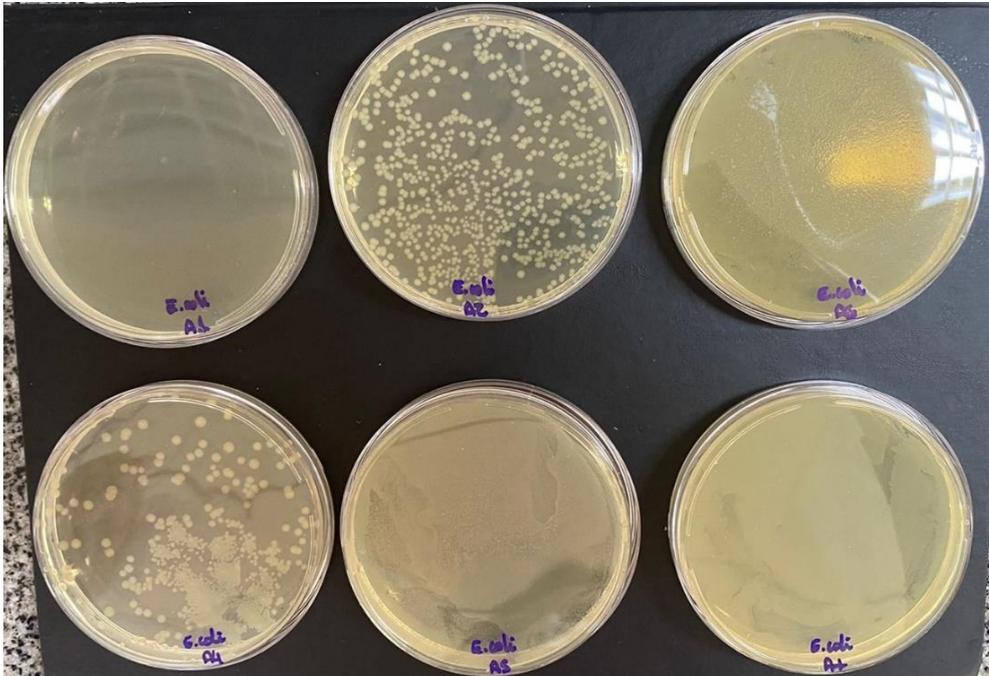
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 125** – CBM do extrato de própolis verde amostra 2 comercial para *Escherichia coli*



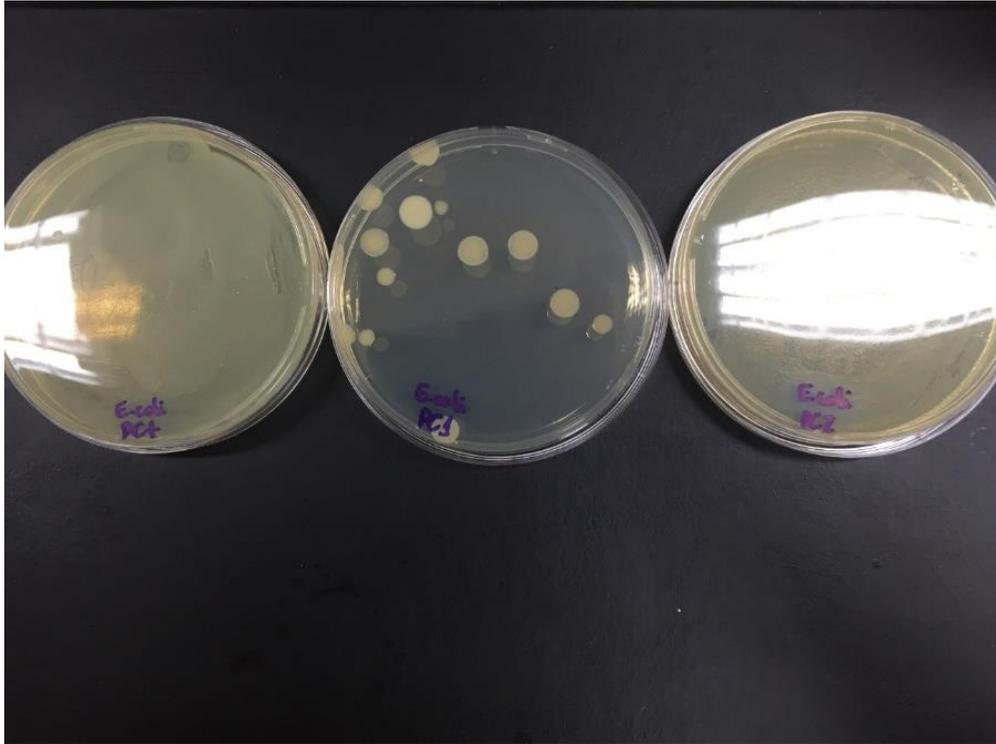
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 126** – CBM do extrato de própolis verde amostra 3 comercial para *Escherichia coli*



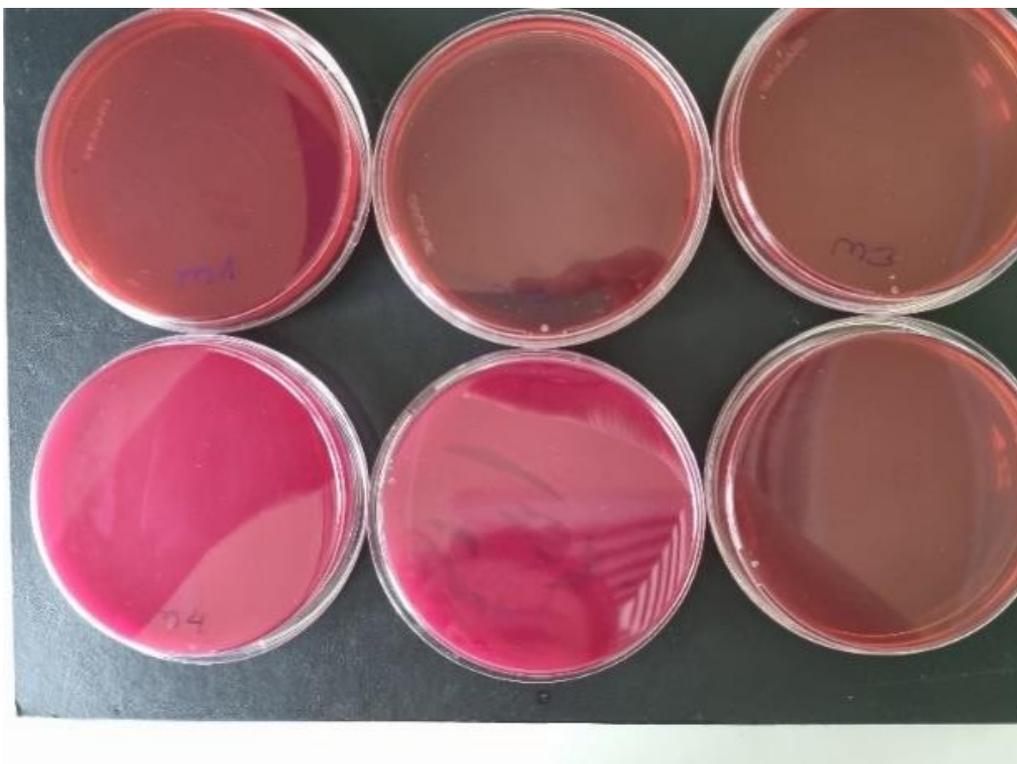
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 127** – CBM do extrato de própolis verde amostra 4 comercial para *Escherichia coli*



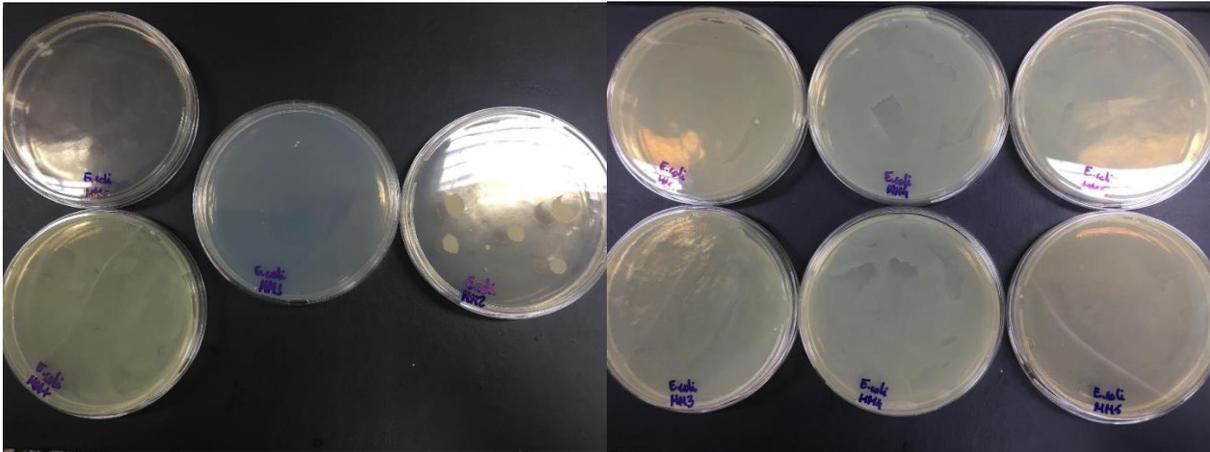
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 128** – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 5 *in natura* para *Escherichia coli*



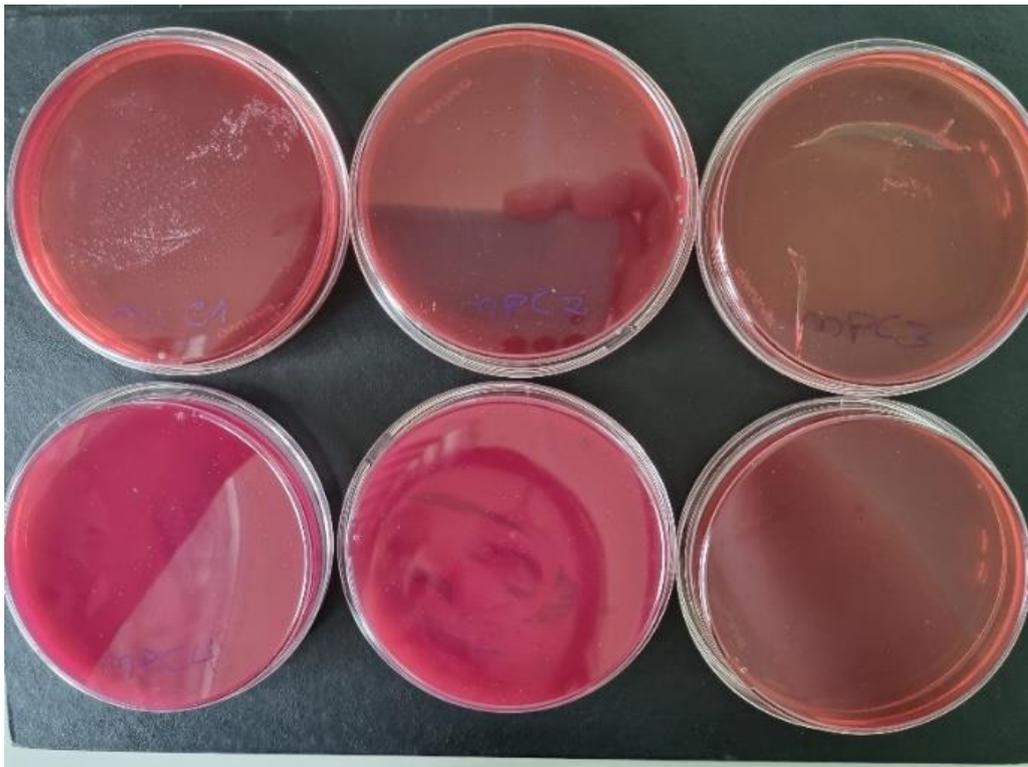
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 129** – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 6 comercial para *Escherichia coli*



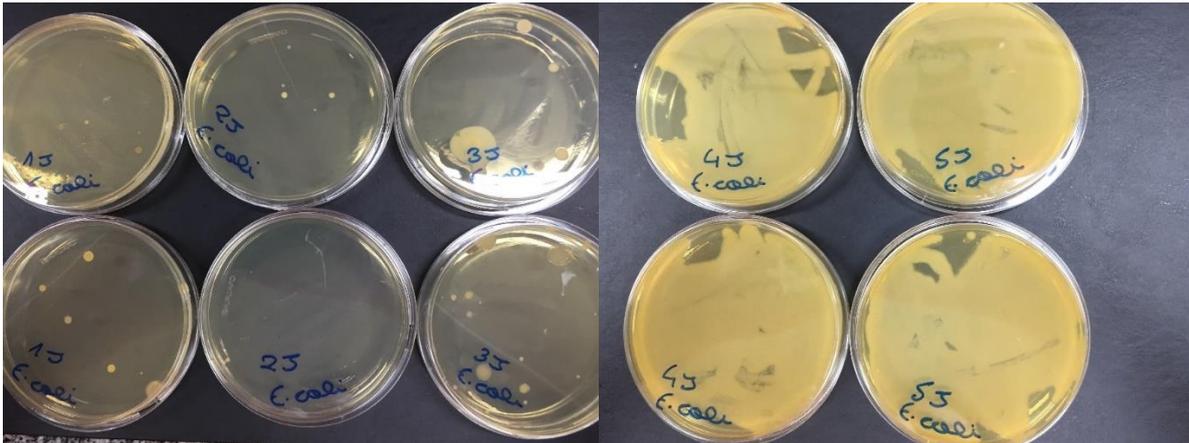
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 130** – CBM do extrato de própolis mandaçaia amostra 7 comercial para *Escherichia coli*



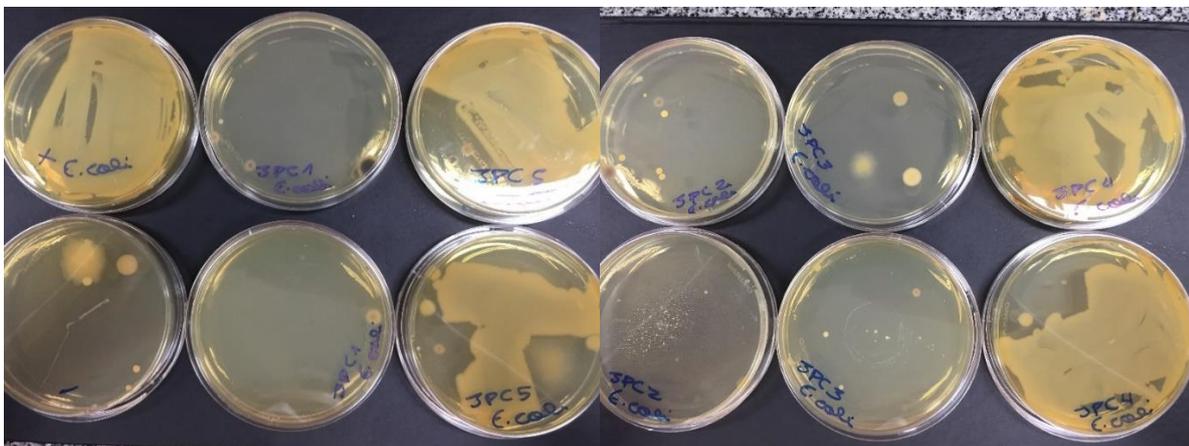
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 131** – CBM do extrato de própolis jataí amostra 8 *in natura* para *Escherichia coli*



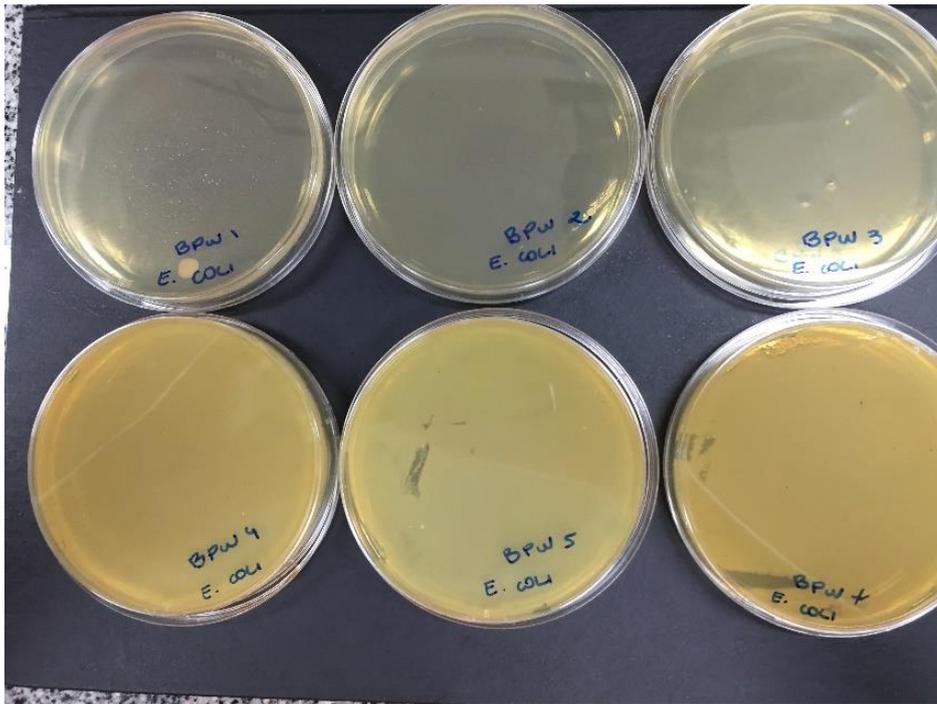
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 132** – CBM do extrato de própolis jataí amostra 9 comercial para *Escherichia coli*



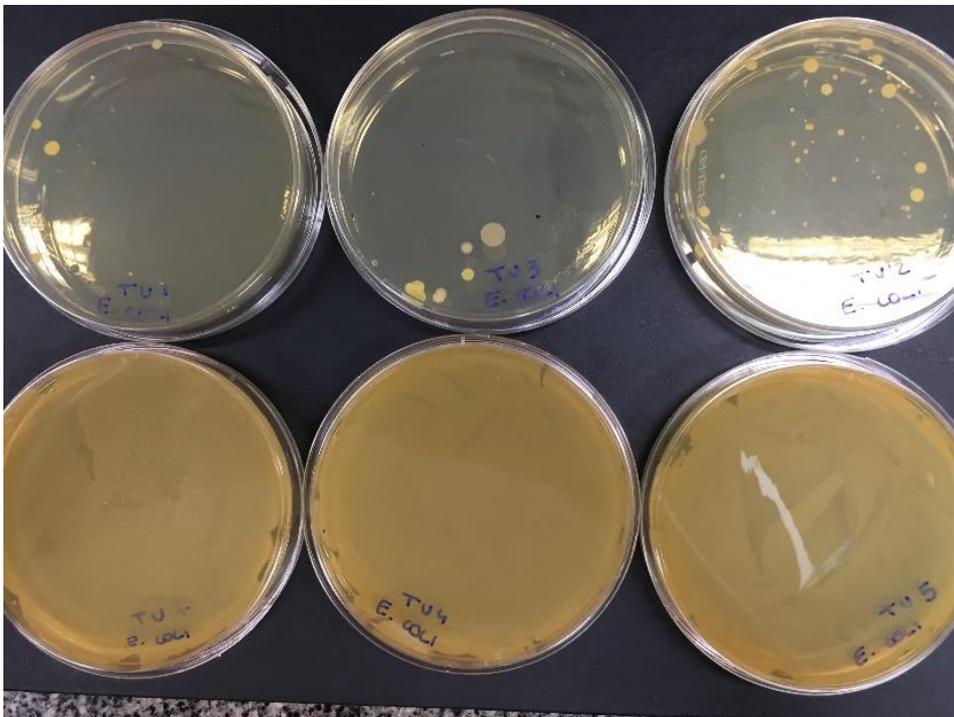
Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 133** – CBM do extrato de própolis heborá amostra 10 comercial para *Escherichia coli*



Fonte: (Autoria própria, 2024).

**IMAGEM 134** – CBM do extrato de própolis tubuna amostra 11 comercial para *Escherichia coli*



Fonte: (Autoria própria, 2024).