

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO MEL DE *Apis mellifera* E O EFEITO SOBRE A PERMEABILIDADE DA MEMBRANA

RITHIELY CONCEIÇÃO SILVA

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais para obtenção do título de Mestre.

**CÁCERES
MATO GROSSO, BRASIL
2022**

RITHIELY CONCEIÇÃO SILVA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO MEL DE *Apis mellifera* E O
EFEITO SOBRE A PERMEABILIDADE DA MEMBRANA**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a Dr^a Carla Galbiati

**CÁCERES
MATO GROSSO, BRASIL
2022**

Walter Clayton de Oliveira CRB 1/2049

S586a	SILVA, Rithiely Conceição. Atividade Antibacteriana do Mel de Apis Mellifera e o Efeito Sobre a Permeabilidade da Membrana / Rithiely Conceição Silva – Cáceres, 2022. 92 f.; 30 cm. (ilustrações) Il. color. (sim) Trabalho de Conclusão de Curso (Dissertação/Mestrado) – Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado Acadêmico) Ciências Ambientais, Faculdade de Ciências Agrárias e Biológicas, Câmpus de Cáceres, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2022. Orientador: Carla Galbiati 1. Atividade Antibacteriana. 2. Permeabilidade da Membrana Externa. 3. Enterococcus Faecalis. 4. Staphylococcus Epidermidis. 5. Helicobacter Pylori. I. Rithiely Conceição Silva. II. Atividade Antibacteriana do Mel de Apis Mellifera e o Efeito Sobre a Permeabilidade da Membrana: . CDU 638.16
-------	---

RITHIELY CONCEIÇÃO SILVA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO MEL DE *Apis mellifera* E O
EFEITO SOBRE A PERMEABILIDADE DA MEMBRANA**

Essa dissertação foi julgada e aprovada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Cáceres, 26 de maio de 2022.

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 AUREA REGINA ALVES IGNACIO
Data: 10/08/2022 12:22:09-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profª Drª Aurea Regina Alves Ignacio
Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT

Documento assinado digitalmente
 DOMINGOS TABAJARA DE OLIVEIRA MARTII
Data: 10/08/2022 15:29:51-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profª Dr. Domingos Tabajara de Oliveira Martins
Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT



Documento assinado digitalmente
 CARLA GALBIATI
Data: 09/08/2022 20:40:58-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profª Drª Carla Galbiati
Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT (Orientadora)

**CÁCERES
MATO GROSSO, BRASIL
2022**

DEDICATÓRIA

Á Deus

Á minha família

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais da Universidade do Estado de Mato Grosso.

A CAPES pelo apoio financeiro, através da concessão da bolsa de mestrado.

A professora Dr^a Carla Galbiati, pela paciência na orientação e parceria.

A todos os professores do Ciências ambientais pelos conhecimentos compartilhados para nossa formação.

A minha família que me incentivou sempre nos meus estudos, principalmente minha mãe Regina, pelo apoio.

Ao meu namorado José Walter por sempre me incentivar e se fazer presente nos meus dias bons e ruins.

As amigas que adquiri durante as atividades no laboratório do Centro de Estudos em Apicultura (Cet^{Apis}) e parceria da Alexandra, Débora, Jessica, Mariana.

Aos meus amigos de faculdade e de mestrado Igor e Karla pela parceria sempre.

Aos amigos do cotidiano que estiveram presentes nessa trajetória.

A todos que de uma forma direta ou indireta colaboraram para a realização deste trabalho.

Finalmente, à Deus, não com menor importância, por ter me iluminado nesta caminhada a cada novo dia.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE FIGURAS	10
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 Mel	16
2.2 Importância econômica do mel	16
2.3 Origem botânica do mel	17
2.4 Composição química do mel	19
2.5 Extração das frações de mel	21
2.6 Propriedades farmacológicas do mel	23
2.7 Características das bactérias patogênicas	25
2.8 Potencial antibacteriano do mel	27
2.9 Mecanismo de ação do mel	30
2.10 Mecanismo de ação de alguns antibióticos	31
2.11 Sinergismo do mel	33
3. MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1 Tipo do estudo	35
3.2 Área de estudo	35
3.3 Mel do estudo	36
3.4 Bactérias e antibióticos	37
3.5 Procedimentos de extração	38
3.6 Concentração Inibitória Mínima (CIM)	39
3.7 Efeito do mel sobre permeabilidade da membrana bacteriana gram positiva: atividade antibacteriana do mel combinado e time kill teste	40

3.8 Análise dos dados.....	41
4. RESULTADOS.....	41
4.1 Concentração inibitória mínima (CIM)	41
4.2 Efeito do mel sobre permeabilidade da membrana bacteriana gram positiva.....	42
4.2.1 Atividade antibacteriana do mel combinado	42
4.2.2 Time-kill teste.....	44
5. DISCUSSÃO	49
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
APÊNDICES.....	78
ANEXOS	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Méis oriundos do Estado de Mato Grosso, Brasil avaliados no estudo.....	37
Tabela 2. Atividade antibacteriana expressa pela inibição do crescimento (%) de <i>E. faecalis</i> por méis, frações e controle positivo isolados e combinados (resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão) após 24 horas de incubação.....	43
Tabela 3. Atividade antibacteriana expressa pela inibição do crescimento (%) (%) de <i>S. epidermidis</i> por méis, frações e controle positivo isolado e combinados (resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão) após 24 horas de incubação.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de ação: Sítios de ação com as diversas classes de antibióticos.	32
Figura 2. Localização geográfica dos municípios da região Centro-Oeste do Brasil selecionados para o estudo.....	36
Figura 3. Esquema do preparo e extração das frações do mel.....	39
Figura 4. Inibição do crescimento das bactérias gram positivas <i>E. faecalis</i> e <i>S. epidermidis</i> por méis ou frações em concentração de 1 mg/mL.	42
Figura 5. Curva de time-kill para <i>E. faecalis</i> exposta ao mel 1 fresco (A) e a fração N-butanol do mel 1 (B), nas concentrações de 80 mg/ mL e controle positivo em 20 µg/mL... ..	45
Figura 6. Curva de time-kill para <i>E. faecalis</i> exposta ao mel 4 fresco (A) e a fração N-butanol do mel 4 (B), nas concentrações de 80 mg/ mL e controle positivo em 20 µg/mL... ..	46
Figura 7. Curva de time-kill para <i>E. faecalis</i> exposta a fração hexano do mel 5, nas concentrações de 80 mg e controle positivo em 20 µg/ml.....	47
Figura 8. Curva de time-kill para <i>S. epidermidis</i> exposta ao mel 3 fresco (A) e sua fração hexânica (B), nas concentrações de 80 mg e controle positivo em 20 µg/ml.....	48
Figura 9. Curva de time-kill para <i>S. epidermidis</i> exposta a fração hexano do mel 4 (A) e N-butanol do mel 4 (B), nas concentrações de 80 mg e controle positivo em 20 µg/ml.....	49

RESUMO

SILVA, Rithiely Conceição. **ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO MEL DE *Apis mellifera* E O EFEITO SOBRE A PERMEABILIDADE DA MEMBRANA.** Cáceres: UNEMAT, 2022. 92 p. (Dissertação - Mestrado em Ciências Ambientais)¹.

Este estudo avalia a atividade antibacteriana do mel de *Apis mellifera* (fresco e frações) isolado e associado com antibióticos na atividade antibacteriana e aumento da permeabilidade da membrana. Os méis avaliados, oriundos do estado de Mato Grosso, dos municípios de Cáceres (mel 1 e 2), Barra do Garças (mel 3), Nossa Senhora do Livramento (mel 4) e Sinop (mel 5), foram selecionados devido maior conteúdo de fenólicos, atividade antioxidante e antibacteriana comparado com outros do Estado, estudados pelo Laboratório do Centro de Estudo de Apicultura (CET_{Apis}). Os 05 méis frescos e suas 03 frações (hexano, acetato de etila e n-butanol) testados totalizaram 20 amostras. As bactérias *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* e *Helicobacter pylori* foram avaliadas pelo método de microdiluição em caldo, com diluição seriada de 1000 a 1,95 µg/mL. O efeito sobre a permeabilidade da membrana foi investigado por microdiluição em caldo, com a combinação de mel ou fração e antibiótico, semelhante a “checkboard”. Para esse estudo, o mel ou fração foi testado nas concentrações seriadas de 80 a 0,15 mg/mL, com o antibiótico (claritromicina/ eritromicina) na concentração de 20 a 0,04 µg/mL. Para avaliar a atividade antibacteriana do mel/ frações no tempo de 2, 4, 8 e 24 H foi utilizada a metodologia Time Kill. Os méis e as suas frações não tiveram atividade antibacteriana até a concentração de 1000 µg /mL para as três bactérias, com média de inibição de 24% para *E. faecalis*, 23,55% para *S. epidermidis* e 64,45% para *H. pylori*. O mel 1 (fresco e fração N-butanol) aumentou a permeabilidade da membrana de *E. faecalis*, na combinação de 80 mg/mL de mel com 20 µg/mL de claritromicina. No entanto, os cinco méis não tiveram efeito sobre a permeabilidade da membrana de *S. epidermidis*. Conclui-se que o mel 1 de Cáceres é promissor para aumentar a atividade antibacteriana do antibiótico sobre *E. faecalis*, ligada à permeabilidade da membrana, possivelmente devido à ação de flavonoide.

Palavras-chave: Atividade antibacteriana; Permeabilidade da membrana externa; *Enterococcus faecalis*; *Staphylococcus epidermidis*; *Helicobacter pylori*

¹ Carla Galbiati - Orientadora, UNEMAT

ABSTRACT

SILVA, Rithiely Conceição. **ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Apis mellifera* HONEY AND THE EFFECT ON MEMBRANE PERMEABILITY**. Cáceres: UNEMAT, 2022. 92 p. (Masters Dissertation in Environmental Sciences)².

This study evaluates the antibacterial activity of *Apis mellifera* honey (fresh and fractions) isolated and associated with antibiotics in the antibacterial activity and increase in membrane permeability. The evaluated honeys, from the state of Mato Grosso, from the municipalities of Cáceres (honey 1 and 2), Barra do Garças (honey 3), Nossa Senhora do Livramento (honey 4) and Sinop (honey 5), were selected due to higher content of phenolics, antioxidant and antibacterial activity compared to others in the State, studied by the Laboratory of the Center for the Study of Beekeeping (CETApis). The 05 fresh honeys and their 03 fractions (hexane, ethyl acetate and n-butanol) tested totaled 20 samples. The bacteria *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* and *Helicobacter pylori* were evaluated by the broth microdilution method, with a serial dilution from 1000 to 1.95 µg/mL. The effect on membrane permeability was investigated by broth microdilution, with the combination of honey or fraction and antibiotic, similar to “checkboard”. For this study, the honey or fraction was tested at serial concentrations of 80 to 0.15 mg/mL, with the antibiotic (clarithromycin/erythromycin) at a concentration of 20 to 0.04 µg/mL. To evaluate the antibacterial activity of honey/fractions at 2, 4, 8 and 24 h, the Time Kill methodology was used. The honeys and their fractions did not have antibacterial activity up to a concentration of 1000 µg /mL for the three bacteria, with a mean inhibition of 24% for *E. faecalis*, 23.55% for *S. epidermidis* and 64.45% for *H. pylori*. Honey 1 (fresh and N-butanol fraction) increased the membrane permeability of *E. faecalis*, in the combination of 80 mg/mL of honey with 20 µg/mL of clarithromycin. However, the five honeys had no effect on *S. epidermidis* membrane permeability. It is concluded that honey 1 from Cáceres is promising to increase the antibacterial activity of the antibiotic against *E. faecalis*, linked to membrane permeability, possibly due to the flavonoid action.

Keywords: Antibacterial activity; Outer membrane permeability; *Enterococcus faecalis*; *Staphylococcus epidermidis*; *Helicobacter pylori*

² Carla Galbiati - Major Professor, UNEMAT.

1. INTRODUÇÃO

O mel de abelhas é resultante de néctar, polen e/ou exsudatos de plantas. As abelhas combinam esse material com substâncias próprias, então, depositam nos favos para seu amadurecimento (ALMASAUDI, 2021; HABIB *et al.*, 2014; RAJS *et al.*, 2022). Segundo a origem botânica o mel pode ser monofloral, originado predominantemente por uma mesma família, gênero ou espécie e o mel Multifloral, procedente de várias fontes florais (ÖZBAY; ARSLAN; GÖRÜR, 2022). O mel é composto principalmente por carboidratos e água, bem como ácidos orgânicos, enzimas, proteínas, vitaminas, aminoácidos, minerais, lipídios, grãos de pólen, pigmentos (carotenoides e outros), produtos da reação de Maillard, compostos voláteis, fenólicos e flavonoides (AVILA *et al.*, 2018; BRASIL, 2000; BRUGNEROTTO *et al.*, 2019; CODEX ALIMENTARIUS, 1987; DE-MELO *et al.*, 2017; NASCIMENTO *et al.*, 2018).

Os compostos presentes no mel conferem diversas propriedades farmacológicas, as quais vem do conhecimento popular (ALVES *et al.*, 2021; CHEUNG; GERBER, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2009; SANZO; DEL RIO; VÁZQUEZ, 2001; TILAHUN *et al.*, 2021). Recentemente estudos comprovam as propriedades farmacológicas do mel, dentre as quais destaca-se a atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante (ELBARGISY, 2020). Os compostos presentes no mel que conferem tais propriedades estão relacionados com as fontes botânicas visitadas pelas abelhas, que por sua vez, sofre a influência da flora regional (COOPER, 2014; DE-MELO *et al.*, 2017; NASCIMENTO *et al.*, 2018). Outros fatores são importantes como o ano, origem, número de cachos, que se relacionam com o perfil químico do mel (OLAVE-OLAVE *et al.*, 2021).

Uma das propriedades farmacológicas mais estudada do mel é a antibacteriana. Alguns dos estudos avaliaram o mel de *Apis mellifera*, de diferentes localidades, que apresentou concentrações de inibição distintas sobre bactérias gram positivas e negativas. Para bactérias gram positivas, o mel polifloral, oriundo do Chile, teve concentração inibitória de 18,7% v/v sobre *Staphylococcus epidermidis* (OLATE; OLAVE, 2021).

O mel de regiões da Algeria e do Estado do Amazonas, Brasil, tiveram MIC de 2,5-5% p/v e 10% v/v, respectivamente, sobre *Enterococcus faecalis* (BOUACHA; AYED; GRARA, 2018; CRUZ *et al.*, 2014). A atividade antibacteriana do mel sobre gram negativas, verificada no mel de Minas Geras, Brasil, teve MIC de 3,125 a 12,5% (p/v) sobre *Escherichia coli* (VIANA; CARMO; BASTOS, 2018). O mel de regiões da Etiópia teve MIC de 12.5 a 50% v/v sobre *Pseudomonas aeruginosa* (WASIHUN; KASA, 2016). O mel da Amazônia, Brasil, teve MIC de 0,7%v/v sobre *Chromobacterium violaceum* (CRUZ *et al.*, 2014). O mel tem atividade antibacteriana sobre outras espécies, diferentes das descritas anteriormente (BOORN *et al.*, 2010; CIANCIOSI *et al.*, 2018).

A atividade antibacteriana do mel pode ser explicada pela sua acidez natural, alto efeito osmótico, e a presença de peróxido de hidrogênio (KWAKMAN; ZAAT, 2012; MOLAN, 1992; WHITE; SUBERS; SCHEPARTZ, 1963), metilglioxal (ADAMS *et al.*, 2008), compostos voláteis (MANYI-LOH; CLARKE; NDIP, 2012), defensina-1(KWAKMAN; ZAAT, 2012) e polifenóis, como os flavonoides e ácidos fenólicos (BAEK *et al.*, 2015; GUO *et al.*, 2020).

Alguns dos compostos atuam em diferentes mecanismos sobre bactérias, como exemplo, os polifenóis (ácidos fenólicos e flavonoides), agem sobre estresse oxidativo, inibição de peptidoglicano, síntese de ribossomo e permeabilidade da membrana (ALMASAUDI, 2021). Neste sentido, estudos demonstraram que o mel age sobre a membrana de bactérias, como méis Húngaros que induziram lise de células bacterianas devido ao rompimento da membrana celular, em gram negativas e positivas (BALAZS *et al.*, 2021). O mel de Manuka, Nova Zelândia, agiu sobre a cadeia de transporte de elétrons da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, induzindo a despolarização e permeabilização da membrana (BOUZO *et al.*, 2020).

O mecanismo de ação do mel sobre a permeabilidade da membrana de bactéria, indica que a combinação do mesmo com antibióticos, que não agem sobre a lise da membrana, como os macrolídeos que agem na síntese proteica da bactéria (Figura 1) (RANG *et al.*, 2012) irá aumentar devido a redução dessa barreira à penetração do antibiótico. Isso foi constatado para o mel de Manuka, onde a combinação com rifampicina demonstrou sinergismo sobre isolados de

S. aureus ou aumento na suscetibilidade aos medicamentos (LIU *et al.*, 2015). Esses autores observaram que cepas resistentes a algum antibiótico se tornaram sensíveis, quando o antibiótico foi combinado com mel. Essa combinação de antibióticos e mel pode levar à diminuição da concentração inibitória mínima do antibiótico (JAKTAJI; GHALAMFARSA, 2021).

A diminuição da concentração de antibióticos com o uso de mel é uma forma de reduzir os gastos com tratamentos convencionais, menor quantidade de antibióticos, rapidez na cura e redução nas hospitalizações (ABDERRAHIM *et al.*, 2019; ALMASAUDI, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2017). O feito sinérgico advindo da combinação de antibióticos e mel atende ao objetivo 3 (saúde e bem-estar) do Desenvolvimento Sustentável (ODS) da agenda 2030, proporcionando acesso a medicamentos a preços mais acessíveis para todos (Nações Unidas no Brasil, 2022).

A atividade antibacteriana do mel do Brasil foi confirmada para algumas bactérias, porém, sem registro do modo de ação até o momento, como o mel de Santarém, Pará, que teve a atividade antibacteriana sobre *Staphylococcus epidermidis* (SILVA; SILVA, 2020). O mel da Amazônia que teve a atividade antibacteriana sobre *Enterococcus faecalis* (CRUZ *et al.*, 2014) e o mel de Mato Grosso sobre *Helicobacter pylori* (ALEIXO *et al.*, 2018), sem registro do possível modo de ação antibacteriano.

Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antibacteriana do mel de *Apis mellifera* (fresco e frações) isolado e associado com antibióticos na atividade antibacteriana e aumento da permeabilidade da membrana.

Méis húngaros, por meio do ensaio de time-kill e estudo da degradação da membrana agiram contra *Streptococcus pneumoniae* (gram positiva) e *Pseudomonas aeruginosa* (gram negativa) na segunda hora. Os méis foram capazes de provocar lise da célula bacteriana através do rompimento da membrana das bactérias gram positivas e gram negativas (BALAZS *et al.*, 2021). Neste sentido a hipótese deste estudo é que o mel apresenta atividade antibacteriana relacionada ao aumento da permeabilidade da membrana, proporcionando maior atividade dos antibióticos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Mel

O mel de abelhas é resultante de néctar, polen e/ou exsudatos de plantas. As abelhas combinam esse material com substâncias próprias, então, depositam nos favos para seu amadurecimento (ALMASAUDI, 2021; HABIB *et al.*, 2014; RAJS *et al.*, 2022).

O mel produzido pelas abelhas é consumido pela humanidade a muito tempo, começando através dos egípcios no antigo Egito a aproximadamente 5500 anos Ac. Os egípcios utilizavam o mel como oferenda aos Deuses, para embalsamamento e tratamento de feridas. Além do Egito o mel era usado na Grécia, Roma e na medicina tradicional chinesa e Ayurveda (KUROPATNICKI; KŁÓSEK; KUCHARZEWSKI, 2018).

Mais recentemente, o mel é consumido em diversas partes do mundo. Os principais usos do mel são como medicamento, alimento, adoçante e cosmético. As formas de uso incluem tratar doenças como diarreia, gripe, garganta inflamada e outras do sistema respiratório, coceira, alergia, tratar feridas, proteção da pele do frio, ingrediente de sobremesa e demais refeições (ALVES *et al.*, 2021; CHEUNG; GERBER, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2009; SANZO; DEL RIO; VÁZQUEZ, 2001; TILAHUN *et al.*, 2021).

2.2 Importância econômica do mel

A produção mundial de mel girou em torno de 1.852.598 toneladas no ano de 2019, onde a China representa o maior produtor (cerca de 444.100 toneladas) e exportador de mel, com preços mais acessíveis. O segundo maior produtor é a Turquia (109.330 toneladas) e o terceiro a Argentina (Entre 50.000 e 80.000 toneladas). O Brasil, mesmo com seu alto potencial apícola é o décimo primeiro maior produtor, com cerca de 46 mil toneladas. Apesar da Nova Zelândia não ser um dos principais produtores de mel do mundo é o que tem uma excelente

competitividade de mercado, devido diversas pesquisas sobre suas atividades biológicas. O país é o segundo maior exportador e com alto valor de mercado (VIDAL, 2021).

O maior produtor de mel no Brasil foi o Paraná, com uma produção de 7.844.255 kg no ano de 2020. O segundo foi o Rio Grande do Sul, com 7.466.815 kg, o terceiro foi o Piauí, com 5.672.514 kg e o que menos produziu foi o Estado do Acre, com 4.574 kg (IBGE, 2020).

O Brasil vem ganhando um espaço muito importante no setor de exportação do mel natural no mundo. Entre os anos de 2016 e 2020, chegou a exportar uma receita de US\$ 475,6 milhões e cresceu 1,7% no período. Em 2021 essa exportação aumentou para uma receita US\$ 107,7 milhões, durante os seis primeiros meses, um crescimento de 174% quando comparado aos mesmos meses do ano de 2020 (US\$ 39,3 milhões). Os principais exportadores de mel brasileiro, atualmente, são os Estados Unidos, Alemanha e Canadá, juntos somam 92,5% do total de mel exportado pelo país (APEXBRASIL, 2021).

A produção de mel é uma fonte de renda no campo, para pequenos produtores e uma atividade que demanda poucos custos (SILVA *et al.*, 2020). No Norte de Minas Gerais houve um aumento da produção de mel e como consequência teve geração de empregos no campo. Assim como, maior participação de jovens e mulheres na apicultura (ABELHA, 2017).

Além disso, a apicultura é uma atividade sustentável e essencial, uma vez que as abelhas realizam a polinização de plantas, vindo corroborar e proporcionar um aumento da produção agrícola (CONAP, 2022).

2.3 Origem botânica do mel

A origem botânica do mel é identificada pela melissopalínologia, a qual estuda o tipo de pólen contido no mel. Essa identificação ocorre por análise microscópica do pólen no mel, o que permite obter evidências de sua origem botânica e localização geográfica (BALKANSKA; STEFANOVA; STOIKOVA – GRIGOROVA, 2020).

A identificação dos tipos de pólen presentes no mel ocorre a partir da análise qualitativa e quantitativa. A qualitativa avalia os tipos polínicos, através da sua morfologia e a quantitativa é realizada por meio da contagem dos grãos de pólen. Dependendo da frequência do pólen no mel são classificados em pólen dominante (PD > 45%); pólen acessório (PA 16% a 45%); pólen isolado importante (PII 3% a 15 %) e pólen isolado ocasional (PIO menor que 3%) (COSTA *et al.*, 2015).

A classificação do mel floral é monofloral, originado predominantemente por uma mesma família, gênero ou espécie, ou mel multifloral, procedente de várias fontes florais, sem a predominância de nenhuma espécie com frequência inferior a 45% (ÖZBAY; ARSLAN; GÖRÜR, 2022).

Méis do Brasil foram estudados quanto sua origem floral em diversas regiões, na região Centro-Oeste, no Pantanal de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul houve maior potencial para produção de mel multifloral. As plantas utilizadas na maioria dos méis, tanto para méis multiflorais quanto monoflorais, foram *Curatella americana* e *Myracrodruon urundeva* (LUZ; CHAVES; CANO, 2021). Na Região Nordeste, os méis da Bahia foram multiflorais, o perfil polínico foi de *Mimosa tenuiflora*, *Vernonanthura condensata*, *Bidens*, *Hyptis*, *Amaranthus spinosus*, *Schefflera morototoni* e *Serjania pernambucensis* (SANTOS *et al.*, 2019). No Sudeste, o mel de São Paulo foi classificado majoritariamente como multifloral, composto principalmente pelas espécies Arecaceae (*Attalea* e *Euterpe/Syagrus*), Asteraceae (*Mikania cordifolia*), Fabaceae (*Machaerium*), Rutaceae (*Zanthoxylum*) e Sapindaceae (*Cupania oblongifolia*). (BOSCO; LUZ, 2017). Na região Norte, nos estados do Amazonas, Pará, Rondônia e Roraima foram citados na maioria dos méis os tipos polínicos das espécies *Cecropia*, *Tapirira guianensis*, *Byrsonima* e *Miconia* (FREITAS; NOVAIS, 2014). No Sul do Brasil, no Rio Grande do Sul o mel foi multifloral com contribuição polínica das espécies *Schinus terebenthifolia*, *Ilex* sp., *Syagrus romanzoffiana*, Asteraceae, *Clethra scabra*, *Sebastiania* sp., *Eucalyptus* sp., *Mimosa* sp. e *Eugenia* sp. (RADAESKI; SILVA; BAUERMANN, 2019).

A origem botânica monofloral de alguns méis estrangeiros foram pertencentes *Acacia mangium*, na Malásia, Iran, Hungria, China, Coreia e

Turquia. No Peru o mel monofloral foi de *Prosopis pallida*, na Nova Zelândia de *Leptospermum scorparium* e na Austrália e Itália de *Eucalyptus* sp. Mel multifloral foram encontrados na Polônia/ Podkarpacie, Portugal, Grécia, México, Índia/ Shilong, Índia/ Mawsynram, Índia/ Tezpur, Argentina, Argélia/ Babors Kabylia, Estônia e Turquia/ Mesudiye (BECERRIL-SÁNCHEZ *et al.*, 2021).

A origem botânica do mel pode mudar em função da origem geográfica e a flora de cada região ou localidade.

2.4 Composição química do mel

O mel é composto principalmente por carboidratos e água, bem como ácidos orgânicos, enzimas, proteínas, vitaminas, aminoácidos, minerais, lipídios, grãos de pólen, pigmentos (carotenoides e outros), produtos da reação de Maillard, compostos voláteis, fenólicos e flavonoides (AVILA *et al.*, 2018; BRASIL, 2000; BRUGNEROTTO *et al.*, 2019; CODEX ALIMENTARIUS, 1987; DE-MELO *et al.*, 2017; NASCIMENTO *et al.*, 2018).

Os carboidratos são componentes majoritários em mel, inclui uma variedade de açúcares, podem ser monossacarídeos frutose (levulose), bem como glicose (dextrose), sacarose e maltose e dissacarídeos oligossacarídeos (SARANRAJ; SIVASAKTHI, 2018).

Os compostos fenólicos são os compostos mais comuns no mel e são metabolitos secundários das plantas, dentre eles destacam-se os ácidos fenólicos e os flavonoides (ISTASSE *et al.*, 2016).

Dentre os compostos fenólicos encontrados em méis brasileiros, no mel de Rio Grande do Sul foram identificados os ácidos gálico, protocatecuico, p-cumárico, cinâmico e os flavonoides miricetina e quercetina (NASCIMENTO *et al.*, 2018). No mel do Nordeste paraense, foram encontrados os ácidos gálico, ferrúlico, p-cumárico, vanílico, m-cumárico, o-cumárico, trans-cinâmico e o flavonide quercetina, (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Em Minas Gerais, os fenólicos foram os ácidos Gálico, Protocatecuico, p-OH-benzóico, Cafeico, vanílico, 2,4-diOHbenzóico, p-cumárico, Ferúlico, o-cumárico, m-cumárico, 2,4-diMeObenzóico, p-metoxi-benzóico, Cinâmico e os flavonoides Tricetina,

Narigenina, Crisina, Quercetina, Canferol, Apigenina (PEREIRA *et al.*, 2010). Os ácidos gálico, protocatecuico, p-cumárico, vanílico, m-cumárico, o-cumárico, ferúlico, cinâmico e o flavonoide quercetina foram comuns entre 2 ou mais méis nestes estudos. No mel de São Paulo houve a identificação do flavonoide morina (LIANDA; CASTRO, 2008).

Dos compostos fenólicos presentes em méis estrangeiros, na Malásia foram os ácidos fenólicos cafeico, salicílico e os flavonóides luteolina, hesperetina, kaempferol, apigenina, 3,7,4'-trihidroxiavona, naringenina, crisina, fisetina, vitexina, isoorientina e xantohumol (CHEW *et al.*, 2018). Em méis de origem Italiana os ácidos fenólicos foram identificados como cafeico e p-cumáricos e os flavonóides quercetina, kaempferol, naringenina, crisina e pinocembrina (ISTASSE *et al.*, 2016). Nos méis da Romênia foram identificados os ácidos 3,4-di-hidroxibenzóico, p-hidroxibenzóico, clorogénico, cafeico, siríngico, p-ácidos cumárico, ferúlico e transcinâmico e os flavonoides rutina, quercetina, kaempferol, isorhamnetina, apigenina, pinocembrina, galangina, crisina e pinostrobin (CIUCURE; GEANA, 2019). No mel da China foram encontrados 21 compostos fenólicos, dentre os quais os ácidos fenólicos cafeico, vanílico, ferúlico e os flavonoides luteolina, kaempferol e pinocembrina e outros (GUO *et al.*, 2020). Dos compostos fenólicos, o ácido cafeico e o flavonoide kaempferol estiveram presentes em todos os méis.

Os ácidos orgânicos identificados no mel de Santa Catarina, Brasil foram ácido maleico, malônico, fórmico, cítrico, málico, glicólico, láctico, glucônico, succínico, glutárico, acético e propiônico (BRUGNEROTTO *et al.*, 2019). Na Malásia foram encontrados os ácidos orgânicos glucônico, ácido succínico, ácido hidroxibenzóico, ácido hidroxidecanóico, ácido abscísico e ácido hidroxiocetânico (CHEW *et al.*, 2018).

Os minerais de méis provenientes do Cerrado de São Paulo, e da Romênia foram identificados cálcio (Ca), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn), magnésio (Mg) e ferro (Fe) (ANACLETO; MARCHINI, 2004; ALDA *et al.*, 2017).

As proteínas identificadas no mel Polonês foram Major Royal Jelly Proteínas 1 e Alfa-glucosidase (BOCIAN *et al.*, 2019). Em diferentes tipos de mel da Espanha foram encontrados 24 tipos de aminoácidos livres, entre eles,

prolina, aspartato, glutamato, ácido α -aminoadípico, asparagina, serina, glutamina, histidina, homoserina, glicina, treonina, arginina, alanina, taurina, gaba, tirosina, metionina, valina, triptofano, fenilalanina, isoleucina, leucina, ornitina e lisina. Sendo a prolina, o primeiro relato dos aminoácidos ácido α -aminoadípico e homoserina (PARAMAS *et al.*, 2006). As enzimas são proteínas importantes na composição do mel, dentre elas, a α -glucosidase (invertase) e α - e β -amilase (diástase) (VORLOVA; CELECHOVSKA, 2002).

Para vitaminas solúveis em água em méis de diferentes origens botânicas da Itália, foram reportadas as vitaminas B2, B3, B5 e C (CIULU *et al.*, 2011).

Os fitormônios do mel de províncias da China foram identificados e os mais importantes foram 14 citocinina, 8 giberelina, 5 brassinosteroides, ácido indolacético, ácido indole-3-butírico, ácido abscísico, ácido salicílico, ácido jasmônico, jasmonoyl-leucina e jasmonoyl-fenilalanina (WANG *et al.*, 2017).

No mel são encontrados diversos compostos voláteis, com variada composição química, pouco concentrados em uma matriz de açúcar. No mel espanhol de alecrim foram identificados 122 compostos voláteis, dentre os quais álcoois, cetonas, aldeídos e ésteres. Nesse estudo foram usadas três técnicas de destilação e extração simultânea e análise por cromatografia gasosa-espectrometria de massa (CASTRO-VDZQUEZ; PEREZ-COELHO; CABEZUDO, 2003). No mel de Goldcrest, da África foram encontrados 16 compostos voláteis, dentre os quais ácido acético, 1-propanol, cloridrato de metanamina, 2-propanona, butanal, 2,3-di-hidro-3,5-di-hidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona em maiores quantidades (MANYI-LOH; CLARKE; NDIP, 2012).

2.5 Extração das frações de mel

Diversas frações e técnicas de extração já foram estudadas nos diferentes tipos de méis, oriundos de vários lugares do mundo. Seis variedades de mel obtidas de diferentes localidades na África do Sul foram extraídas usando seguintes processos: o mel bruto foi diluído com água destilada estéril e extraído com diferentes solventes orgânicos (n-hexano, éter dietil, clorofórmio e acetato de etila), com três extrações sucessivas, originando as frações dos solventes

(MANYI-LOH, 2013).

Extratos de 7 variedades de mel coreano foram fracionadas usando metanol absoluto, água destilada desionizada e sequência de 4 solventes orgânicos: n-hexane, clorofórmio, acetato de etila, n-butanol e água, para separar compostos fenólicos (BAEK *et al.*, 2015).

A extração da fração volátil no mel da Mata Atlântica foi obtida a partir de uma solução aquosa do mel, contendo n-pentanol, em seguida utilizou-se água bidestilada e a dessorção dos compostos voláteis foi feita com acetona (SANTOS, 2014).

A extração em fase sólida para polifenóis de mel de diferentes regiões da Itália foi realizada com os solventes: solução de ácido clorídrico em pH 2, água destilada e metanol (ISTASSE *et al.*, 2016).

A fração *headspace* de mel da Croácia foi extraída utilizando o solvente ultrassônico (USE) onde utilizou-se diferentes solventes: mistura de pentano com éter dietil, pentano e éter dietil. Também a microextração em fase sólida (JERKOVI *et al.*, 2009).

Frações etanoicas em amostras de própolis, do Estado de São Paulo foram submetidas a procedimentos extrativos, utilizando os diferentes solventes: etanol, água destilada e álcool comercial de grãos (SAWAYA *et al.*, 2004).

O mel bruto de acácia, da Croácia foi extraído três vezes com metanol (MeOH), seu resíduo foi suspenso em água e fracionado com n-hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol (KIM *et al.*, 2017).

A fração volátil do mel de alecrim, proveniente da Espanha foi extraída através de três técnicas. Para as técnicas de destilação e extração simultânea e extração líquido-líquido foram utilizados água destilada, 2 pentanol e diclorometano. A extração em fase sólida (SPE) utilizou água destilada, divinyl benzene-N-vinyl pirrolydone, metanol e diclorometano. (CASTRO-VDZQUEZ; PEREZ-COELLO, CABEZUDO, 2003).

Na fração *headspace* do mel de *Paliurus spina-christi*, da Croácia, foram encontrados um total de 33 compostos, entre eles aldeídos alifáticos (nonanal); ácidos alifáticos de cadeia reta, ácido ramificado, ésteres e hotrienol presente em menor quantidade (JERKOVIC *et al.*, 2009).

2.6 Propriedades farmacológicas do mel

O mel apresenta inúmeras propriedades farmacológicas dentre as quais destaca-se a atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante (ELBARGISY, 2020). Os constituintes presentes no mel que conferem tais propriedades estão relacionados com as fontes botânicas visitadas pelas abelhas, que por sua vez, sofre a influência da flora regional (COOPER, 2014; DE-MELO *et al.*, 2017; NASCIMENTO *et al.*, 2018). Outros fatores são importantes como o ano, origem, número de cachos, que se relacionam com o perfil químico do mel (OLAVE-OLAVE *et al.*, 2021).

Estudos recentes comprovam a atividade antibacteriana do mel em bactérias gram positivas e negativas (OLATE; OLAVE, 2021; VOIDAROU *et al.*, 2021; BROWN *et al.*, 2020). Os fatores responsáveis pela atividade antibacteriana do mel inclui sua acidez natural, alto efeito osmótico e a diversos constituintes como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (KWAKMAN; ZAAT, 2012; MOLAN, 1992; WHITE; SUBERS; SCHEPARTZ, 1963), metilglyoxal (ADAMS *et al.*, 2008), originados da ação da enzima glicose oxidase, assim como a presença de compostos voláteis de ácido, álcool, cetona, ácido alifático, composto de benzeno, hidrocarboneto, furano e derivados de pirano (MANYILOH; CLARKE; NDIP, 2012), da biomolécula defensina-1, conhecida como royalisin (KWAKMAN; ZAAT, 2012), e dos polifenóis como os flavonoides (hesperitina, quercetina, narigenina, luteolina e outros) e ácidos fenólicos (ácido cafeico, vanílico, ferúlico e outros) (GUO *et al.*, 2020).

A atividade antifúngica do mel foi verificada na região de Bananeiras, Paraíba. O mel de *Plebeia cf. flavocincta* teve atividade sobre o fungo *Aspergillus niger* (DA SILVA *et al.*, 2015). O mel de aroeira de *Apis mellifera* da região de Janaúba-MG (Brasil) teve atividade sobre cinco cepas de *Candida albicans* e as espécies *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*. Além disso, o mel de aroeira foi capaz de reduzir o biofilme maduro de todas as espécies de *Candida*. Este mel foi o que teve maior concentração de fenólicos, o que explicou sua maior atividade antifúngica (LIMA *et al.*, 2022).

Naik *et al.* (2021) realizou um estudo clínico onde demonstrou a efetividade, superior a tratamentos convencionais, do mel de gral médico (MGH) sobre o vírus que causa herpes labial. Observou que além da atividade antiviral houve uma maior cicatrização da ferida e alívio da dor e coceira. Bakour *et al.* (2022) relata a importância do uso de mel para a redução da gravidade da infecção pelo SARS-CoV-2. O mel pode ser um aliado no aumento da imunidade e fonte de Zinco e polifenóis, os quais exercem atividade imunomoduladora e antiviral.

Em relação a capacidade anti-inflamatória do mel, um estudo verificou que 4 tipos de méis foram capazes de suprimir a produção de marcadores pró-inflamatórios NO, IL-1 β e IL-6, devido a indução por lipopolissacarídeo e promoveram a expressão das citocinas anti-inflamatórias IL-10. Ainda, em modelo *ex vivo*, exibiu um aumento de bactérias boas (lactobacilos), diminuiu gram negativas prejudiciais e teve efeito positivo sobre a produção de ácidos graxos de cadeia curta. A expressão IL-10 e aumento dos lactobacilos estiveram correlacionados positivamente com a concentração de ácido gálico (WU *et al.*, 2022).

A atividade antioxidante do mel foi comprovada em méis brasileiros de *Apis mellifera*, oriundos do Rio Grande do Sul. A maior capacidade antioxidante foi encontrada nos méis de eucalipto e aroeira, ambos com maior teor de ácido gálico (NASCIMENTO *et al.*, 2018). Os fenólicos e flavonoides são fatores que atuam como antioxidantes naturais em mel (TUKSITHA *et al.*, 2018).

Outra propriedade farmacológica do mel é anticâncer (AHMED; OTHMAN, 2017). O flavonoide galangina já foi considerado um bioativo responsável pela atividade anticâncer. Este bioativo tem como principal atividade a inibição da progressão do ciclo celular (DHIRENDRAUM *et al.*, 2022).

Ainda foi comprovado o efeito positivo do mel, em um estudo experimental com ratos Wistar com neuropatia diabética induzida. Após seis semanas com a administração de mel houve redução significativa da glicemia e lipídeos (SIRISHA *et al.*, 2021). Assim como o efeito do mel de *Ziziphus spinachristi*, *Acacia nilotica*, *Acacia seyal* e *Cucurbita máxima* na inibição de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia* *in vitro* (MOHAMMED *et al.*, 2019).

Devido as propriedades farmacológicas do mel existe uma legislação, Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PICS), que regulamenta a utilização de produtos naturais oriundos da apicultura como apitoxina, geleia real, pólen, própolis e mel, como forma de promoção e manutenção da saúde. A utilização da apicultura no SUS proporciona diminuição de gastos, uma vez que os produtos produzidos pelas abelhas apresentam baixo custo (BRASIL, 2018). Além disso, o uso de produtos naturais está de acordo com a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, criada em 2006, pelo Decreto nº 5.813. O decreto apresenta algumas proposições, dentre elas, o incentivo de pesquisas, cultivo, manipulação e produção de plantas medicinais e fitoterápicos, utilizando a biodiversidade de forma sustentável (BRASIL, 2006).

2.7 Características das bactérias patogênicas

As bactérias pertencem ao grupo procarionte, não apresentam organização celular e são consideradas os menores seres vivos. Apesar de serem pouco estruturadas, em relação aos processos bioquímicos e metabólicos, são complexas e diversificadas, vivendo em diferentes habitats. As bactérias podem ser esféricas (cocos), alongadas (bacilos) e helicoidais (espirilos) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2012), cuja morfologia é utilizada na análise microbiológica para identificação de espécies.

A prova bioquímica de coloração de gram está associada à análise microbiológica. Esse método classifica as bactérias, conforme sua estrutura em gram negativa e positiva, e foi desenvolvido por Hans Christian Joachim Gram. Essa técnica separa esses microrganismos dependendo da retenção do pigmento utilizado durante o processo, devido às características estruturais do envelope celular desses grupos (GRAM, 1884).

Bactérias gram negativas possuem duas membranas, uma bicamada interna e uma fosfolipídica, e outra bicamada externa, contendo fosfolipídios e lipopolissacarídeos, e entre estas membranas temos a camada peptidoglicana (BOS; ROBERT; TOMMASSEN, 2007). As gram positivas possuem uma

camada espessa de peptidoglicano e uma membrana interna, caracterizadas pela presença de ácidos teicoicos (NOGUEIRA; MIGUEL, 2009).

No grupo de bactérias gram negativas, que causam infecções humanas, são citadas *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp. e *Helicobacter pylori* (DELIBERALI *et al.*, 2011; KUSTERS; VAN VLIET; KUIPERS, 2006; LINZITTO; TUNES, 2019). Dentre essas bactérias, a *Helicobacter pylori* possui forma curva ou espiral, representa um grande problema de saúde pública global, cuja infecção pode causar mortalidade e morbidade (NDIP *et al.*, 2007; WANDS; EL-OMAR; HANSEN, 2021). Essa bactéria causa infecção frequentemente associada a doenças gastrointestinais, como gastrite crônica ativa, úlcera, câncer gástrico e linfoma, por instalar-se no tecido mucoso que protege o revestimento do estômago, onde fica menos susceptível ao ácido clorídrico (KUSTERS; VAN VLIET; KUIPERS, 2006; VAKIL, 2018).

No grupo das bactérias gram positivas são elencadas *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecales*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecium* (TAVARES, 2000; BRASIL, 2008). Destas, a *Enterococcus faecales* é encontrada normalmente na microflora intestinal, causa infecções oportunistas no trato urinário ou em tecidos moles, em pessoas debilitadas, frequentemente, em ambientes nosocomiais (hospitalares) (ALTAMTAMI; AL-LAWATI; AL-ABRI, 2011; OTTO, 2009). Essa bactéria, por infectar pacientes hospitalizados, representa um obstáculo para a área da saúde. No Brasil é responsável por cerca de 15% dos casos de infecção hospitalar (BRASIL, 2004). Ainda, a *Enterococcus faecalis*, associada a infecções endodônticas, é responsável pela falha em tratamentos odontológicos (ROCAS *et al.*, 2004) e comumente está relacionada à endocardite bacteriana (NALLAPAREDDY *et al.*, 2006).

Outra bactéria gram positiva, a *Staphylococcus epidermidis*, que está presente na pele e mucosas, é responsável por grande parte de contaminação de equipamentos médicos (KAPLAN *et al.*, 2004), de difícil diagnose e

tratamento devido à formação de biofilme (O'GARA; HUMPHREYS, 2011). A princípio ela é inofensiva, vive sobre a pele humana, normalmente não causa danos. No entanto, o comensalismo dessa bactéria favorece a infecção associada a reservatório de genes resistentes, o que provoca a maioria de suas complicações subagudas ou crônicas. Infecções da corrente sanguínea e endocardite são associadas a esta bactéria (AL-TAMTAMI; AL-LAWATI; AL-ABRI, 2011; OTTO, 2009).

As bactérias pertencem a um dos grupos de interesse farmacológico, responsáveis por diversos tipos de doenças, que constantemente adquirem resistência aos diversos antibióticos. Essa resistência pode ocorrer através da remodelagem da membrana e modificação em sua constituição como, por exemplo, a composição lipídica, quando são submetidas a algum tipo de estresse (WILLDIGG; HELMANN, 2021).

Outros mecanismos de resistência bacteriana são alteração do sítio de ação de antimicrobianos (alteração do local de ação do medicamento), bomba de efluxo (bombeamento ativo do antimicrobiano para o meio extracelular) e mecanismo enzimático (degradação do antibiótico) (ANVISA, 2007).

2.8 Potencial antibacteriano do mel

A atividade antibacteriana do mel pode ser representada pela Concentração Inibitória Mínima, conhecida pela sigla CIM (em inglês MIC). Esse parâmetro é determinado pela menor quantidade de um produto antimicrobiano, capaz de causar inibição no crescimento de uma cepa (SILVA, 2019). A atividade antibacteriana pode ser investigada entre diferentes percentuais de inibição como em 50%, 90%, 95% e o mais usual, 100% (MANYI-LOH *et al.*, 2010, 2013; BORSATO *et al.*, 2013).

Resultados sobre a atividade antibacteriana de mel foram organizados na revisão feita por MOLAN (1992), desde então foram registrados até o momento 943 artigos na base de dados (Scopus), a partir de 1988. Desses artigos foi feito um recorte dos últimos 10 anos (2012-2022), sobre CIM do mel em função das espécies de abelhas e da origem geográfica do produto. Os trabalhos foram

buscados, utilizando-se as palavras-chave: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Helicobacter pylori*, abelha, Concentração Inibitória Mínima, mel, Atividade antibacteriana. Um total de 117 trabalhos foram encontrados, dos quais, 23 foram utilizados na tabela do Anexo A.

Dos méis das espécies de abelhas avaliadas nos estudos, o mais frequente foi o de *Apis mellifera* e a bactéria *S. aureus*. Em geral, a CIM de mel de abelhas sem ferrão, testada sobre as bactérias, variou de 10 a 254 mg/ml e de *Apis* spp de 25-320 mg/ml. No total, o mel de 28 espécies de abelhas foi avaliado nos estudos e 8 bactérias mais recorrentes (Anexo A).

A atividade antibacteriana do mel brasileiro foi evidenciada em alguns estudos. No estado do Paraná, o potencial antibacteriano de méis *in natura* e seus extratos fenólicos, oriundos de oito espécies de abelhas nativas sem ferrão, foram avaliados. Destes, o mel da abelha *Scaptotrigona bipunctata* foi o que obteve menor CIM₉₀ para *S. aureus* de 15,6 (mg/mL) e *E. coli* 31,2 (mg/mL) (BORSATO *et al.*, 2013). Ainda no Paraná, o mel de *Scaptotrigona postica* e *Scaptotrigona bipunctata* inibiu o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *S. epidermidis* com 25 mg/mL e *Streptococcus pyogenes* com CIM de 12,5 mg/mL (NISHIO *et al.*, 2016).

Diferentemente das espécies de abelhas sem ferrão do Paraná, na Bahia, os melhores resultados de atividade antibacteriana foram do mel de *Melipona quadrifasciata anthidioides* sobre *E. coli* (CIM 70,0 mg/mL⁻¹) e de *Frieseomelitta doederleinei* sobre *Staphylococcus aureus* (CIM 19,0 mg/mL⁻¹). No entanto, houve resistência de *Pseudomonas aeruginosa* a todos os méis analisados (MERCES *et al.*, 2013).

Para o mel do Amazonas, o melhor CIM foi sobre o crescimento de *Chromobacterium violaceum*, com CIM de 7 mg/mL, utilizando o mel da abelha *Apis mellifera*. A bactéria *Enterococcus faecalis* foi inibida com CIM de 55 mg/mL, com utilização do mel de *Melipona seminigra*. A bactéria *Staphylococcus aureus* teve CIM de 70 mg/mL, com uso do mel de *Melipona compressipes* e *Apis mellifera*. A bactéria *Escherichia coli* teve CIM de 70 mg/mL, com utilização do mel de *Apis mellifera* (CRUZ *et al.*, 2014).

Para os méis estrangeiros, o mel da abelha *Melipona favosa* e *Frieseomelitta nigra* de Tobago teve CIM para a bactéria *E. coli* de 10-40 mg/mL (BROWN *et al.*, 2020). O mel da Malásia de *Heterotrigona itama* teve CIM de 31,52% mg/mL para *Pseudomonas aeruginosa* (YAACOB *et al.*, 2020). O mel de *Apis mellifera*, Argélia, a CIM foi de 25 mg/mL para *H. pylori* (BOUACHA; AYED; GRARA, 2018). O mel de *Melipona favosa*, de Tobago, teve atividade sobre a bactéria *S. aureus* com CIM de 10-40 mg/mL (BROWN *et al.*, 2020). Na Malásia, o mel de *Heterotrigona itama* sobre *B. subtilis* teve CIM de 15,6 mg/mL (YAACOB *et al.*, 2020). O mel de *Apis mellifera*, do Chile e Algeria, teve atividade sobre as bactérias *S. epidermidis* e *E. faecalis*, com CIM de 187 mg/mL e 25 mg/mL, respectivamente (BOUACHA; AYED; GRARA 2018; OLATE-OLAVE *et al.* 2021). O mel de *Frieseomelitta nigra*, de Tobago e Trinidad, o CIM foi de 10-40 mg/mL para a bactéria *S. pyogenes* (BROWN *et al.*, 2020). Resultados mais completos estão no Anexo A.

Alguns dos trabalhos relevantes sobre atividade antibacteriana, que não foram inclusos na tabela por não atenderem aos critérios, estão descritos nos próximos parágrafos.

O mel de orégano, de Épiro, Grécia, foi extraído com 4 solventes orgânicos: n-hexano, éter dietílico, clorofórmio e acetato de etila. Destes, os extratos de N-hexano tiveram CIM (95%) de 42,8 – 102,3 mg/mL e clorofórmio 42,6 – 98,5 mg/mL e tiveram também a ação antibacteriana mais potente sobre cepas de *H. Pylori* (VOIDAROU *et al.*, 2021).

No mel coreano de acácia (*Robinia pseudoacacia* L.), a fração acetato de etila teve atividade antibacterina sobre *Helicobacter pylori*. Desta fração o ácido abscisico foi isolado e demonstrou valores de CIM 0,0027 mg/mL, menor que o controle positivo, CIM de 0,0109 mg/mL (KIM *et al.*, 2017).

O mel de *Apis mellifera*, da região do Pantanal de Mato Grosso, apresentou atividade antibacteriana contra a gram negativa *Helicobacter pylori*, inibindo mais de 80% da bactéria em uma concentração de 1 mg/mL (ALEIXO, 2018; FRANZ, 2015).

O mel do continente africano, Camarões, as concentrações de CIM, sobre diferentes cepas de *Helicobacter pylori*, estiveram entre 0.117 e 0.938 µg/mL. Já

os extratos de éter dietílico, clorofórmio e acetato de etila do mel puro, da África do Sul, registraram o menor CIM, CIM₅₀ e CIM₉₅, com valores de 6,25, 0,1 e 0,78 mg/mL, respectivamente (MANYI-LOH *et al.*, 2010, 2013; NDIP *et al.*, 2007).

Na Austrália, a espécie endêmica *Trigona carbonária* inibiu em concentrações de 10 *Staphylococcus aureus*, 40 *Staphylococcus epidermides*, *Streptococcus pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* e 80 (mg/mL) *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* e *Klebsiella pneumoniae* (BOORN *et al.*, 2010).

Na Guatemala, o mel de nove espécies de abelhas sem ferrão foi avaliado sobre seis cepas de bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Mycobacterium smegmatis*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*). O mel de *Scaptotrigona mexicana* foi ativo contra todas as seis bactérias, com CIM de 50 mg/mL (DARDON; ENRIQUEZ, 2008).

Na Malásia, as frações fenólicas do mel de gelam (*Melaluca* spp.) e coco (*Cocos nucifera*) demonstraram forte atividade sobre *S. aureus*, sensíveis e resistentes à metilicina (MRSA). Para o mel de gelam, todas as cepas foram totalmente inibidas em concentração $\geq 1,95$ mg/ml e para o mel de coco, em concentração $\geq 2,6$ mg/ml (ALJADI; YUSOFF, 2003).

2.9 Mecanismo de ação do mel

A cinética e mecanismos de ação da atividade antibacteriana de méis húngaros, por meio do ensaio de time-kill e estudo da degradação da membrana, demonstraram que os méis agiram contra *S. pneumoniae* (gram positiva) e *P. aeruginosa* (gram negativa) na segunda hora. Os méis foram capazes de provocar lise da célula bacteriana através do rompimento da membrana das bactérias gram positivas e gram negativas. Verificou-se que o açúcar presente no mel é responsável por parte dessa atividade, porém, o mel teve melhor resultados ao ser comparado com açúcar isolado, demonstrando que outros fatores estiveram envolvidos (BALAZS *et al.*, 2021).

O mecanismo de ação do mel de Manuka, Nova Zelândia, sobre *Pseudomonas aeruginosa*, está associado a sua atuação sobre os genes

responsáveis pela lise celular e a cadeia de transporte de elétrons, e como consequência há vazamento de prótons através da membrana plasmática e indução da despolarização e permeabilização da membrana da bactéria. O mecanismo de ação do mel de Manuka é múltiplo e não leva à resistência. Este efeito foi através da contribuição do metilglioxal e açúcar (BOUZO *et al.*, 2020).

O mecanismo de ação de três tipos de mel (polifloral, abacate e castanha), da província de León (Espanha), sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, foi relacionado à polarização da membrana e integridade da membrana. Isso causou desequilíbrio e lesão da membrana em ambas as bactérias, assim como efeito na atividade metabólica de *Staphylococcus aureus*. A atividade antibacteriana respondeu em função ao tipo de mel e a sua concentração, possivelmente devido às diferenças na composição química (COMBARROS-FUERTES *et al.*, 2020).

O mel de trigo serrano, China, em conjunto com Lactato ferroso, fez aumentar a ação antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa*, por meio da produção de OH. Com a produção de OH, a partir da combinação, houve danos à membrana de *Pseudomonas aeruginosa*, o que permitiu maior permeabilidade, e vazamento de proteína. Esses resultados evidenciaram que o lactato ferroso causa decomposição da célula bacteriana, aumentando a ação bactericida do mel de trigo (LIANG *et al.*, 2020).

Mel de Boroujen, Irã, desmontrou atividade antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Esse mel provocou inibição da divisão celular, acompanhada de perda de estrutura, mudanças na forma e superfície das células, bem como alteração no tamanho da célula bacteriana (MOGHADAM; KHALEDI, 2021).

2.10 Mecanismo de ação de alguns antibióticos

O mecanismo de ação é a maneira com que uma droga interfere sobre o crescimento de um microrganismo. Os principais alvos dos antibacterianos encontram-se nas funções da membrana, síntese proteica, parede celular e no metabolismo dos ácidos nucleicos (Figura 1). O mecanismo de ação pode

provocar um efeito que mata as células bacterianas (bactericida) ou somente inibir seu crescimento (bacteriostático) (RANG *et al.*, 2012).

Os antibacterianos macrolídeos apresentam, em sua constituição, um anel de lactona com vários membros, ligados a um ou mais desoxiaçúcares. Dentro desse grupo estão a eritromicina, claritromicina e azitromicina. Os macrolídeos agem na síntese proteica da bactéria (Figura 1) (RANG *et al.*, 2012).

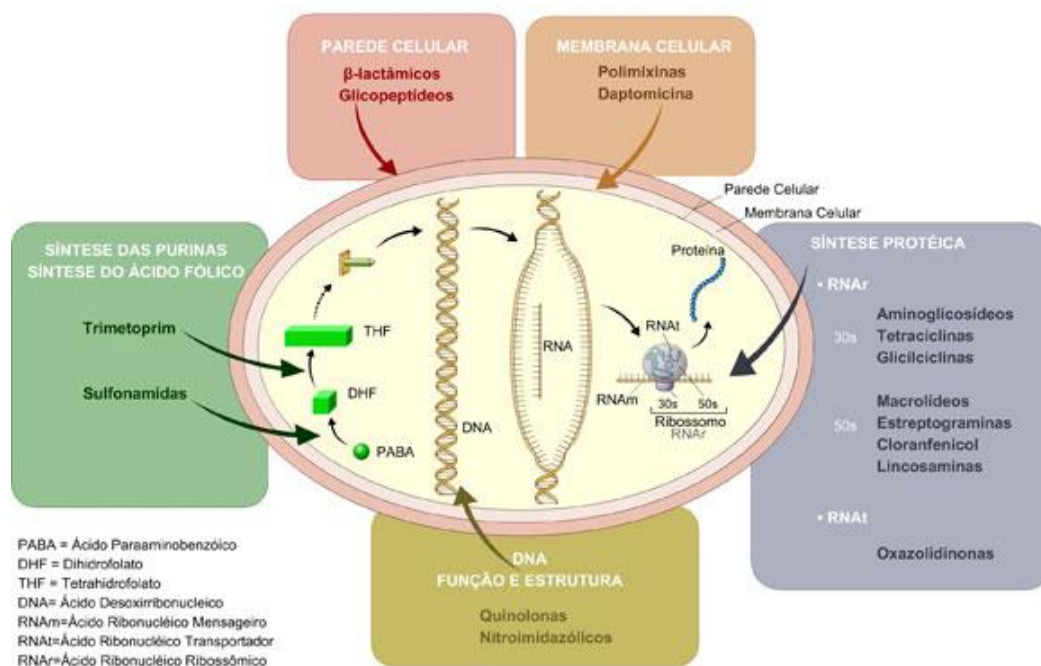


Figura 1. Mecanismo de ação: Sítios de ação com as diversas classes de antibióticos.

Fonte: http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_contr/ole/opas_web/modulo3/mecanismos.htm

A eritromicina, descoberta em 1952, foi extraída e isolada a partir do actinomiceto *Streptomyces erythraeus*, tem um amplo espectro sobre bactérias gram positivas. A claritromicina age sobre bactérias gram positivas e gram negativas, assim como eritromicina (ANVISA, 2007).

Os antibióticos de outras classes agem sobre outros alvos, como exemplo temos os quinolonas que atuam sobre a estrutura e função do DNA, sulfonamidas sobre a síntese das purinas e ácido fólico, glicopeptídeos sobre a parede celular e os polimixinas sobre a membrana celular (ANVISA, 2007).

2.11 Sinergismo do mel

O sinergismo ocorre quando um agente auxilia ou potencializa a ação de uma substância ativa (ANVISA, 2020), o mel utilizado em associação com produtos antimicrobianos age sinergicamente contra diversos patógenos. O uso de produto natural com efeito sinérgico, em ambientes médicos, tem como consequência a redução dos gastos com tratamentos convencionais, menor uso de antimicrobianos, rapidez na cura e redução nas hospitalizações (ABDERRAHIM *et al.*, 2019; ALMASAUDI, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2017). A diminuição da concentração de antibióticos, quando sinérgicos combinados com mel, atende o objetivo 3 (saúde e bem-estar) do Desenvolvimento Sustentável (ODS) da agenda 2030. Neste sentido, proporciona acesso a medicamentos a preços mais acessíveis para todos (Nações Unidas no Brasil, 2022).

O sinergismo do mel de Manuka, Nova Zelândia, combinado com 4 tipos de antibióticos (rifampicina, oxacilina, gentamicina e clindamicina) foi comprovado sobre isolados de *S. aureus* e, quando não houve sinergismo evidenciou um aumento na suscetibilidade aos medicamentos (LIU *et al.*, 2015). Os autores observaram que cepas resistentes a algum antibiótico tornaram sensíveis quando o antibiótico foi combinado com mel. O mel de Manuka tem o constituinte metilglioxal, que potencializa a ação do antibiótico linezolida e rifampicina contra a bactéria *S. aureus* (HAYES *et al.*, 2018. MULLER *et al.*, 2013).

O efeito sinérgico de mel e antibiótico contra biofilmes de *Escherichia coli* foi verificado para méis portugueses, com destruição completa das células bacterianas (OLIVEIRA *et al.*, 2017). O mel de eucalipto em Kerbala, Iraque, teve efeito sinérgico, em diferentes concentrações, com ampicilina e cefotaxima sobre *Escherichia coli* (AL-HISNAWI; MUSTAFA; YASSER, 2019). Outro mel que apresentou sinergismo foi de *Euphorbia* de Tiaret (Algeria) combinado com *Allium sativum*, sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* (ABDERRAHIM *et al.*, 2019).

O mel florestal e extrato etanólico da casca de canela, oriundos da Indonésia, quando combinados exibiram efeito aditivo sobre *Propionibacterium*

acnes e *Staphylococcus epidermidis*, com valor de índice de concentração inibitória fracionada (FICI) de 0,625 (JULIANTI; RAJAH; FIDRIANNY, 2017). Outro estudo que avaliou o mel da área de Hajiabad, província de Ghom, Irã, combinado com canela, teve forte efeito sinérgico, com atividade antibacteriana potencializada sobre *Streptococcus mutans* (REZVANI *et al.*, 2017).

O mel e *Nigella sativa*, da província de Hamadan, Irã, combinados foram testados in-vivo sobre infecção gástrica por *Helicobacter pylori*. Ofertaram-se 6 g/dia de *Nigella sativa* (como sementes moídas) e 12 g/dia de mel, três vezes ao dia por duas semanas. Os resultados mostraram que a combinação resultou em redução dos sintomas de dispepsia, mau odor da boca, e o teste respiratório da ureia (UBT) foi negativo em 57,1% (8/14) dos participantes avaliados (HASHEM-DABAGHIAN *et al.*, 2016). Méis oriundos do oeste da Argélia, em combinação com *Nigella sativa*, testados in-vitro, foram sinérgicos sobre a inibição de *Pseudomonas aeruginosa* (ABDELMALEK *et al.* 2012).

O uso do mel de regiões do Irã, combinado com os antibióticos, tetraciclina e ciprofloxacina, teve atividade antibacteriana sobre *E. coli* mutante, diminuindo em duas vezes a CIM destes antibióticos (JAKTAJI; GHALAMFARSA, 2021).

O mel de Manuka ainda demonstrou atividade contra vírus influenza, com inibição da replicação e, quando combinado com drogas anti-influenza (zanamivir/ oseltamivir), a concentração inibitória das drogas foi diminuída (WATANABE *et al.*, 2014).

O mel da Argélia, em combinação com amido de cúrcuma, controlou o fungo *Rhodotorula mucilaginosa* e provocou queda na concentração inibitória de 6,66 a 20% (p / v) do mel combinado com amido em relação ao mel isolado (AHMED *et al.*, 2013).

O mel de Zhejiang, China, combinado com alcaçuz (produzido a partir da raiz e rizoma de *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., foi testado para verificar se o processamento do mel (fritura do mel com alcaçuz) potencializaria o efeito imunomodulador de alcaçuz in vivo. Como resultado, a combinação foi sinérgica, aumentando o efeito imunomodulador, aumentou o conteúdo total de flavonoides e polissacarídeos, e ainda houve melhor estabilidade térmica, biodisponibilidade

de alguns constituintes bioativos, e aumentou suas funções imunoestimuladoras gerais (KONG *et al.*, 2022).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Tipo do estudo

O estudo foi experimental, com procedimentos técnicos laboratoriais.

3.2 Área de estudo

Quatro municípios do Estado de Mato Grosso localizados na região Centro-Oeste do Brasil foram selecionados para o estudo, Cáceres, Barra do Garças, Nossa Senhora do Livramento e Sinop (Figura 2).

Cáceres abrange uma área territorial de 24.538,591 km², composta pelos biomas Amazônia (6%), Cerrado (8%) e Pantanal (85%). Barra do Garças abrange uma área territorial de 8.713,673 km², composta pelo bioma Cerrado (100%). Nossa Senhora do Livramento abrange uma área territorial de 5.537,413 km², composta pelos biomas Cerrado (65%) e Pantanal (35%). Sinop abrange uma área territorial de 3.990,870 km², composta pelo bioma Amazônico (100%) (IBGE, 2021; INFOSANBAS, 2022).

O estado de Mato Grosso lidera o ranking da pecuária na criação de rebanho bovino. O estado ainda se destaca no cenário nacional, na produção de soja, milho e algodão, líder no ranking de valor da produção total do Brasil (IBGE, 2021). Nas cidades de Cáceres, Nossa Senhora do Livramento e Barra do Garças, a pecuária é a atividade econômica dominante. Em Sinop, a atividade principal é a agricultura (IMEA, 2017; IBGE 2021).

Em relação à produção de mel de abelha, o estado de Mato Grosso está entre os 15 que mais produzem. Em Cáceres, a produção média de mel de abelha entre os anos de 2015 e 2020 foi de 7.083 kg; Barra do Garças, 55.061 kg; Nossa Senhora do Livramento, 4.394 kg; e Sinop, 22.709 kg (IBGE, 2021).

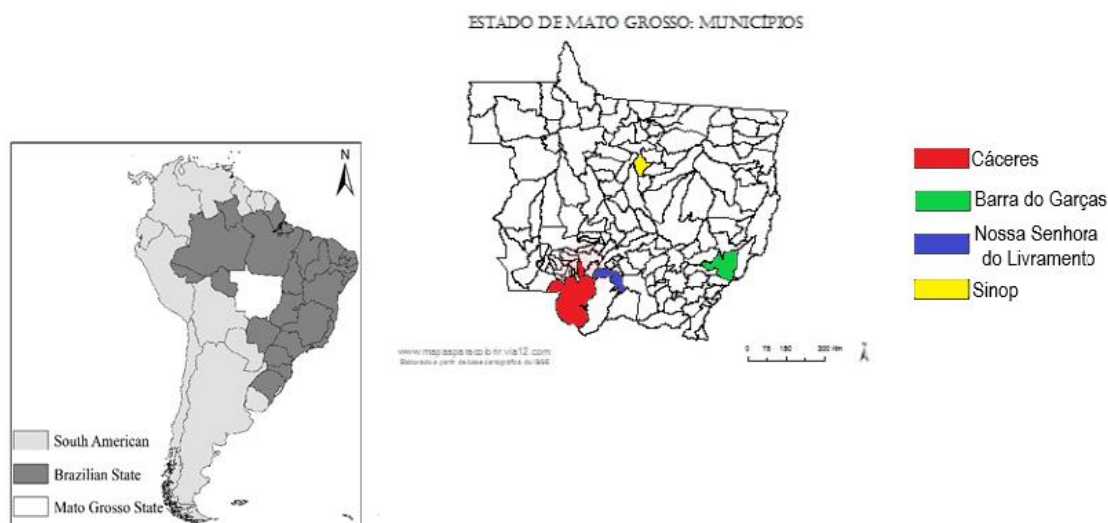


Figura 2. Localização geográfica dos municípios da região Centro-Oeste do Brasil selecionados para o estudo.

3.3 Mel do estudo

Neste estudo foram selecionados cinco méis do estado de Mato Grosso, região Centro-Oeste do Brasil. Dos cinco méis, dois distintos foram de Cáceres (mel 1 e 2) e um mel de cada um dos municípios Barra do Garças (mel 3), Nossa Senhora do Livramento (mel 4) e Sinop (mel 5). Os méis desses municípios foram selecionados do banco de dados do Laboratório do Centro de Estudo de Apicultura (CETApis). A média de conteúdo de polifenóis para méis do estado de Mato Grosso é de 36,00 mg EAG/100 g de mel. O conteúdo do poder de redução do íon férrico (FRAP) teve média de 0,48 m mol Fe+2/ 100 g de mel. O conteúdo total de flavonoides (CTF) teve média de 6,05 mg EQ/ 100 g mel (MENDONÇA, 2020). Os méis selecionados para este estudo estiveram acima da média, em algum dos critérios, como conteúdo de fenólicos, flavonoides, atividade antioxidante e atividade antibacteriana, verificados em dissertações (LONGO, 2013; FRANZ, 2015; ALEIXO, 2018; MENDONÇA, 2020).

A espécie *Myracrodroun urundeuva* (aroeira) foi o pólen presente em todos os méis avaliados como pólen dominante no mel (1 e 2) de Cáceres e acessório nos demais. A espécie *Mimosa pudica* esteve presente em todos os

méis avaliados como pólen dominante em Barra do Garças, acessório no mel 1 de Cáceres e isolado nos demais méis. O mel de Nossa Senhora do Livramento não teve pólen dominante, caracterizado como polifloral. A maioria dos méis (dois ou mais) compartilha a mesma origem botânica como pólen isolado. As espécies que estão presentes em apenas um mel como polens isolados, foram *Senna rugosa* para Cáceres; *Miconia ferruginata* e *Mimosa tenuiflora* para Barra do Garças; Tipo *Cucurbitaceae* para Nossa Senhora do Livramento; e *Eupatorium pauciflorum* e *Spermacoce verticillata* para a cidade de Sinop (MENDONÇA, 2020).

Dos cinco méis frescos foram feitas extrações com os solventes (hexano, acetato de etila e N-butanol), que resultaram em três frações de cada mel, totalizando 20 amostras nesse estudo (Tabela 1).

Tabela 1. Méis oriundos do Estado de Mato Grosso, Brasil avaliados no estudo.

Mel	Município	Nº de registro CETApis
01	Cáceres	04
02	Cáceres	05
03	Barra do Garças	07
04	Nossa Senhora do Livramento	10
05	Sinop	22

*Para cada mel foram estudadas 5 amostras (fresco, acetato de etila, hexano e N-butanol)

3.4 Bactérias e antibióticos

Neste trabalho foram utilizadas as bactérias *Helicobacter pylori* (ATCC 43504, Maryland, USA), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212, São Paulo, BR) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228, São Paulo, BR), provenientes da coleção do Laboratório Centro de Estudo em Apicultura (CetApis).

As bactérias se encontravam congeladas a -80 °C em meio de cultura e foram reativadas antes dos ensaios. A reativação de *S. epidermidis* foi a partir da cultura estoque em meio caldo Muller Hinton (MH) e cultivada em ágar por 24 horas a 37 °C. *E. faecalis* foi reativada a partir da cultura estoque em meio caldo Brain Heart Infusion (BHI) e cultivada em ágar por 24 horas a 37 °C; o caldo e o ágar foram suplementados com vancomicina (6 µg/ml), em concentração letal. Para *Helicobacter pylori* o meio BHI foi enriquecido com soro bovino fetal (SBF) a 5%, Skirrow (2:500) e anfotericina a (5 µg/ml) e cultivada por 48 horas a 37 °C, em condições microaerofílicas em jarra de vela.

Os controles positivos foram os antibióticos Claritromicina para *H. pylori* e *S. epidermidis* e Eritromicina e Claritromicina para *E. faecalis* (CLSI, 2021), fornecidos pela Sigma Aldrich®.

3.5 Procedimentos de extração

O extrato seco das frações de mel foi preparado pelo método de extração fracionada em balão de decantação, utilizando-se os solventes hexano, acetato de etila e n-butanol em sequência, da menor para a maior polaridade (Figura 3), conforme Manyi-Loh et al. (2013). Para a extração 100 g de mel fresco foi diluído em 150 mL de água destilada estéril, vertido em balão e extraído com 150 mL de cada solvente, com três extrações sucessivas de 50 mL do solvente a cada 15 minutos. O processo de seriada das frações foi realizado em um período máximo de 24 horas para evitar contaminações. As três frações coletadas foram concentradas, utilizando-se rotaevaporador (40 °C para hexano e 60 °C para acetato de etila e n-butanol) e o solvente residual foi extraído em cápsulas de cerâmica de três a seis dias na estufa a 33°C, até que atingissem peso constante, consistência e cheiro característico de mel para obtenção do extrato seco.

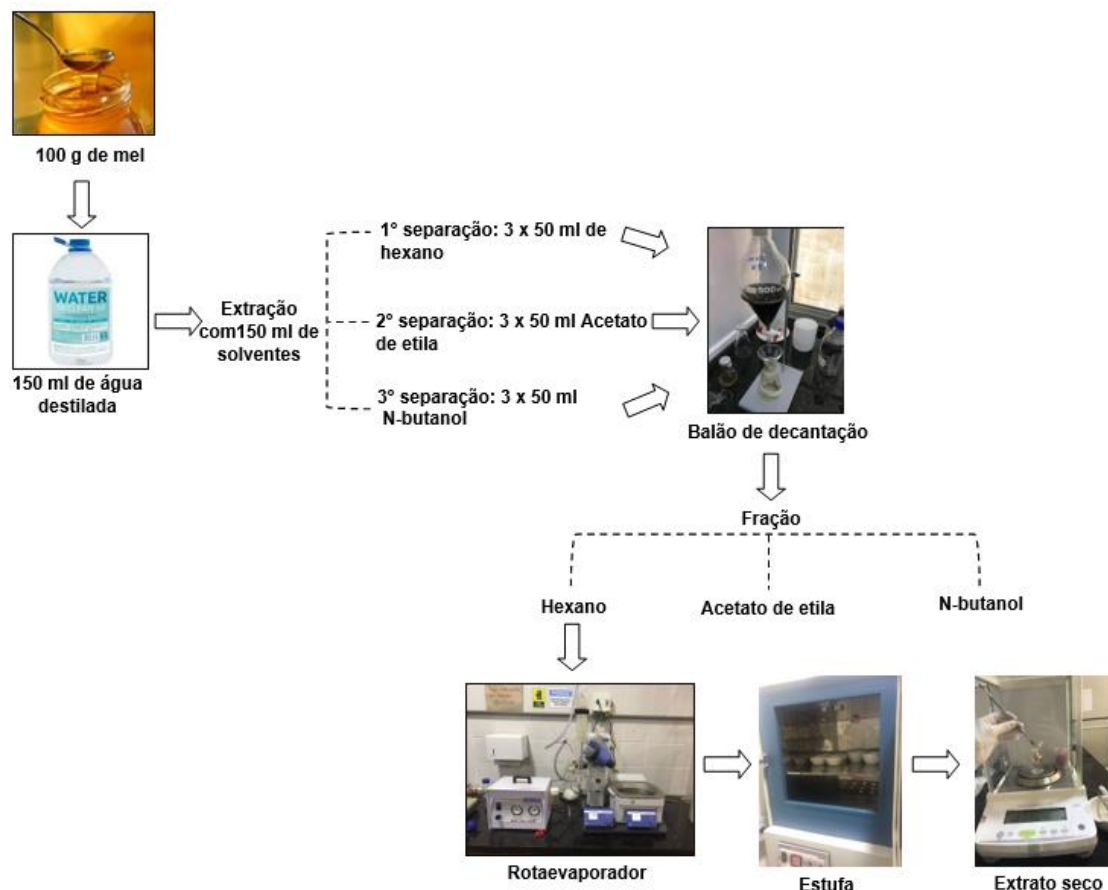


Figura 3. Esquema do preparo e extração das frações do mel.

3.6 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima foi verificada pelo método de microdiluição em caldo, em microplacas com 96 poços. Para a bactéria *S. epidermidis* foram adicionados 100 μ L de Muller Hinton, 100 μ L de mel ou frações com diluição seriada (NDIP *et al.*, 2007; MANYI-LOH *et al.*, 2012; MANYI-LOH *et al.*, 2013) de 1000 a 1,95 μ g/mL e 100 μ L de suspensão bacteriana em solução de NaCl 0,85% (Escala 1 MacFarland). Posteriormente, as microplacas foram incubadas por 24 horas a 37 °C. O mesmo processo foi para *E. faecalis*, mas com meio Brain Heart Infusion e suplementado com vancomicina para eliminar outras bactérias e ainda promover o crescimento da *E. faecalis* (6 μ g/ml) (ANVISA, 2008). Para *H. pylori* foi o meio Brain Heart Infusion, suplementado com soro bovino fetal (SBF) a 5%, Skirrow (2:500) e anfotericina (5 μ g/ml) e incubada até 96 horas a 37 °C, em condições microaerófilas em jarra de vela.

Os controles positivos foram claritromicina para *H. pylori* e *S. epidermidis* e Eritromicina para *E. faecalis*, nas concentrações de 20 a 0,04 µg/ml. Utilizou-se poços com os controles de crescimento (meio de cultura e solução bacteriana e de esterilidade (meio de cultura e água destilada) em cada microplaca. O controle de cor do mel (mel e meio de cultura) foi realizado em ensaio independente.

As leituras das microplacas foram realizadas por meio de espectrofotômetro (Elisa) em 450 nm. Os ensaios foram realizados em triplicatas.

3.7 Efeito do mel sobre permeabilidade da membrana bacteriana gram positiva: atividade antibacteriana do mel combinado e time kill teste

O ensaio de microdiluição em caldo foi empregado para verificar o efeito sobre permeabilidade das membranas de *S. epidermidis* e *E. faecalis* por méis frescos ou frações combinadas com antibióticos (checkboard), em microplacas de 96 poços. Efetuou-se diluição seriada em caldo BHI (*E. faecalis*) e MH (*S. epidermidis*) de mel fresco ou frações, nas concentrações de 80 mg/mL, concentração utilizada em estudos anteriores que avaliaram a combinação de mel com antibióticos (MULLER *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2015) a 0,156 mg/mL. Os antibióticos claritromicina e eritromicina tiveram concentração de 20 µg/mL a 0,04 µg/mL. Uma suspensão bacteriana em solução de NaCl 0,85% estéril, na Escala 1 MacFarland, foi adicionada à microplaca. As microplacas foram incubadas em estufa a 37 °C e após 24 horas foram lidas em leitor de placas em 450 nm. Os ensaios foram realizados em triplicatas.

O time kill teste foi realizado por microdiluição em caldo, com placas de microtitulação de 96 poços, onde foram realizadas diluições seriadas da combinação de méis ou frações nas concentrações de 80 mg/mL a 0,156 mg/ml com os antibióticos claritromicina e eritromicina de 20 µg/mL a 0,04 µg/mL. Foi adicionada à microplaca uma suspensão bacteriana de *S. epidermidis* e *E. faecalis*, em solução de NaCl 0,85% estéril, na Escala 1 MacFarland, e incubadas por 24 horas. As leituras com espectrofotômetro (Elisa) em 450 nm

foram realizadas em diferentes tempos 0, 2, 4, 8 e 24 horas. Os ensaios foram realizados em triplicatas.

As amostras que apresentaram maior inibição do crescimento bacteriano, ($\geq 27\%$ no ensaio da CIM) para cada bactéria, foram selecionadas para avaliação do indicativo de permeabilidade da membrana.

3.8 Análise dos dados

A atividade antibacteriana do mel foi analisada por meio da média aritmética. A comparação entre as amostras de mel foi feita por estatística descritiva, com a média e o intervalo de confiança de 95%. O efeito sobre o aumento da permeabilidade da membrana bacteriana foi considerado quando a média de inibição do mel combinado teve um padrão de resposta diferente do antibiótico isolado, considerando o intervalo de confiança de 95%.

4. RESULTADOS

4.1 Concentração inibitória mínima (CIM)

Os méis ou frações não tiveram atividade antibacteriana para concentração inibitória mínima (CIM) até a concentração de 1 mg. A inibição do crescimento das bactérias pelos méis e frações variou de 2 a 73%, esteve entre 17 a 37% para *E. faecalis*, 2 a 37% para *S. epidermidis* e 56 a 73% para *H. pylori* (Anexo A). Os controles positivos tiveram inibição do crescimento de 77% para *E. faecalis*, 88% para *S. epidermidis* e 100% para *H. pylori* (Apêndice A).

Os méis ou frações, que tiveram inibições do crescimento bactéria gram positiva $\geq 27\%$, foram selecionados para o ensaio do efeito sobre permeabilidade da membrana (Figura 4). Para *E. faecalis* foram selecionados o mel 1 e 4 (fresco e fração N-butanol) e mel 5 (fração hexano). Para *S. epidermidis* foram selecionados o mel 3 (fresco, fração hexano, fração acetato de etila e fração N-butanol), mel 4 (fração hexano e fração N-butanol) e o mel 5 (fresco).

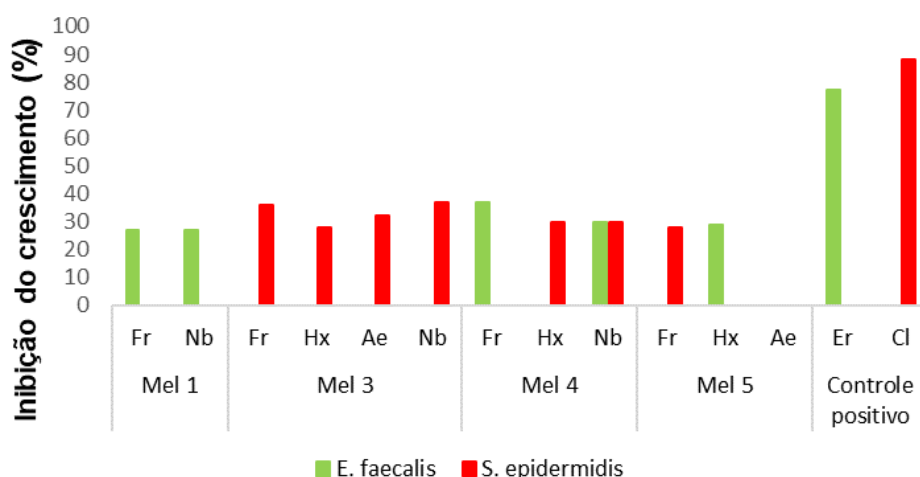


Figura 4. Inibição do crescimento das bactérias gram positivas *E. faecalis* e *S. epidermidis* por méis ou frações em concentração de 1 mg/mL. Fr: Fresco; Hx: hexano; Ae: acetato de etila; Nb: N-butanol; Er: eritromicina; Cl: Claritromicina

4.2 Efeito do mel sobre permeabilidade da membrana bacteriana gram positiva

4.2.1 Atividade antibacteriana do mel combinado

O mel 1 (fresco e fração N-butanol), combinado com os antibióticos (eritromicina e claritromicina), aumentou a permeabilidade da membrana de *E. faecalis* (Tabela 2). A média de inibição do crescimento bacteriano do mel 1 (fresco) combinado com eritromicina e claritromicina foi de 92 e 91%, respectivamente. O mel 1 (fração N-butanol) combinado com eritromicina e claritromicina teve média de inibição de 94 e 95%, com padrão médio de resposta diferente do controle positivo isolado e superior ao intervalo de confiança.

O mel 4 (fresco e fração N-butanol) e o 5 (fração hexano) não tiveram efeito sobre o aumento de permeabilidade da membrana de *E. faecalis*, uma vez que quando combinados com antibióticos não tiveram padrão de resposta diferente do controle positivo isolado e não foram superiores ao intervalo de confiança.

Tabela 2. Atividade antibacteriana expressa pela inibição do crescimento (%) de *E. faecalis* por méis, frações e controle positivo isolados e combinados (resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão) após 24 horas de incubação.

	Isolados			Combinados	
	Mel (80 mg/ml)	Eri ¹ (20 μ g/ml)	Clari ² (20 μ g/ml)	Mel e Eri ¹	Mel e Clari ²
<i>E. faecalis</i>					
Mel 1 fresco	43 $\pm$ 5,49			92 $\pm$ 2,45*	91 $\pm$ 1,09*
Mel 1 N-butanol	47 $\pm$ 4,59			94 $\pm$ 2,04*	95 $\pm$ 2,44*
Mel 4 fresco	53 $\pm$ 7,37	87 $\pm$ 2,20	85 $\pm$ 2,45	88 $\pm$ 3,54	88 $\pm$ 4,39
Mel 4 N-butanol	49 $\pm$ 7,67			89 $\pm$ 1,75	89 $\pm$ 2,52
Mel 5 Hexano	52 $\pm$ 3,46			88 $\pm$ 0,89	89 $\pm$ 0,95

*Padrão de resposta diferente do antibiótico isolado, superior ao intervalo de confiança de 95%

¹(Eritromicina)

²(Claritromicina)

O mel 3 e 4 (fração hexano) combinados com claritromicina não aumentaram a permeabilidade da membrana de *S. epidermidis* (Tabela 3), devido ao padrão médio de resposta da inibição do crescimento desses méis combinados com antibióticos foi igual ao do antibiótico isolado.

O mel 3 (fresco, fração acetato de etila e fração N-butanol), o mel 4 (fração N-butanol) e o mel 5 (fresco), combinados com claritromicina, não aumentaram a permeabilidade da membrana sobre *S. epidermidis*. Esses méis não foram superiores ao intervalo de confiança e ainda diminuíram a ação do antibiótico quando combinados.

Tabela 3. Atividade antibacteriana expressa pela inibição do crescimento (%) (%) de *S. epidermidis* por méis, frações e controle positivo isolado e combinados (resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão) após 24 horas de incubação.

	Isolados		Combinados
	Mel (80 mg/ml)	Clarithromicina (20 μ g/ml)	Mel e Clarithromicina
<i>S. epidermidis</i>			
Mel 3 fresco	36 $\pm$ 2,42		80 $\pm$ 18,31
Mel 3 hexano	85 $\pm$ 4,18		100 $\pm$ 0*
Mel 3 acetato de etila	39 $\pm$ 7,83		89 $\pm$ 18,30
Mel 3 N-butanol	49 $\pm$ 12,02	100 $\pm$ 1,19*	90 $\pm$ 12,49
Mel 4 hexano	71 $\pm$ 23,16		100 $\pm$ 0*
Mel 4 N-butanol	44 $\pm$ 11,54		93 $\pm$ 16,64
Mel 5 fresco	51 $\pm$ 33,88		85 $\pm$ 18,97

*Padrão de resposta do antibiótico isolado não diferiu do mel combinado com o antibiótico dentro do intervalo de confiança de 95%

A inibição do crescimento das bactérias gram positiva, na concentração usada no efeito combinado com antibiótico de 80 mg/mL, aumentou em relação à concentração de 1 mg/mL, com destaque do mel 3 e 4 (fração hexano) sobre *S. epidermidis* com 85 e 71% de inibição (80 mg/mL), respectivamente (Tabela 2).

4.2.2 Time-kill teste

O mel 1(fresco e fração N-butanol), combinado com os antibióticos (eritromicina e claritromicina) provocou o aumento da permeabilidade da

membrana de *E. faecalis*, a partir de 4 horas de incubação. Esse efeito foi confirmado em 24 horas (Figura 5 A, B).

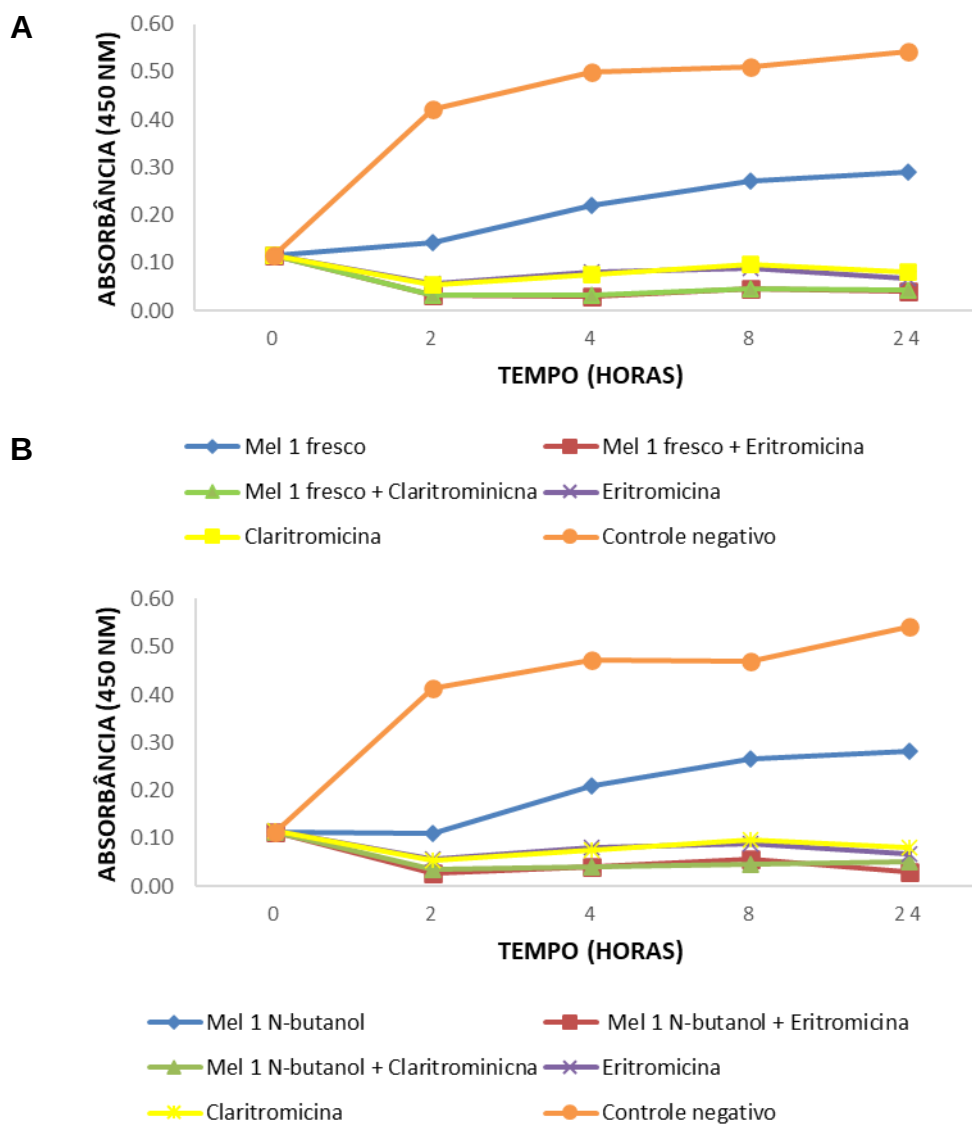


Figura 5. Curva de time-kill para *E. faecalis* exposta ao mel 1 fresco (A) e a fração N-butanol do mel 1 (B), nas concentrações de 80 mg/ mL e controle positivo em 20 µg/mL.

O mel 4 (fresco e fração N-butanol) (Figura 6 A, B) e 5 (fração hexano) (Figura 7), combinados, aumentaram a permeabilidade de *E. faecalis* entre 4 e 8 horas, no entanto, isso não se confirma com 24 horas de incubação.

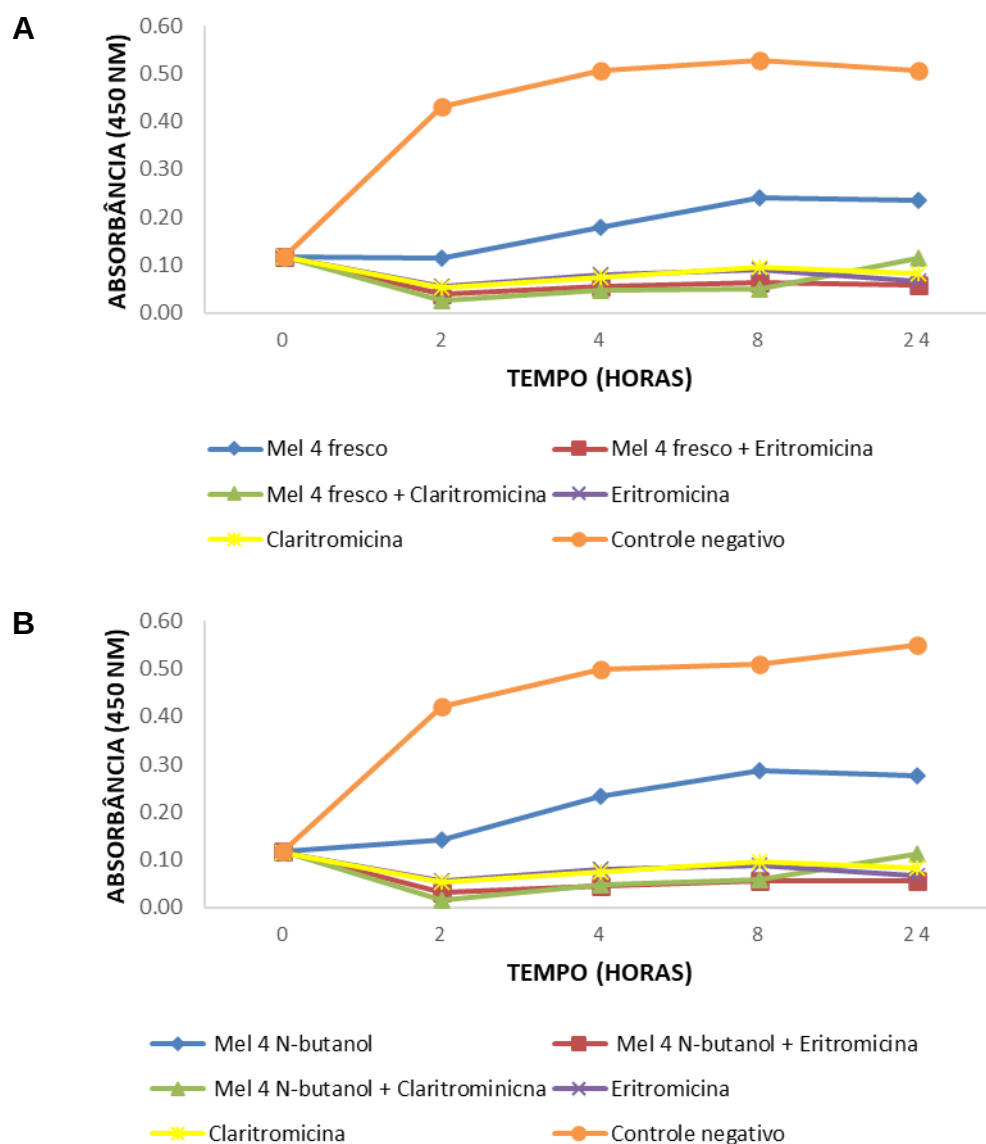


Figura 6. Curva de time-kill para *E. faecalis* exposta ao mel 4 fresco (A) e a fração N-butanol do mel 4 (B), nas concentrações de 80 mg/ mL e controle positivo em 20 µg/mL.

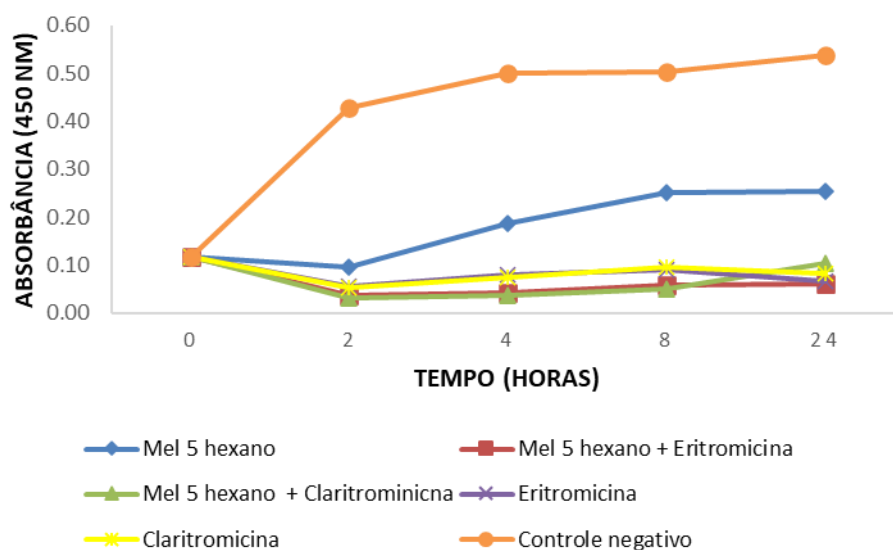


Figura 7. Curva de time-kill para *E. faecalis* exposta a fração hexano do mel 5, nas concentrações de 80 mg e controle positivo em 20 µg/ml.

Nenhuma amostra de mel aumentou a permeabilidade da membrana de *S. epidermidis* nos diferentes tempos avaliados, devido à redução do crescimento bacteriano, no mel combinado com antibiótico, ter sido inferior ou igual ao antibiótico isolado.

O mel 3 (fresco) (Figura 8 A) e 4 (fração N-butanol) (Figura 9 B), combinados com claritromicina, proporcionaram maior crescimento da bactéria a partir de 8 horas, em 24 horas isso se confirma nitidamente. Essas amostras isoladas tiveram a tendência de maior crescimento de *S. epidermidis* a partir de 2 horas. O mesmo padrão foi observado para o mel 3 (fração acetato de etila e fração N-butanol) e mel 5 (fração hexano).

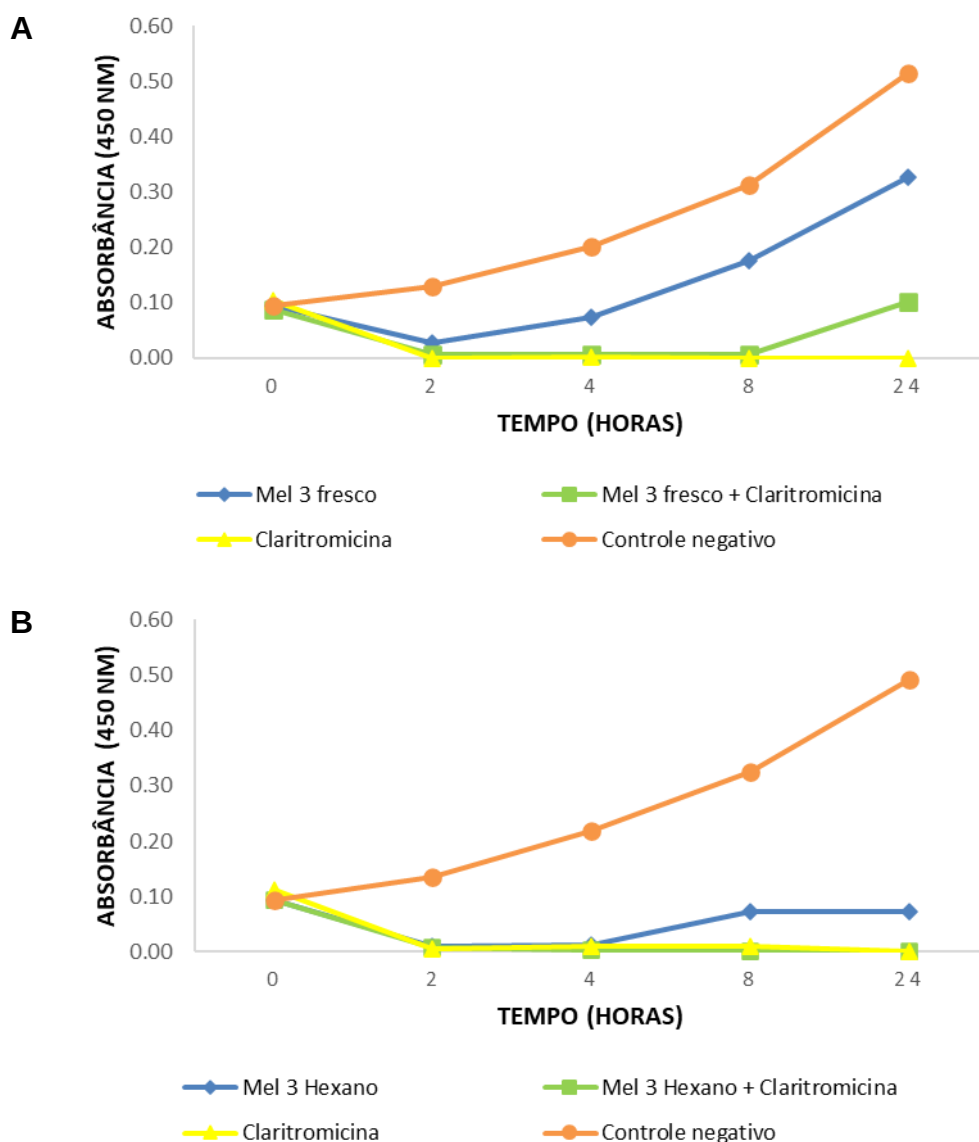


Figura 8. Curva de time-kill para *S. epidermidis* exposta ao mel 3 fresco (A) e sua fração hexânica (B), nas concentrações de 80 mg e controle positivo em 20 µg/ml.

O mel 3 e 4 (fração hexano) (Figura 8 B) (Figura 9 A), combinados com claritromicina em 24 horas, reduziram o crescimento de *S. epidermidis* em 85 e 71% em relação ao controle negativo, apesar de não apresentarem aumento da permeabilidade da membrana.

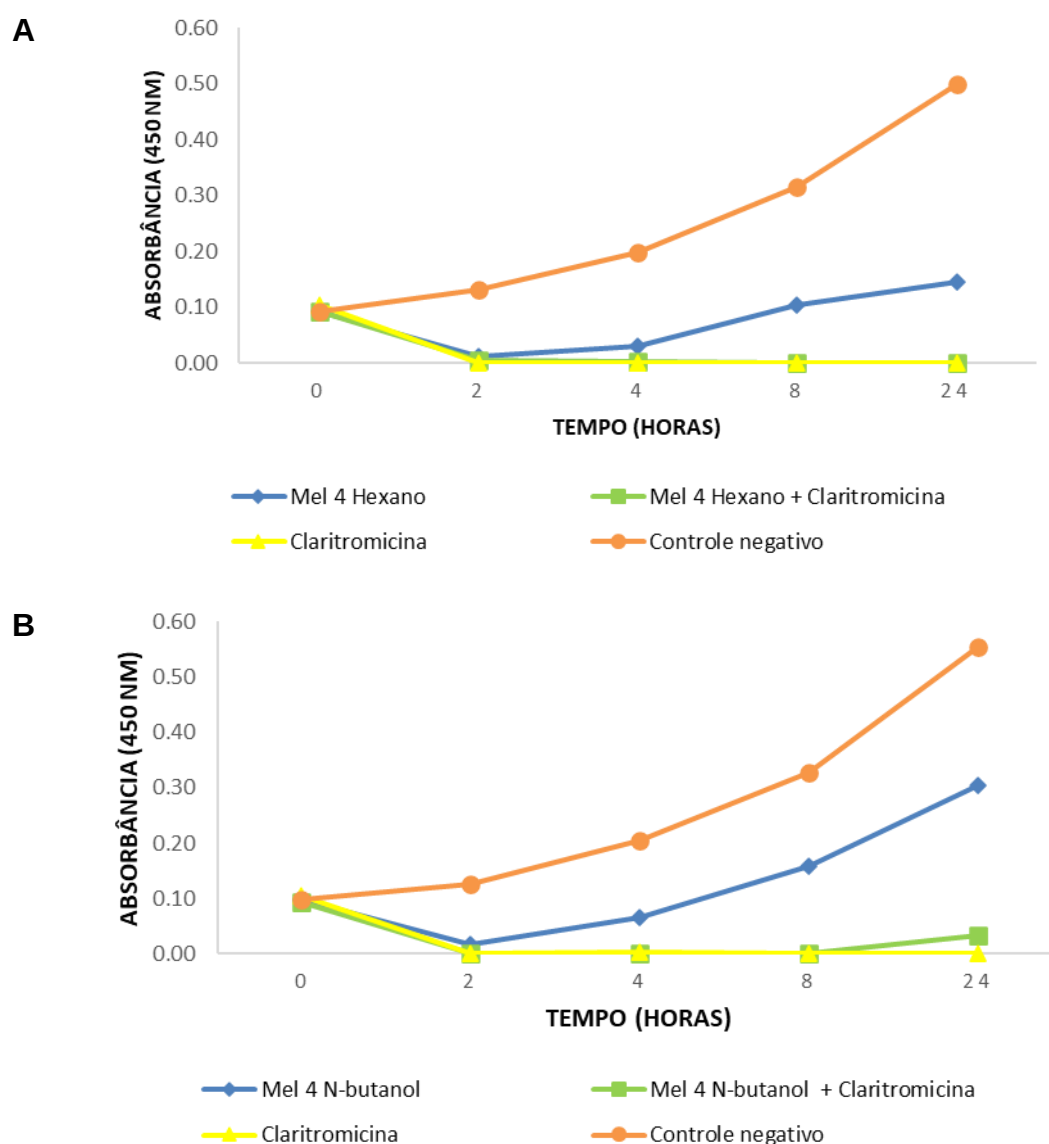


Figura 9. Curva de time-kill para *S. epidermidis* exposta a fração hexano do mel 4 (A) e N-butanol do mel 4 (B), nas concentrações de 80 mg e controle positivo em 20 µg/ml.

5. DISCUSSÃO

O efeito de aumento da permeabilidade da membrana pelo mel 1 fresco e o mel 1 fração N-butanol foi confirmado para a bactéria *E. faecalis*, cuja ação pode estar relacionada com a composição de flavonoides, que estão presentes em maior proporção na fração N-butanol (EZEALIGO *et al.*, 2020). Os flavonoides fazem parte da classe dos polifenóis, que são originados a partir do

metabolismo de plantas (CIANCIOSI *et al.*, 2018), e estão presentes no mel devido às abelhas coletarem néctar das plantas para sua produção (ISTASSE *et al.*, 2016). Os flavonoides dos cinco méis estudados devem ser comuns, devido a origem botânica dos méis avaliados por Mendonça (2020), os quais são os mesmos avaliados no presente estudo (mesma procedência e lote de mel), ser semelhante, exceto para o mel de Cáceres (mel1), que foi o único a apresentar contribuição da espécie *Senna rugosa* (MENDONÇA, 2020).

Senna rugosa é um arbusto/ subarbusto, pertencente à família Fabaceae, com ocorrência nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil (BORTOLUZZI, 2020). O gênero *Senna* contém metabólitos importantes como alcaloides, antraquinonas, flavonoides, taninos, glicosídeos, esteroides, terpenóides, saponinas e óleos voláteis (OLADEJI; ADELOWO; OLUYORI, 2021). Entre os flavonoides presentes em espécies do mesmo gênero como *Senna reticulata* já foram encontrados catequina e epicatequina, a presença de catequina foi evidenciada em *Senna alata*, assim como em *Senna macranthera* (NAVARRO *et al.*, 2017; OLADEJI; ADELOWO; OLUYORI, 2021).

O efeito sobre a permeabilidade da membrana do mel provavelmente não deve estar relacionado ao conteúdo total de flavonoides (CTF) quantitativo, mas ao qualitativo, uma vez que em méis de regiões de Mato Grosso a média foi de 6,05 mg EQ/ 100 g mel e o mel de Cáceres foi 3,46 mg EQ/ 100 g mel. Demais méis, Cáceres (mel 2), Barra do Garças (mel 3) e Nossa Senhora do Livramento(4) e Sinop (mel 5) tiveram conteúdo total de flavonoides (CTF) que variou de 6,74 a 13,02, superior à média (MENDONÇA, 2020). O conteúdo total de flavonoides dos méis de Mato Grosso ainda é inferior se comparado com outros méis que avaliaram a atividade antibacteriana como, por exemplo, do mel de regiões da Malásia com CTF de 29,17 a 91,25 mg EQ/ 100 g mel (YAACOB *et al.*, 2020), assim como o mel do Sudeste do Brasil com CTF de 55,59 mg EQ/ 100 g (LIRA *et al.*, 2014). Logo, o efeito provocado pelo mel 1 sobre a membrana de *E. faecalis* deve estar relacionado a um flavonoide específico. A atividade biológica do mel está relacionada com as fontes botânicas visitadas pelas abelhas, e que, por sua vez, sofre a influência da flora regional (COOPER, 2014; DE-MELO *et al.*, 2017; NASCIMENTO *et al.*, 2018). Outros fatores são

importantes como o ano, origem, número de cachos, que se relacionam com o perfil químico do mel (OLAVE-OLAVE *et al.*, 2021).

A epicatequina é um flavonoide presente na espécie *Acacia catechu*, pertencente à mesma família de *Senna rugosa* (Fabaceae), na qual foi verificada a atividade antibacteriana sobre a bactéria *Enterococcus faecalis* (EZHIL; LAKSHMI, 2017). A ação dos flavonoides sobre bactérias é baseada na alteração da membrana, o que desencadeia danos sobre as estruturas da membrana celular ou afeta a sua permeabilidade (SILVA *et al.*, 2020). Os flavonoides ainda agem na inibição do DNA girase, que, pela geração de peróxido de hidrogênio, inibe o peptidoglicano e a síntese de ribossomo, resultando na indução da lise celular e inibição de DNA helicases DnaB e RecBCD (ALMASAUDI, 2021). Neste sentido, hipotetiza-se que a epicatequina pode estar presente no mel 1 e associada ao efeito sobre a permeabilidade da membrana de *E. faecalis*, semelhante ao constatado para a espécie *Acacia catechu*.

Estudo com a combinação de mel de trigo sarraceno (China) e lactato ferroso verificou que o dano à membrana celular de bactéria ainda pode estar relacionado ao vazamento de proteínas, devido maior produção de OH. Isso resultou em maior permeabilidade da membrana (LIANG *et al.*, 2020). A explicação para esse efeito é devido à capacidade do ferro de se ligar ao peróxido de hidrogênio, gerando OH. A capacidade de redução do férrico-tripiridiltriazina (Fe^{3+}) ao complexo ferroso (Fe^{2+}) é verificada na atividade antioxidante pelo método de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) (BARBOSA *et al.*, 2010).

A atividade antioxidante, determinada pelo poder de redução do íon férrico (FRAP) para o mel 1, avaliada por Mendonça (2020) teve concentração eficiente ($\text{EC}_{50\%}$) de 0,53 mg/ mL, que foi considerada uma atividade moderada em relação aos méis de Mato Grosso, que variou de 0,28 a 0,63 mg/ mL. Essa atividade antioxidante do mel 1 pode auxiliar o mecanismo de ação sobre a permeabilidade da membrana de *E. faecalis*. O mel de Manuka, dentre os méis do território australiano, apresentou a maior atividade antioxidante pelo FRAP ($3,76 \pm 0,158$ mmol TE) (Hunter *et al.*, 2021). A atividade antioxidante teve

correlação com a atividade antibacteriana sobre *S. aureus*, com atuação sobre os genes responsáveis pela lise celular e a cadeia de transporte de elétrons. Isso teve como consequência o vazamento de prótons através da membrana plasmática e indução da despolarização e permeabilização da membrana (BOUZO *et al.*, 2020). A atividade antioxidante de méis de diferentes locais da Roménia de 689 ($\mu\text{mol Fe}^{2+} / \text{L}$) foi relacionada ao flavonoide catequina (AHMADI *et al.*, 2020; CIUCURE; GEANA, 2019). Este flavonoide teve atividade antibacteriana sobre *H. pylori* (DÍAZ-GÓMEZ *et al.*, 2013) e seu mecanismo de ação é baseado na geração de peróxido de hidrogênio (ALMASAUDI, 2021). A catequina pode se ligar à camada de peptidoglicano de bactérias, interferindo na biossíntese de sua parede celular (GÓRNIK; BARTOSZEWSKI; KRÓLICZEWSKI, 2019).

O mel 3 fresco, fração acetato de etila e fração N-butanol, o mel 4 fração N-butanol e o mel 5 fresco, combinados com os antibióticos não reduziram o crescimento de *S. epidermidis*. Estes méis ainda favoreceram maior crescimento de *S. epidermidis* após 24 horas de incubação, comportamento relatado anteriormente (BALAZS *et al.*, 2021). Diferentemente, em estudo com amostras do mel de Rubus de Galiza (noroeste da Espanha), a *S. epidermidis* foi inibida com CIM de 31,3 a 125 mg/ml. Esse resultado demonstra que alguns tipos de méis inibiram *S. epidermidis* em concentrações mais altas, superiores à utilizada em nosso estudo. Neste mel foram identificados os polifenóis ácido cafeico (2.42 mg/kg), ácido p-cumárico (5.52 mg/kg), ácido elágico (5.47 mg/kg), pinocembrina (1.00 mg/kg), crisina + galangina (1.25 mg/kg), tectocrisina (0.31 mg/kg) e kaempferol (0.69 mg/kg) (ESCUREDO *et al.*, 2012). A quantidade relativamente baixa de polifenóis indica que não é a quantidade, mas sim a identidade que está relacionada à atividade antibacteriana.

No entanto, com 80 mg/mL, o mel 3 e o mel 4 frações hexano, isoladamente, chegou a inibir *S. epidermidis* em 85 e 71%, respectivamente. Na fração hexano do mel africano foi encontrada atividade antibacteriana sobre *H. pylori*. Nesta fração foram extraídos diferentes compostos voláteis pertencentes a família dos ácidos, álcool, cetona, ácido alifático, composto de benzeno,

hidrocarboneto, furano e derivados de pirano (MANYI-LOH; CLARKE; NDIP, 2012).

O mel 4 fresco e fração N-butanol e o mel 5 fração hexano, combinados com o controle positivo, reduziram o crescimento de *E. faecalis* entre 4 e 8 horas em comparação com os controles isolados. Diante da ação desses méis sobre a bactéria nesses horários, repetir a oferta, em intervalos menores que 24 horas, poderia ser uma aplicação prática. Para isso é necessário o estudo com a sinética desse mel sobre a *E. faecalis*, para verificar se a oferta de mel em intervalo de tempo menor terá efeito positivo. Isso auxiliaria a manter o efeito do mel junto ao antibiótico. O aumento da frequência de oferta do mel seria semelhante aos ofertados por alguns antibióticos como a claritromicina (12/12 horas) e eritromicina (6/6 horas) (COMISSÃO DE CONTROLE DE INFECÇÃO HOSPITALAR– CCIH, 2020).

O aumento da permeabilidade da membrana de *E. faecalis*, promovida pelo mel 1 fresco combinado com o controle positivo, começou a partir de 4 horas. Esse efeito foi observado até 24 horas, sugerindo que talvez não seria necessário a oferta desse mel em intervalo menor. Neste sentido, o mel 1 representa um importante achado neste estudo, com potencial uso como complemento a um tratamento medicamentoso, como a Claritromicina e eritromicina sobre *E. faecalis*. Esse uso pode ser ofertado a qualquer pessoa, inclusive uso restritivo de mel por diabéticos não foi verificado. Ainda foi comprovado o efeito positivo do mel, em um estudo experimental com ratos Wistar com neuropatia diabética induzida. Após seis semanas com a administração de mel houve redução significativa da glicemia e lipídeos (EGBUNA *et al.*, 2021; SIRISHA *et al.*, 2021).

Apesar dos produtos avaliados por este estudo não apresentarem sinergismo com a combinação, houve um aumento da atividade antibacteriana. Assim, a utilização do mel em tratamento médico seria um avanço, com a redução dos gastos com tratamento convencional, menor uso de antimicrobiano, rapidez na cura e redução nas hospitalizações (OLIVEIRA *et al.*, 2017; ABDRAHIM *et al.*, 2019; ALMASAUDI, 2021). Estudos com a combinação de antibióticos com mel evidencia o benefício na atividade antibacteriana. O uso

do mel de regiões do Irã, combinado com os antibióticos tetraciclina e ciprofloxacina sobre uma bactéria, diminuiu em duas vezes a CIM destes antibióticos (JAKTAJI; GHALAMFARSA, 2021). O mel de Manuka, Nova Zelândia, combinado com antibiótico linezolida, proporcionou potencialização da inibição sobre *S. aureus*. Desse modo, possibilitou o acúmulo intracelular do antibiótico (HAYES *et al.*, 2018). A combinação do mel de Manuka com o antibiótico rifampicina teve atividade sinérgica sobre isolados clínicos de *S. aureus*, inclusive para cepa resistente à meticilina (MRSA) (MULLER *et al.*, 2013).

Apesar do efeito no aumento da permeabilidade da membrana pelos méis 1, 4 e 5 sobre *E. faecalis*, não foi encontrada CIM (Concentração Inibitória mínima) para os méis avaliados até 80 mg/mL. Por outro lado, os méis na concentração de 80 mg/mL tiveram um aumento considerável na inibição de *S. epidermidis* de até 70%, em relação à concentração de 1 mg/mL. Para *H. pylori* as inibições chegaram a 70% com utilização de 1 mg/mL de mel. Inibições completas de diferentes bactérias foram encontradas com uso concentrações de mel superiores à utilizada neste estudo. Méis de regiões ocidentais da Croácia tiveram CIM em concentrações que variaram de 100 a 400 mg/mL sobre as bactérias gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia.coli* (GOBIN *et al.*, 2018). Méis de apiários, em Trinidad, tiveram CIM que variaram de 160 a 320 mg/mL sobre *S. pyogenis* e *S. aureus* (BROWN *et al.*, 2020). Mel da região da Amazônia, Brasil, teve CIM de 100 mg/mL sobre *S. epidermidis* (CRUZ *et al.*, 2014). Isso indica que em concentrações superiores a 80 mg/mL, os méis avaliados neste estudo poderão apresentar inibição completa das bactérias.

A falta de inibições completas para *H. pylori*, em concentração menores que 80 mg/mL, pode ser devido à resistência da bactéria ser observada para algumas cepas em população humana contra o antibiótico de última geração claritromicina (ZEFENKEY, NASER, BALACH, 2012). O tratamento médico, para o controle de *H. pylori*, é a combinação de antibióticos e um controlador de bomba de prótons devido à dificuldade de mortalidade da bactéria (SOUSA *et al.*, 2017).

Apesar de *E. faecalis* ser gram positiva, a dificuldade na sua inibição pelo mel pode ser devido ao registro de resistência a antibióticos do gênero *Enterococcus* (RŮŽIČKOVÁ, VÍTEŽOVÁ, KUSHKEVYCH, 2020; SANTOS *et al.*, 2018). Por outro lado, *S. aureus* é uma bactéria gram positiva, susceptível a diferentes concentrações de mel, geralmente baixas, com CIM que já variaram de 10 mg/mL a 50 mg/ml (BORSATO *et al.*, 2013; COMBARROS-FUERTE *et al.*, 2019; GOBIN *et al.*, 2018; MERCES *et al.*, 2013).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os méis e suas frações não tiveram atividade antibacteriana até 1 mg/mL. O mel 1, pertencente à cidade de Cáceres, MT-Brasil, quando combinado com os antibióticos, aumentou a permeabilidade da membrana da bactéria gram positiva *E. faecalis*. Isso possibilitou uma maior ação dos produtos combinados em menor tempo de incubação, em relação aos produtos isolados.

Neste sentido, um estudo do mel de Cáceres (Brasil) para confirmação do mecanismo de ação sobre a membrana de *E. faecalis* e o isolamento do flavonoide bioativo auxiliarão no potencial desse mel de Mato Grosso.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELMALEK, M. *et al.* Antibacterial activity of honey alone and in combination with *Nigella sativa* seeds against *Pseudomonas aeruginosa* infection. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 2, n. SUPPL.1, p. S428–S430, 2012.

ABDERRAHIM, L. A. *et al.* Euphorbia honey and garlic: Biological activity and burn wound recovery. **Burns**, v. 45, n. 7, p. 1695–1706, 1 nov. 2019.

Associação Brasileira de Estudos das Abelhas-ABELHA. **Produção de mel gera empregos e movimenta a economia do Norte de Minas**. 2017. Disponível em: <<https://abelha.org.br/producao-de-mel-gera-empregos-e-movimentaeconomia-do-norte-de-minas/>>. Acesso em: 31 agosto 2022.

ADAMS, C. J. *et al.* Isolation by HPLC and characterisation of the bioactive fraction of New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. **Carbohydrate Research**, v. 343, n. 4, p. 651–659, 17 mar. 2008.

AHMADI, S. M. *et al.* Structure-Antioxidant Activity Relationships of Luteolin and Catechin. **Journal of Food Science**, v. 85, n. 2, p. 298–305, 1 fev. 2020.

AHMED, M. *et al.* In vitro activity of natural honey alone and in combination with curcuma starch against *Rhodotorula mucilaginosa* in correlation with bioactive compounds and diastase activity. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 10, p. 816–821, out. 2013.

AHMED, S.; OTHMAN, N. H. The anti-cancer effects of Tualang honey in modulating breast carcinogenesis: An experimental animal study. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, p. 208, 11 abr. 2017.

ALDA, S. *et al.* Research regarding honey mineral intake. **Forestry and Biotechnology**, v. 21, n. 4, p. 40–43, 2017.

ALEIXO, M. L. M. **Atividade anti - *Helicobacter pylori* e antioxidante do mel de *Apis mellifera* de Mato Grosso**. 130 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) –Universidade do Estado de Mato Grosso, Mato Grosso, 2018.

AL-HISNAWI, A. A.; MUSTAFA, J. M.; YASSER, Y. K. The antimicrobial activity synergism between eucalyptus honey, pomegranate, date and antibiotics on *Escherichia coli* causing diarrhea in children. **AIP Conference Proceedings**, v. 2144, p. 040003, 22 ago. 2019.

ALHO, C. J. R. Importância da biodiversidade para a saúde humana: uma perspectiva ecológica. **Estudos Avançados**, v. 26, n. 74, p. 151–166, 2012.

ALJADI, A. M.; YUSOFF, K. M. Isolation and Identification of Phenolic Acids in Malaysian Honeywith Antibacterial Properties. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 33, p. 229–236, 2003.

ALMASAUDI, S. The antibacterial activities of honey. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 4, p. 2188–2196, 1 abr. 2021.

AL-TAMTAMI, N.; AL-LAWATI, J.; AL-ABRI, S. Native Valve Endocarditis Caused by Coagulase Negative Staphylococci; an Appeal to Start Outpatient Antimicrobial Therapy: An Unusual Case Report. **Medical Journal**, v. 26, n. 4, p. 269–270, 2011.

ANACLETO, D. A.; MARCHINI, L. C. Composição físico-química de amostras de méis de *Apis mellifera* L. PROVENIENTES DO CERRADO PAULISTA 1. **Boletim de Indústria Animal**, v. 61, n. 2, p. 161–172, 2004.

ANDUALEM, B. Combined antibacterial activity of stingless bee (*Apis mellipodae*) honey and garlic (*Allium sativum*) extracts against standard and clinical pathogenic bacteria. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 9, p. 725–731, set. 2013.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). Instrução Normativa (IN) nº 65, de 20 de agosto de 2020. Regulamenta a classificação das alterações pós-registro e condições e documentos técnicos necessários para instruir as petições de alteração pós-registro e de cancelamento de registro dos produtos biológicos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 1-63, 31 ago. 2020. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/4247824/IN_65_2020_.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2021.

ANVISA. **Antimicrobianos - Base Teóricas e Uso Clínico**. 2007. Disponível em:

<https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo1/macrolideos.htm>. Acesso em 10 jun. 2021.

Apex-Brasil-Agência Brasileira de Promoção de Exportações e Investimentos. **Estudo de Acesso a Mercado Mel Natural**. 2021. Disponível em: <https://click.apexbrasil.us/acesso_mercado_mel_2021>. Acesso em: 01 ago. 2022.

AVILA, S. Stingless bee honey: quality parameters, bioactive compounds, health promotion properties and modification detection strategies. **Trends in Food Science & Technology**, v. 81, p. 37–50, 2018.

BAEK, Y. *et al.* Total phenolic contents and antioxidant activities of Korean domestic honey from different floral sources. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n. 4, p. 1453–1457, 3 ago. 2015.

BALAZS, V. L. *et al.* In vitro antibacterial and antibiofilm activity of hungarian honeys against respiratory tract bacteria. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1632, 1 jul. 2021.

BALKANSKA, R.; STEFANOVA, K.; STOIKOVA–GRIGOROVA, R. Main honey botanical components and techniques for identification: a review. **Journal of Apicultural Research**, v. 59, n. 5, p. 852–861, 19 out. 2020.

BARBOSA, K. B. F. *et al.* Revista de Nutrição Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.

BECERRIL-SÁNCHEZ, A. L. *et al.* Phenolic compounds in honey and their relationship with antioxidant activity, botanical origin, and color. **Antioxidants**, v. 10, n. 11, 1 nov. 2021.

BOCIAN, A. *et al.* An effective method of isolating honey proteins. **Molecules**, v. 24, n. 13, p. 2399, 2019.

BOORN, K. L. *et al.* Antimicrobial activity of honey from the stingless bee *Trigona carbonaria* determined by agar diffusion, agar dilution, broth microdilution and time-kill methodology. **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, n. 5, p. 1534–1543, 1 maio 2010.

BORSATO, D. M. *et al.* Atividade antimicrobiana de méis produzidos por meliponíneos nativos do paraná (Brasil). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 31, n. 1, p. 57–66, 2013.

BOS, M. P.; ROBERT, V.; TOMMASSEN, J. Biogenesis of the gram-negative bacterial outer membrane. **Annual Review of Microbiology**, v. 61, p. 191–214, 2007.

BOSCO, L. B.; LUZ, C. F. P. Pollen analysis of Atlantic forest honey from the Vale do Ribeira Region, state of São Paulo, Brazil. **Grana**, v. 57, n. 1–2, p. 144–157, 4 mar. 2017.

BOUACHA, M.; AYED, H.; GRARA, N. Honey bee as alternative medicine to treat eleven multidrug-resistant bacteria causing urinary tract infection during pregnancy. **Scientia Pharmaceutica**, v. 86, n. 2, 1 jun. 2018.

BOUACHA, M.; BENBOUZID, H. Antibacterial properties of honey from different algerian regions against *staphylococcus aureus* strains from wounds. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 14, n. 1, p. 447–453, 1 mar. 2020.

BOUZO, D. *et al.* Characterizing the Mechanism of Action of an Ancient Antimicrobial, Manuka Honey, against *Pseudomonas aeruginosa* Using Modern Transcriptomics. **mSystems**, v. 5, n. 3, p. e00106-20, 30 jun. 2020.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde: Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos** pelo Laboratório de Microbiologia Clínica. Brasília: Anvisa, 2020. 160 p.

BRASIL. Anvisa. **Gram-positivos**. 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo4/intr_sta.htm>. Acesso em 03 jun 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa 11, de 20 de outubro de 2000, regulamento técnico de identidade e qualidade do mel**. Disponível em:<http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/anexo_intrnorm11.htm>. Acesso em: 05 jun 2020.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Anvisa. **Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção hospitalar em serviços de saúde**. Brasília, 2004. 381 p.

BRASIL. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BROWN, E. *et al.* Physical characteristics and antimicrobial properties of *Apis mellifera*, *Frieseomelitta nigra* and *Melipona favosa* bee honeys from apiaries in Trinidad and Tobago. **BMC complementary medicine and therapies**, v. 20, n. 1, p. 85, 17 mar. 2020.

BRUGNEROTTO, P. *et al.* A capillary electrophoresis method to determine aliphatic organic acids in bracatinga honeydew honey and floral honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 82, 1 set. 2019.

CASTRO-VDZQUEZ, L.; PEREZ-COELLO, M. S.; CABEZUDO, M. D. Analysis of Volatile Compounds of Rosemary Honey. Comparison of Different Extraction Techniques. **Chromatographia**, v. 57, n. 3/4, p. 227–233, 2003.

CHERCHI, A. *et al.* Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatographic determination of organic acids in honey. **Journal of Chromatography**, v. 669, p. 59–64, 1994.

CHEW, C. Y. *et al.* Discovering potential bioactive compounds from Tualang honey. **Agricultura e Recursos Naturais**, v. 52, n. 4, p. 361-365, 2018.

CIANCIOSI, D. *et al.* Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. **Molecules**, v. 23, n. 9, p. 2322, 11 set. 2018.

CIULU, M. *et al.* RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. **Talanta**, v. 83, n. 3, p. 924–929, 15 jan. 2011.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 31 ed. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021. 352 p.

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex stan 12 – 1981**. FAO, 2019. Adopted in 1981. Revised in 1987, 2001. Amended in 2019. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net/standard>>. Acesso em: 05 jun de 2020.

COMBARROS-FUERTES, P. *et al.* Antibacterial action mechanisms of honey: Physiological Effects of Avocado, Chestnut, and Polyfloral Honey upon *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Molecules**, v. 25, n. 5, p. 1252, 1 mar. 2020.

COMBARROS-FUERTES, P. *et al.* Bioactive Components and Antioxidant and Antibacterial Activities of Different Varieties of Honey: A Screening Prior to

Clinical Application. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 2, p. 688–698, 16 jan. 2019.

COMISSÃO DE CONTROLE DE INFECÇÃO HOSPITALAR– CCIH. **Manual de Antibioticoterapia** Fundação Municipal de Saúde, 2020. Disponível em: < <https://www.saudedireta.com.br/docsupload/1340102606ManualdeAntibioticoterapia.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2021.

COOPER, R. Honey as an effective antimicrobial treatment for chronic wounds: is there a place for it in modern medicine? **Chronic Wound Care Management and Research**, v. 1, p. 15–22, ago. 2014.

Cooperativa Nacional de Apicultura-CONAP. **O que seria do mundo sem as abelhas?**. Disponível em: < <https://www.conap.coop.br/2020/11/28/o-que-seria-do-mundo-sem-as-abelhas/> >. Acesso em: 29 agosto 2022.

COSTA, S. N. et al. Fontes de pólen utilizadas por *Apis mellifera latreille* na região semiárida. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 16, n. 4, p. 491–497, 2015.

CRUZ, C. B. N. et al. Antimicrobial activity of honeys from two stingless honeybee species and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) against pathogenic microorganisms. **Acta Amazônica**, v. 44, n. 2, p. 287–290, 2014.

DARDON, M. J.; ENRIQUEZ, E. Caracterización fisicoquímica y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (Meliponini) de Guatemala. **Interciencia**, v. 33, n. 12, p. 916–922, 2008.

DELIBERALI, B. et al. Prevalência de bacilos Gram-negativos não fermentadores de pacientes internados em Porto Alegre-RS. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 5, p. 529–534, 2011.

DE-MELO, A. A. M.; ESTEVINHO, L. M.; MOREIRA, M. M.; DELERUE-MATOS, C.; FREITAS, A. S. F.; BARTH, O. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. A multivariate approach based on physicochemical parameters and biological potential for the botanical and geographical discrimination of Brazilian bee pollen. **Food Bioscience**, v. 25, p. 91-110, 2017.

DE-MELO, A. A. M. et al. Composición y propiedades de la miel de *Apis mellifera*: una revisión. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 1, p. 5–37, 1 jan. 2018.

DÍAZ-GÓMEZ, R. et al. Comparative antibacterial effect of gallic acid and catechin against *Helicobacter pylori*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 331–335, dez. 2013.

EGBUNA, C. et al. Bioactive Compounds Effective Against Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 12, p. 1067–1095, 9 maio 2021.

ESCUREDO, O. et al. Assessing Rubus honey value: Pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity. **Food Chemistry**, v. 130, n. 3, p. 671–678, 1 fev. 2012.

EWNETU, Y.; LEMMA, W.; BIRHANE, N. Antibacterial effects of *Apis mellifera* and stingless bees honeys on susceptible and resistant strains of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* in Gondar, Northwest Ethiopia. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, p. 269, 19 out. 2013.

EZEALIGO, U. et al. Total Phenolic and Flavonoid Content and In Vitro Antioxidant Activity of Methanol Extract and Solvent Fractions of *Desmodium ramosissimum* G. Don. **Medical Sciences Forum**, v. 2, n. 1, p. 15, 30 nov. 2020.

EZHIL, I.; LAKSHMI, T. Antibacterial efficacy of epicatechin and rutin from *Acacia catechu* leaf extract against *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus mutans*- An in vitro study. **Journal of Advanced Pharmacy Education & Research**, v. 7, n. 1, p. 22–24, 2017.

FILHO, P. L. P.; PAN, S. S. K. Cadeia farmacêutica no Brasil: avaliação preliminar e perspectivas. **BNDS Setorial**, n. 18, p. 3–22, jul. 2003.

FRANZ, G. M. **Atividade biológica e composição química de méis produzidos em alguns municípios da Amazônia, Cerrado e Pantanal de Mato Grosso**. 104 f. (Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais) – Universidade do Estado de Mato grosso, Mato Grosso, 2015.

FREITAS, W. A. T.; NOVAIS, J. S. Melissopalynology in the Brazilian Amazon: a databank of pollen types cited in the literature. **Boletín de la Asociación Latinoamericana de Paleobotánica y Palinología**, n. 14, p. 103–136, 2014.

GALVAO, W. R. A. *et al.* Gastroprotective and anti-inflammatory activities integrated to chemical composition of *Myracrodruon urundeuva* Allemão - A conservationist proposal for the species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 222, p. 177–189, 10 ago. 2018.

GOBIN, I.; *et al.* Antibacterial potential of Croatian honey against antibiotic resistant pathogenic bacteria. **Medicinski Glasnik**, v. 15, n. 2, p. 139–144, 2018.

GÓRNIAK, I.; BARTOSZEWSKI, R.; KRÓLICZEWSKI, J. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. **Phytochemistry Reviews**, v. 18, n. 1, p. 241–272, 15 fev. 2019.

GRAM, H.C.J. Ueber die isolirte färbung der schizomyceten in schnitt- und trockenpräparaten. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v.10, n. 15, p. 234-235, 1884.

GUO, N. *et al.* Comparison of the Chemical Composition and Biological Activity of Mature and Immature Honey: An HPLC/QTOF/MS-Based Metabolomic Approach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 13, p. 4062–4071, 1 abr. 2020.

HABIB, H. M. *et al.* Bioactive components, antioxidant and DNA damage inhibitory activities of honeys from arid regions. **Food Chemistry**, v. 153, p. 28–34, 15 jun. 2014.

HASHEM-DABAGHIAN, F. *et al.* Combination of *Nigella sativa* and honey in eradication of gastric *helicobacter pylori* infection. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 18, n. 11, 1 nov. 2016.

HAYES, G. *et al.* Manuka honey and methylglyoxal increase the sensitivity of *Staphylococcus aureus* to linezolid. **Letters in Applied Microbiology**, v. 66, n. 6, p. 491–495, 1 jun. 2018.

HUNTER, M. *et al.* The bioactive, antioxidant, antibacterial, and physicochemical properties of a range of commercially available Australian honeys. **Current Research in Food Science**, v. 4, p. 532–542, 1 jan. 2021.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal 2020**; Rio de Janeiro: IBGE, 2021. <Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/pesquisa/>>. Acesso em: 20 nov 2021.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Área da unidade territorial: Área territorial brasileira 2021**. Rio de Janeiro: IBGE, 2021. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt>>. Acesso em: 20 nov 2021.

IMEA - Instituto Mato-grossense de Economia Agropecuária. **MAPA DAS MACRORREGIÕES DO IMEA**. 2017. Disponível em:

<<https://www.imea.com.br/imeasite/view/uploads/metodologia/justificativamapa.pdf>>. Acesso em 20 junho 2021.

INFOSANBAS-Informações contextualizadas sobre saneamento no Brasil. Disponível em: <<https://infosanbas.org.br/>>. Acesso em: 20 junho 2021.

ISTASSE, T. *et al.* Extraction of honey polyphenols: Method development and evidence of cis isomerization. **Analytical Chemistry Insights**, v. 2016, n. 11, p. 49–57, 3 jul. 2016.

JAKTAJI, R. P.; GHALAMFARSA, F. Antibacterial activity of honeys and potential synergism of honeys with antibiotics and alkaloid extract of *Sophora alopecuroides* plant against antibiotic-resistant *Escherichia coli* mutant. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 24, n. 5, p. 623–628, 1 maio 2021.

JERKOVIC, I. *et al.* Headspace, volatile and semi-volatile patterns of Paliurus spina-christi unifloral honey as markers of botanical origin. **Food Chemistry**, v. 112, n. 1, p. 239–245, 1 jan. 2009.

JULIANTI, E.; RAJAH, K. K.; FIDRIANNY, I. Antibacterial activity of ethanolic extract of Cinnamon bark, honey, and their combination effects against acne-causing bacteria. **Scientia Pharmaceutica**, v. 85, n. 2, 1 jun. 2017.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 376 p.

KAPLAN, J. B. *et al.* Enzymatic detachment of *Staphylococcus epidermidis* biofilms. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 7, p. 2633–2636, jul. 2004.

KIM, S. *et al.* Isolation of Absciscic Acid from Korean Acacia Honey with Anti-*Helicobacter pylori* Activity. **Pharmacognosy Magazine**, v. 13, n. 2, p. 170–173, jul. 2017.

KONG, S. *et al.* Synergistic mechanism for the bioactivity fortification of licorice by honey. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 289, 10 maio 2022.

KUROPATNICKI, A. K.; KŁÓSEK, M.; KUCHARZEWSKI, M. La miel como medicina. Perspectivas históricas. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 1, p. 113–118, 1 jan. 2018.

KUSTERS, J. G.; VAN VLIET, A. H. M.; KUIPERS, E. J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 3, p. 449–490, jul. 2006.

KWAKMAN, P. H. S.; ZAAT, S. A. J. Antibacterial components of honey. **International Union of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 64, n. 1, p. 48–55, 2012.

LIANDA, R. L.; CASTRO, P. R. N. Isolamento e identificação da morina em mel brasileiro de *Apis mellifera*. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1472-1475, 2008.

LIANG, Y. *et al.* Antibacterial activity of buckwheat honey added with ferrous lactate against *Pseudomonas aeruginosa*. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 117, 1 jan. 2020.

LINZITTO, O. R.; TUNES, M. DEL L. Revision sobre bacterias gram negativas de importancia clinica. **Revista de Enfermedades Infecciosas Emergentes (REIE)**, v. 14, p. 28–31, 2019.

LIU, M. *et al.* Antibiotic-specific differences in the response of *Staphylococcus aureus* to treatment with antimicrobials combined with manuka honey. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. 779, 2015.

LIU, M. Y. *et al.* Rifampicin-manuka honey combinations are superior to other antibiotic-manuka honey combinations in eradicating *Staphylococcus aureus* biofilms. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. JAN, 11 jan. 2018.

LONGO, L. **Atividade biológica e composição química de méis produzidos em alguns municípios da Amazônia, Cerrado e Pantanal de Mato Grosso**. 102 f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais) – Universidade do Estado de Mato grosso, Mato Grosso, 2013.

LUZ, C. F. P.; CHAVES, S. A. DE M.; CANO, C. B. Botanical and geographical origins of honey samples from Pantanal (Mato Grosso and Mato Grosso do Sul states, Brazil) certificated by melissopalynology. **Grana**, v. 60, n. 3, p. 189–216, 2021.

MANYI-LOH, C. E. *et al.* Inhibitory and bactericidal activity of selected South African honeys and their solvent extracts against clinical isolates of *Helicobacter pylori*. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 26, n. 5, p. 897–906, 2013.

MANYI-LOH, C. E. *et al.* Selected South African honeys and their extracts possess in vitro anti-*Helicobacter pylori* activity. **Archives of Medical Research**, v. 41, n. 5, p. 324–331, 1 jul. 2010.

MANYI-LOH, C. E.; CLARKE, A. M.; NDIP, R. N. Detection of phytoconstituents in column fractions of n-hexane extract of goldcrest honey exhibiting anti-*Helicobacter pylori* activity. **Archives of Medical Research**, v. 43, n. 3, p. 197–204, abr. 2012.

MENDONÇA, J.C. **Investigação do mel dos biomas de mato grosso para indicação geográfica**. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade do Estado de Mato Grosso, 2020.

MERCES, M. D. *et al.* Atividade antimicrobiana de méis de cinco espécies de abelhas brasileiras sem ferrão. **Ciência Rural**, v. 43, n. 4, p. 672–675, 2013.

MIRZAEI, A. *et al.* Antibacterial Activity of Honey against Methicillin-Resistant and Sensitive *Staphylococcus Aureus* Isolated from Patients with Diabetic Foot Ulcer. **The Open Microbiology Journal**, v. 14, n. 1, p. 260–265, 25 nov. 2020.

MOGHADAM, M. N.; KHALEDI, E. M. Antibacterial activity and mechanism of action of some Iranian honeys compared to manuka honey against multidrug-resistant respiratory and urinary infections. **Food Bioscience**, v. 41, 1 jun. 2021.

MOLAN, P. C. The antibacterial activity of honey. **Bee World**, v. 73, n. 1, p. 5–28, 1992.

MOREIRA, F. A.; DE MARIA, C. A. B. glicídios no mel. **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 516–525, 2001.

MORRONI, G. *et al.* Comparison of the antimicrobial activities of four honeys from three countries (New Zealand, Cuba, and Kenya). **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. JUN, 25 jun. 2018.

MULLER, P. *et al.* Synergism between Medihoney and Rifampicin against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, 28 fev. 2013.

NAÇÕES UNIDAS BRASIL. **Objetivos de desenvolvimento sustentável**. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 26 de jan. 2022.

NALLAPAREDDY, S. R. *et al.* Endocarditis and biofilm-associated pili of *Enterococcus faecalis*. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 10, p. 2799–2807, 2 out. 2006.

NASCIMENTO, K. S. *et al.* Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. **LWT - Food Science and Technology**, v. 91, p. 85–94, 1 maio 2018.

NDIP, R. N. *et al.* In-vitro antimicrobial activity of selected honeys on clinical isolates of *Helicobacter pylori*. **African Health Sciences**, v. 7, n. 4, p. 228–231, 2007.

NOGUEIRA, J. M. R.; MIGUEL, L. F. S. Bacteriologia. In: MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, Instituto Oswaldo Cruz, 2009. 496 p.

O'GARA, J. P.; HUMPHREYS, H. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications. **Journal of Medical Microbiology**, v. 50, p. 582–587, 2001.

OLADEJI, O. S.; ADELOWO, F. E.; OLUYORI, A. P. The genus *Senna* (Fabaceae): A review on its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. **South African Journal of Botany**, v. 138, p. 1–32, 1 maio 2021.

OLATE-OLAVE, V. R. *et al.* Comparison of Chilean honeys through MALDI-TOF-MS profiling and evaluation of their antioxidant and antibacterial potential. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 66, n. 2, p. 152–161, 1 dez. 2021.

OLIVEIRA, A. *et al.* Synergistic antimicrobial interaction between honey and phage against *Escherichia coli* biofilms. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2407, 8 dez. 2017.

OLIVEIRA, P. S. *et al.* Ácidos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) e *Apis mellifera* (Apidae, Apini) da Amazônia. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1728-1732, 2012.

OTTO, M. *Staphylococcus epidermidis*-the “accidental” pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, n. 8, p. 555–567, 2009.

ÖZBAY, M.; ARSLAN, F. N.; GÖRÜR, G. Qualitative and Quantitative Detection of Monofloral, Polyfloral, and Honeydew Honeys Adulteration by Employing Mid-Infrared Spectroscopy and Chemometrics. **Food Analytical Methods**, v. 15, n. 8, p. 2274–2289, 2022.

PARAMAS, A. M. G. *et al.* HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). **Food Chemistry**, v. 95, n. 1, p. 148–156, mar. 2006.

PEREIRA, M. A. *et al.* **Identificação de ácidos fenólicos e flavonoides em Mel de Assa Peixe por Técnicas Cromatográficas**. In: 33^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://sec.sbq.org.br/cdrom/33ra/resumos/T2123-1.pdf>>. Acesso em: 05 jun. 2020.

PIMENTEL, R. B. DE Q. *et al.* Antimicrobial activity and rutin identification of honey produced by the stingless bee *Melipona compressipes manausensis* and commercial honey. **Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 151, 1 jul. 2013.

PRATEEKSHA *et al.* Scaffold of Selenium Nanovectors and Honey Phytochemicals for Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing and Biofilm Formation. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, n. 93, 23 mar. 2017.

PRAYITNO, Y. A.; EMMAWATI, A.; RAHMADI, A. Physico-chemical characteristics, antibacterial, and antioxidant activities of genuine forest honey from east kalimantan. **Food Research**, v. 4, n. 6, p. 1969–1978, 1 dez. 2020.

RADAESKI, J. N.; SILVA, C. I.; BAUERMANN, S. G. Melissopalinologia no Rio Grande do Sul: revisão e caracterização das espécies botânicas potenciais à apicultura e meliponicultura. **Acta Biológica Catarinense**, v. 6, n. 2, p. 63–75, 2019.

RAMLAN, N. A. F. M. *et al.* Application of heating on the antioxidant and antibacterial properties of malaysian and australian stingless bee honey. **Antibiotics**, v. 10, n. 11, 1 nov. 2021.

RANG, H.P. *et al.* **Farmacologia**. 7 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

REZVANI, M. B. *et al.* The synergistic effect of honey and cinnamon against *Streptococcus mutans* bacteria. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 4, p. 314–320, 1 abr. 2017.

ROCAS, I. N. *et al.* Association of *Enterococcus faecalis* With Different Forms of Periradicular Diseases. **Journal of Endodontics**, v. 30, n. 5, p. 315–320, 2004.

ROGERS, K. **Bactéria**. 2019. Disponível em: <<https://www.britannica.com/science/bacteria>>. Acesso em: 11 jun. 2020.

RŮŽIČKOVÁ, Michaela; VÍTEŽOVÁ, Monika; KUSHKEVYCH, Ivan. The characterization of Enterococcus genus: resistance mechanisms and inflammatory bowel disease. **Open Medicine**, v. 15, n. 1, p. 211-224, 2020.

SALGUEIRO, F. B. *et al.* Composição fenólica e propriedades antioxidantes de méis brasileiros. **Química Nova**, v.37, n.5, p.821-826, 2014.

SANTOS, A. M. V. *et al.* Pollen spectrum of the honey of *Apis mellifera* L. collected in the period of honey production. **Scientific Electronic Archives**, v. 12, n. 6, p. 69, 2 dez. 2019.

SANTOS, L. S.; DAMASCENO, N. S.; SOUTO, R. C. F. Resistência de bactérias Gram-positivas isoladas de infecção do trato urinário no LAC/PUC Goiás. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 51, n. 2, 2019.

SARANRAJ, P.; SIVASAKTHI, S. Comprehensive Review on Honey: Biochemical and Medicinal Properties. **Journal of Academia and Industrial Research (JAIR)**, v. 6, n. 10, 2018.

SILVA, J. T. *et al.* USE OF BEEKEEPING AS A SOURCE OF INCOME FOR SMALL PRODUCERS. **Realização - Revista on-line de Extensão e Cultura**, v. 7, n. 13, p. 121–130, 2020.

SILVA, A. C. F.; SILVA, S. K. R. Atividade antimicrobiana de méis produzidos em Santarém-PA, Brasil. In: Benedito Rodrigues da Silva Neto. **Pesquisa científica e tecnológica em microbiologia**. Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2020.

SILVA, A. D. *et al.* Atividade antimicrobiana de flavonoides: uma Revisão de Literatura. **Revista Interdisciplinar em Ciências da Saúde e Biológicas**, v. 4, n. 1, p. 51–65, 29 ago. 2020.

SILVA, A. P. V. DA *et al.* Atividade antifúngica do mel de abelha *Plebeia cf. flavocincta* contra *Aspergillus niger*. **Acta Apicola Brasilica**, v. 3, n. 1, p. 01–09, 13 fev. 2015.

SILVA, E. B. **Antimicrobianos**. 2019. Disponível em: <http://www.fmt.am.gov.br/manual/antimic.htm> Acesso em: 5 jun. 2019.

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

SIRISHA, A. *et al.* Effect of honey and insulin treatment on oxidative stress and nerve conduction in an experimental model of diabetic neuropathy Wistar rats. **PLoS ONE**, v. 16, n. 1, 1 jan. 2021.

SOUSA, T. C. *et al.* H. pylori: Implicações atuais e a resistência à terapia antimicrobiana-revisão de literatura Treatment and therapeutic resistance of H. pylori: review of literature. **Pará Research Medical Journal**, v. 1, n. 3, p. 28, 2017.

SUBRAMANIYAN, S. B. *et al.* *Artocarpus integrifolia* seed lectin enhances membrane damage, oxidative stress and biofilm inhibition activity of silver nanoparticles against *Staphylococcus aureus*. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 624, p. 126842, 5 set. 2021.

SUNTIPARAPO, K.; PRAPAIPONG, P.; CHANTAWANNAKUL, P. Chemical and biological properties of honey from Thai stingless bee (*Tetragonula leaviceps*). **Journal of Apicultural Research**, v. 51, n. 1, p. 45–52, 1 fev. 2012.

TILAHUN, M. *et al.* Ethno-pharmacological use of Ethiopian indigenous forest honey: the case of Sheka forest. **Research Square**, 9 mar. 2021.

TUKSITHA, L. *et al.* Antioxidant and antibacterial capacity of stingless bee honey from Borneo (Sarawak). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 21, n. 2, p. 563–570, 1 jun. 2018.

VADILLO-RODRIGUEZ, V. *et al.* A physico-chemical study of the interaction of ethanolic extracts of propolis with bacterial cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 200, p. 111571, 1 abr. 2021.

VAKIL, N. **Infecção por *Helicobacter pylori***. 2018. Disponível em: <<https://www.msdmanuals.com>>. Acesso em 03 jun. 2020.

VIDAL, M. DE F. MEL NATURAL: CENÁRIO MUNDIAL E SITUAÇÃO DA PRODUÇÃO NA ÁREA DE ATUAÇÃO DO BNB. **Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste - ETENE**, v. 6, n. 157, 2021.

VOIDAROU, C. *et al.* In vitro screening potential antibacterial properties of the greek oregano honey against clinical isolates of *helicobacter pylori*. **Foods**, v. 10, n. 7, 1 jul. 2021.

VOIDAROU, C. *et al.* In vitro screening potential antibacterial properties of the greek oregano honey against clinical isolates of *helicobacter pylori*. **Foods**, v. 10, n. 7, 1 jul. 2021.

VORLOVA, L.; CELECHOVSKA, O. Activity of enzymes and trace element content in bee honey. **Acta Veterinária**, v. 71, p. 375–378, 2002.

WANDS, D. I. F.; EL-OMAR, E. M.; HANSEN, R. *Helicobacter pylori*: Getting to grips with the guidance. **Frontline Gastroenterology**, v. 12, n. 7, p. 650–655, 1 dez. 2021.

WANG, C. *et al.* Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 47, p. 231–236, 2015.

WANG, Q. *et al.* Comprehensive profiling of phytohormones in honey by sequential liquid-liquid extraction coupled with liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 3, p. 575–585, 25 jan. 2017.

WANG, Y. *et al.* Antibacterial mechanism of plantaricin LPL-1, a novel class IIa bacteriocin against *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 97, p. 87–93, 1 mar. 2018.

WASIHUN, A. G.; KASA, B. G. Evaluation of antibacterial activity of honey against multidrug resistant bacteria in Ayder Referral and Teaching Hospital, Northern Ethiopia. **SpringerPlus**, v. 5, n. 1, 1 dez. 2016.

WATANABE, K. *et al.* Anti-influenza viral effects of honey in vitro: potent high activity of Manuka honey. **Archives of Medical Research**, v. 45, n. 5, p. 359–365, 2014.

WHITE, J. W.; SUBERS, M. H.; SCHEPARTZ, A. I. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 73, p. 57–70, 1963.

WILLDIGG, J. R.; HELMANN, J. D. Mini Review: Bacterial membrane composition and its modulation in response to stress. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, p. 1–11, 2021.

WILLDIGG, J. R.; HELMANN, J. D. Mini Review: Bacterial Membrane Composition and Its Modulation in Response to Stress. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, p. 1–11, 2021.

YAACOB, S. N. S. *et al.* Morphological alterations in gram-positive and gram-negative bacteria exposed to minimal inhibitory and bactericidal concentration of raw Malaysian stingless bee honey. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v. 34, n. 1, p. 575–586, 1 jan. 2020.

ZAINOL, M. I.; MOHD YUSOFF, K.; MOHD YUSOF, M. Y. Antibacterial activity of selected Malaysian honey. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 129, 10 jun. 2013.

ZEFENKEY, Z. E. A. N.; NASER, MAHMMOUD; BALACH, O. M. A. R. Primary clarithromycin resistance of *helicobacter pylori* by fluorescent in situ hybridization in Aleppo-Syria. **International Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, p. 217-221, 2012.

ZHANG, J. *et al.* Isolation, purification, identification, and discovery of the antibacterial mechanism of LD-phenyllactic acid produced by *Lactiplantibacillus plantarum* CXG9 isolated from a traditional Chinese fermented vegetable. **Food Control**, v. 132, p. 1–9, 1 fev. 2021.

APÊNDICES

Apêndice A. Inibição do crescimento das bactérias *E. faecalis*, *S. epidermidis* e *H. pylori* por méis e frações, na concentração de 1 mg/mL e controle positivo Eritromicina e Claritromicina a 20 µg/mL, após 24 horas de incubação.

		Bactérias (% inibição)		
Produto		<i>E. faecalis</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>H. pylori</i>
Mel 1	Fresco	27±5,28	24±2,93	61±5,26
	Hexano	23±2,99	2±0,67	60±5,48
	Acetato de etila	23±1,13	20±9,31	56±11,99
	N-butanol	27±3,15	11±8,23	69±7,54
Mel 2	Fresco	25±8,22	16±4,99	62±9,17
	Hexano	17±5,76	24±7,71	62±1,45
	Acetato de etila	17±5,36	19±7,06	63±10,64
	N-butanol	25±8,22	24±7,79	61±7,35
Mel 3	Fresco	17±5,29	36±6,61	63±1,56
	Hexano	26±6,68	28±7,08	72±2,98
	Acetato de etila	20±8,66	32±4,34	73±10,38
	N-butanol	21±7,61	37±8,51	66±9,13
	Fresco	37±22,40	26±1,95	65±8,11

Continuação Apêndice A

	Hexano	23±6,35	30±7,62	65±8,34
Mel 4	Acetato de etila	21±9,91	24±3,59	67±7,84
	N-butanol	30±6,03	30±6,78	72±4,92
	Fresco	25±10,45	28±5,96	67±6,93
Mel 5	Hexano	29±7,75	22±10,85	58±6,69
	Acetato de etila	26±7,05	16±2,76	61±6,72
	N-butanol	21±9,26	22±8,76	64±10,80
	Média	24,00	23,55	64,35
Controle positivo	Eritromicina	77±11,89		
	Claritromicina		88±3,87	100±1,93

ANEXOS

Anexo A. Concentração Inibitória Mínima (CIM) descrita na literatura para diferentes méis de abelhas *Apis* sp. e sem ferrão, no Brasil e no exterior, frente a cepas de bactérias Gram positivas e negativas.

Espécies de Abelhas	Gram negativa			Gram positiva					Referência
	1 <i>E. coli</i>	2 <i>P. aeruginosa</i>	3 <i>C. violaceum</i>	4 <i>S. aureus</i>	5 <i>B. subtilis</i>	6 <i>S. epidermidis</i>	7 <i>E. faecalis</i>	8 <i>S. pyogenes</i>	
<i>Apis mellifera</i>	6,25% v/v Tigray/Gondar -Etiópia	_____	_____	6,25% v/v Tigray/Gondar -Etiópia	_____	_____	_____	_____	Ewnetu; Lemma; Birhane (2013) TB*
	7%v/v, Amazônia- Brasil	_____	0,7%v/v, Amazônia- Brasil	7%v/v, Amazônia- Brasil	_____	_____	10%v/v, Amazônia- Brasil	_____	Cruz et al. (2014) DA*

Continuação Anexo A

8% w/v							
			Hokianga- Nova Zelândia				Liu et al. (2015) MC*
12.5-25% v/v	12.5-50% v/v		6.25-12,5% v/v			6,25-12,5% v/v	<u>Wasihun</u> ; <u>Kas</u> <u>a</u> (2016) DC*
Temben/ Atsbi/ Samre- Etiópia	Temben/ Atsbi/ Samre- Etiópia		Temben/ Atsbi/ Samre- Etiópia			Temben/ Atsbi/ Samre- Etiópia	
3,125-12,5% (p/v)			3,125-12,5% (p/v)				Viana; Carmo; Bastos (2018) MC*
Minas Gerais- Brasil			Minas Gerais- Brasil				
(MIC ≥ 70%)			(MIC ≥ 70%)				
8% w/v							Liu et al. (2018) MC*

Continuação Anexo A

			(MIC 99)					
			Nova Zelândia					
5-10% w/v	20-40% w/v		2,5% w/v			2,5-5% w/v		<u>Bouacha; Ay</u> <u>ed;</u> <u>Grara</u> (2018) TB*
	Algeria		Algeria			Algeria		
32% p/v, Trinidad			32% p/v, Trinidad				16% p/v, Trinidad	Brown et al. (2020) MC*
			2,5-10% w/v					Bouacha; Benbouzid (2020) TB*
			El Taref/Djelfa/S kikda -Algeria					

Continuação Anexo A

	<9,4% v/v	<9,4% v/v	_____	18,7% v/v	_____	18,7% v/v	_____	18,7% v/v	Olate-Olave et al. (2021) MC*
	Chile	Chile		Chile		Chile		Chile	
	_____	_____	_____	18-100% (v/v) Nahavand -Irã	_____	_____	_____	_____	Mirzaei et al. (2020) DA *
<i>Apis dorsata</i>	20% w/v malásia	12,5% w/v malásia	_____	10% w/v malásia	_____	_____	_____	_____	Zainol;Yusoff; Yusof (2013) DC*
	25-40% Goa Tembenus- Kalimantan	_____	_____	25-40% Goa Tembenus- Kalimantan 30-40%	_____	_____	_____	_____	Prayitno; Emmawati; Rahmadi (2020) DA *

Continuação Anexo A

	30-40%			Bongan-Kalimantan					
	Bongan-Kalimantan								
<i>Apis mellipodae</i>	12,50% v/v			6,25% v/v					Andualet (2013) TB*
	Gondar-Etiópia			Gondar-Etiópia					
<i>Apis spp.</i>	50% v/v								
	Manaus-Brasil								Pimentel et al. (2013) DA*
	11,1–20% v/v			11,1–14,3% v/v					
	Rio Grande do Sul-Brasil			Rio Grande do Sul-Brasil					Pimentel et al. (2013) MAC*

[illegible]

Continuação Anexo A

<i>Melipona quadrifasciata</i>	6,25% m/V (MIC90); Paraná-BR			3,13 % m/V (MIC90); Paraná-BR					Borsato et al. (2013) MC*
<i>Melipona quadrifasciata anthidioides</i>	70 mg mL ⁻¹ Bahia-Brasil	NS	_____	35 mg mL ⁻¹ Bahia-Brasil	_____	_____	_____	_____	Mercês et al. (2013) DA*
<i>Melipona rufiventris</i>	25 %m/V (MIC90); Paraná-Brasil	_____	_____	25 %m/V (MIC90); Paraná-Brasil	_____	_____	_____	_____	Borsato et al. (2013) MC*
<i>Melipona asilvai</i>	72 mg mL ⁻¹ Bahia-Brasil	NS	_____	72 mg mL ⁻¹ Bahia-Brasil	_____	_____	_____	_____	Mercês et al. (2013) DA*
<i>Melipona compressipes</i>	20%v/v, Amazônia- Brasil	_____	20%v/v, Amazônia- Brasil	7 %v/v, Amazônia- Brasil	_____	_____	7,5%v/v, Amazônia- Brasil	_____	Cruz et al. (2014) DA*

<i>Melipona compressipes manaosensis</i>	50%			33,3 - 50% v/v					Pimentel et al. (2013)
	v/v	_____	_____	Manaus-Brasil	_____	_____	_____	_____	
	Manaus-Brasil								
	11,1 – 50% v/v			11,1 – 50% v/v					Pimentel et al. (2013)
	Manaus-Brasil	_____	_____	Manaus-Brasil	_____	_____	_____	_____	MAC*
<i>Melipona favosa</i>	1-4% p/v, Tobago	_____	_____	1-4% p/v, Tobago	_____	_____	_____	8% p/v, Tobago	Brown et al. (2020) MIC*
<i>Melipona seminigra</i>	16%v/v, Amazônia-Brasil	_____	10%v/v, Amazônia-Brasil	8 %v/v, Amazônia-Brasil	_____	_____	5,5%v/v, Amazônia-Brasil	_____	Cruz et al. (2014) DA*

Continuação Anexo A

<i>Melipona subnitida</i>	11,1-33,3% v/v Tupé-Manaus	_____	_____	11,1% v/v Tupé-Manaus	_____	_____	_____	_____	Pimentel et al. (2013) MAC*
<i>Scaptotrigona bipunctata</i>	3,12 %m/V (MIC90); Paraná-BR	_____	_____	1,56 %m/V (MIC90); Paraná-BR	_____	_____	_____	_____	Borsato et al. (2013) MC*
	5% v/v Paraná-Brasil	2.5% v/v Paraná-Brasil	_____	0.62% v/v Paraná-Brasil	_____	2.5% v/v Paraná-Brasil	1.25% v/v Paraná-Brasil	1.25% v/v Paraná-Brasil	Nishio et al. (2016) MC*
<i>Scaptotrigona xantotricha</i>	25 %m/V (MIC90); Paraná-BR	_____	_____	25 %m/V (MIC90); Paraná-BR	_____	_____	_____	_____	Borsato et al. (2013) MC*
<i>Scaptotrigona postica</i>	5% v/v	2.5% v/v	_____	1.25% v/v	_____	2.5% v/v	1.25% v/v	1.25% v/v	Nishio et al. (2016) MC*

Continuação Anexo A

	Paraná-Brasil	Paraná-Brasil		Paraná-Brasil		Paraná-Brasil	Paraná-Brasil	Paraná-Brasil	
<i>Tetragona clavipes</i>	12,5 % m/V (MIC90); Paraná-BR	_____	_____	12,5 % m/V (MIC90); Paraná-BR	_____	_____	_____	_____	Borsato et al. (2013) MC*
<i>Tetragonula leaviceps</i>	13,09-4,04% v/v Chantaburi-Tailândia	14,79-12,76% v/v Chantaburi-Tailândia	_____	11.76-4,4% v/v Chantaburi-Tailândia	_____	8% v/v Chantaburi-Tailândia	_____	8-3,10% v/v Chantaburi-Tailândia	Suntiparap; Prapaipong; Chantawan, (2012) MC*
	14,67-3,27% v/v Trat- Tailândia	13,33- 4,13% v/v Trat- Tailândia	_____	14.22-3,23% v/v Trat- Tailândia	_____	10,22- 3,54% v/v Trat- Tailândia	_____	7,56-1,09% v/v Trat- Tailândia	
		_____	_____		_____	_____	_____	_____	Borsato et al. (2013) MC*

Continuação Anexo A

	6,25% m/V (MIC90); Paraná-BR			6,25% m/V (MIC90); Paraná-BR					
<i>Tetragonisca angustula</i>									
	132 mg/mL ⁻¹		_____	33 mg/mL ⁻¹	_____	_____	_____	_____	Mercês et al. (2013) DA*
	Bahia-Brasil	NS		Bahia-Brasil					
<i>Trigona spp.</i>	20% w/v	20% w/v	_____	20% w/v	_____	_____	_____	_____	Zainol;Yusoff; Yusof (2013) DC*
	Malásia	Malásia		Malásia					
<i>Frieseomelitta doederleinei</i>	74 mg/mL ⁻¹	NS	_____	19 mg/mL ⁻¹	_____	_____	_____	_____	Mercês et al. (2013) DA*
	Bahia-Brasil			Bahia-Brasil					
<i>Frieseomelitta nigra</i>	1-4% p/v, Tobago	_____	_____	8% p/v, Tobago	_____	_____	_____	1-4% p/v, Tobago	

Continuação Anexo A

	8% p/v, Trinidad	_____	_____	8% p/v, Trinidad	_____	_____	_____	1-4% p/v, Trinidad	Brown et al. (2020) MC*
<i>Plebeia sp.</i>	254 mg mL ⁻¹ Bahia-Brasil	NS	_____	254 mg mL ⁻¹ Bahia-Brasil	_____	_____	_____	_____	Mercês et al. (2013) DA
<i>Geniotrigona thoracica</i>	5% p/p Borneo-Sarawak	5% p/p Borneo-Sarawak	_____	5% p/p Borneo-Sarawak	_____	_____	_____	_____	Tuksitha et al. (2018) DC*
<i>Heterotrigona itama</i>	10% p/p Borneo-Sarawak	10% p/p Borneo-Sarawak	_____	10% p/p Borneo-Sarawak	_____	_____	_____	_____	Tuksitha et al. (2018) DC*
	6,67% v/v	10,67% v/v		6% v/v					

Continuação Anexo A

	Selangor/Johor/Sarawak-Malásia	Selangor/Johor/Sarawak-Malásia	_____	Selangor/Johor/Sarawak-Malásia	_____	_____	_____	_____	Ramlan et al. (2021) DC*
	3.125-6,25% w/v	3.125-6,25% w/v	_____	1,56-6,25% w/v	1,56-6,25% w/v	_____	_____	_____	Yaacob et al. (2020) DC*
	Malásia	Malásia		Malásia	Malásia				
<i>Heterotrigna erythrogastra</i>	3% p/p	5% p/p	_____	3% p/p	_____	_____	_____	_____	Tuksitha et al. (2018) DC*
	Borneo-Sarawak	Borneo-Sarawak		Borneo-Sarawak					

1 *Escherichia coli*; 2 *Pseudomonas aeruginosa*; 3 *Chromobacterium violaceum*; 4 *Staphylococcus aureus*; 5 *Bacillus subtilis*; 6 *Staphylococcus epidermidis*; 7 *Enterococcus faecalis*; 8 *Streptococcus pyogenes*.

***MC**= CIM estimado pela metodologia de microdiluição em caldo;

***DA**= CIM estimado pela metodologia em difusão/diluição em ágar por disco ou poço;

***ESPECT**= CIM estimado por espectrofotometria

***TB**= CIM estimado por diluição em tubo

*** MAC**= CIM estimado por macrodiluição em caldo

***DC**= CIM estimado por diluição em caldo

NS= não susceptível

___ = Não avaliado