

Como o mel e a própolis de abelhas nativas podem atuar contra *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* *in vitro*

Karen Oliveira Sousa ¹, Gabriel Elias Vasconcelos Gonçalves ¹, Stephanie Ferreira de Oliveira¹, Marisa Cristina Da Fonseca Casteluber ²; Fernanda Prieto Bruckner ²; Marina Nogueira dos Santos Rodrigues ²

¹ Discente da Universidade do Estado de Minas Gerais, Ibirté, Brasil
(karen.24113598@discente.uemg.br)

²Docente da Universidade do Estado de Minas Gerais, Ibitiré, Brasil

Resumo: Extratos de mel e própolis de dez espécies de abelhas sem ferrão foram avaliados por testes de difusão de disco, de concentração inibitória mínima e de concentração bactericida mínima. Extratos de própolis e mel de seis espécies dessas abelhas inibiram K. pneumoniae e cinco, S. aureus. Os resultados sugerem potencial desses extratos como antimicrobianos que podem auxiliar no tratamento de infecções bacterianas. Esse estudo reforça a importância de realizar pesquisas voltadas para viabilizar terapias alternativas seguras e efetivas contra bactérias multirresistentes.

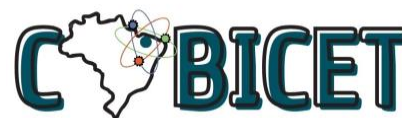
Palavras-chave: Teste de difusão de disco; abelhas sem ferrão; infecções bacterianas; terapias alternativas.

INTRODUÇÃO

A resistência antimicrobiana configura-se, na atualidade, como uma das mais graves e complexas ameaças à saúde pública global, evidenciando de maneira inequívoca a necessidade urgente de se buscar e desenvolver novas alternativas terapêuticas eficazes e sustentáveis. Diversos relatos científicos têm apontado um aumento progressivo e preocupante na incidência de microrganismos multirresistentes aos fármacos tradicionalmente empregados em tratamentos clínicos, o que compromete significativamente a eficácia das terapias disponíveis e eleva os índices de morbidade e mortalidade em diferentes populações. Exemplos claros dessa problemática podem ser observados em bactérias como *Klebsiella pneumoniae*, capazes de acometer o trato respiratório, o sistema urinário e a corrente sanguínea, e em *Staphylococcus aureus*, responsável por causar infecções que atingem a pele, o coração e diversos outros órgãos (Silva, 2022). Nesse contexto, a Organização Mundial de Saúde alerta que, até o ano de 2050, o número de mortes decorrentes de infecções bacterianas causadas por microrganismos multirresistentes poderá ultrapassar aquele associado ao câncer, configurando um cenário alarmante para os sistemas de saúde em escala mundial. Ademais, estudos recentes estimam que o número de óbitos anuais relacionados à resistência microbiana (RAM) pode atingir cerca de 1,91 milhão até 2050,

acumulando aproximadamente 39 milhões de mortes no período compreendido entre 2025 e 2050 (Naghavi et al., 2024). Diante desse panorama desafiador, a ciência assume um papel fundamental e estratégico na investigação e no desenvolvimento de novos compostos bioativos, especialmente de origem natural, que possam atuar como alternativas viáveis ou como agentes complementares no tratamento com antibióticos já desenvolvidos pela indústria farmacêutica, contribuindo, assim, para a mitigação dos efeitos da resistência antimicrobiana e para a promoção de terapias mais eficazes.

As abelhas pertencentes ao grupo dos meliponíneos integram a família Apidae e são amplamente conhecidas, no senso comum, como abelhas sem ferrão, denominação que se justifica pelo fato de apresentarem o ferrão atrofiado, característica morfológica que as torna incapazes de ferir (Silveira, Melo e Almeida, 2002). Essa particularidade, além de influenciar seu comportamento defensivo, contribui para que sejam consideradas espécies de manejo mais seguro em comparação a outras abelhas. Em razão de sua longa trajetória de interação e manejo por povos indígenas ao longo de muitos séculos, essas abelhas também recebem as denominações de “abelhas indígenas” ou “abelhas nativas”, refletindo sua importância cultural, histórica e econômica para diversas comunidades tradicionais (Rodrigues, 2005). Adicionalmente, os



meliponíneos exercem um papel ecológico de extrema relevância nos ecossistemas em que estão inseridos, atuando de maneira decisiva nos processos de polinização. Estima-se que sejam responsáveis por aproximadamente 30% a 80% da polinização das plantas, sendo essa variação dependente do tipo de floresta, das condições ambientais e da diversidade de espécies vegetais presentes em cada habitat. Dessa forma, sua atuação contribui diretamente para a manutenção da biodiversidade, para a regeneração de ecossistemas naturais e para a sustentabilidade de sistemas agrícolas que dependem da polinização.

No Brasil, as abelhas sem ferrão constituem um grupo altamente diversificado, abrangendo inúmeras espécies que se destacam por sua ampla distribuição geográfica e por sua relevante contribuição para a manutenção dos ecossistemas naturais. Esse conjunto de abelhas representa uma parcela significativa da biodiversidade nacional, desempenhando papel fundamental na polinização de diversas espécies vegetais nativas e cultivadas, o que reforça sua importância ecológica e econômica. O mel produzido por abelhas sem ferrão tem despertado um interesse científico crescente nas últimas décadas, especialmente em virtude de suas diversas propriedades biológicas e terapêuticas. Entre essas propriedades, destacam-se as atividades antissépticas, antimicrobianas, anti-inflamatórias, anticancerígenas e cicatrizantes, que vêm sendo amplamente investigadas por pesquisadores de diferentes áreas (Farnesi, 2007). Diante desse cenário, observa-se um aumento significativo no número de estudos voltados à compreensão dos mecanismos de ação desses compostos e à exploração de seus potenciais benefícios e aplicações na saúde humana, tanto no desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos quanto em terapias alternativas e complementares.

O objetivo deste trabalho foi investigar a ação antimicrobiana do mel e da própolis de 10 espécies de abelhas sem ferrão contra as bactérias *K. pneumoniae* e *S. aureus*.

MATERIAL E MÉTODOS

As espécies de abelhas selecionadas para coleta de extrato de mel e própolis foram *Scaptotrigona postica* (Mandaguari preta), *Scaptotrigona xanthothica* (Mandaguari amarela), *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna), *Melipona mandury* (Uruçu amarela), *Melipona rufiventris* (Uruçu amarela rufiventris), *Tetragona clavipes* (Borá), *Melipona quadrifasciata* (Mandaçaia), *Melipona bicolor* (Guaraipo), *Tetragonisca angustula* (Jataí) e *Cephalotrigona capitata* (Manbucão), criadas no Meliponário Santa Rosa, no município de Matozinhos (MG). O extrato bruto da própolis foi inicialmente pesado com precisão

e, em seguida, submetido ao processo de diluição em álcool de cereais na concentração de 70% (v/v), sendo posteriormente armazenado em recipiente adequado e mantido em local escuro, por um período de 30 dias, a fim de preservar suas propriedades químicas e favorecer a extração dos compostos bioativos. Para a preparação da solução extrativa, adotou-se a proporção de 300 gramas de própolis para 700 mililitros de álcool de cereais a 70% (v/v), garantindo uma relação adequada entre solvente e soluto para otimizar o processo de extração. Durante todo o período de diluição, a mistura foi submetida à agitação diária.

O primeiro experimento conduzido no presente estudo consistiu na realização do teste de difusão em disco, metodologia amplamente empregada para a avaliação da atividade antimicrobiana de diferentes substâncias. Para esse procedimento, foi inicialmente inoculado um volume de 100 µL de microrganismo proveniente de cultura estoque em 50 mL de meio Luria Bertani, cuja composição inclui peptona (10 g/L), extrato de levedura (5 g/L) e NaCl (5 g/L). Após a inoculação, as culturas foram mantidas em estufa bacteriológica a 37 °C por um período de 24 horas, de modo a permitir o adequado crescimento microbiano. Posteriormente, foram coletados 100 µL de cada microrganismo cultivado, especificamente *K. pneumoniae* e *S. aureus*, os quais foram inoculados separadamente por meio da técnica de espalhamento superficial em placas contendo Ágar Müller-Hinton, preparado conforme as recomendações do fabricante. Sobre a superfície do meio solidificado, foram cuidadosamente posicionados discos previamente embebidos em extratos de mel, própolis e em antibióticos de uso clínico selecionados como controle positivo para cada espécie bacteriana, sendo utilizada a clindamicina para *S. aureus* e o ciprofloxacino para *K. pneumoniae*. As placas inoculadas foram novamente incubadas em estufa a 37 °C por 24 horas, garantindo condições ideais para o desenvolvimento das bactérias e a difusão dos compostos testados no meio de cultura. Após o período de incubação, procedeu-se à mensuração das zonas de inibição formadas ao redor dos discos, utilizando-se um paquímetro, instrumento que permite maior precisão na obtenção dos diâmetros dos halos formados.

Os extratos que resultaram na formação de halos de inibição no teste de difusão em disco foram subsequentemente selecionados para a realização de ensaios complementares, incluindo a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida mínima (CBM), com o objetivo de avaliar de maneira mais detalhada o potencial antimicrobiano das amostras analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de difusão de disco realizado com a bactéria *Klebsiella pneumoniae*, os extratos de mel e própolis da espécie *Scaptotrigona xanthothicha* (Mandaguari amarela) apresentaram zonas de inibição média de 0,07 cm e 0,2 cm, respectivamente. O extrato de mel e própolis da espécie *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna) apresentaram zonas de inibição média de 0,07 cm e 0,25 cm, respectivamente. Os extratos de própolis das espécies *Scaptotrigona postica* (Mandaguari preta), *Melipona mandury* (Uruçu amarela), *Melipona rufiventris* (Uruçu amarela rufiventris), *Melipona quadrifasciata* (Mandaçaia) e *Melipona bicolor* (Guaraipo) apresentaram zonas de inibição média de 0,2 cm; 0,22 cm; 0,08 cm; 0,3 cm e 0,27 cm; respectivamente. O medicamento Ciprofloxacino apresentou zonas de inibição média de 3,17 cm. Os extratos de mel e própolis das demais espécies de abelhas não apresentaram zonas de inibição relevantes contra *K. pneumoniae* (Tabela 1). No Teste de concentração inibitória mínima (CIM) nenhum desses extratos apresentou resultados, e consequentemente, não apresentaram resultados no Teste de Concentração bactericida mínima (CBM).

Tabela 1. Zonas de inibição no teste de difusão em disco com *K. pneumoniae*

Espécies de abelhas	Médias de zonas de inibição de mel	Médias de zonas de inibição de própolis	Média de zonas de inibição de Controle Positivo
<i>Scaptotrigona postica</i> (Mandaguari preta)	0 cm	0,2 cm	3,17 cm
<i>Scaptotrigona xanthothicha</i> (Mandaguari amarela)	0,07 cm	0,2 cm	3,17 cm
<i>Scaptotrigona bipunctata</i> (Tubuna)	0,07 cm	0,25 cm	3,17 cm
<i>Melipona mandury</i> (Uruçu amarela)	0 cm	0,22 cm	3,17 cm
<i>Melipona rufiventris</i> (Uruçu amarela rufiventris)	0 cm	0,08 cm	3,17 cm
<i>Tetragona clavipes</i> (Borá)	0 cm	0 cm	3,17 cm

<i>Melipona quadrifasciata</i> (Mandaçaia)	0 cm	0,3 cm	3,17 cm
<i>Melipona bicolor</i> (Guaraipo)	0 cm	0,27 cm	3,17 cm
<i>Tetragonisca angustula</i> (Jataí)	0 cm	0 cm	3,17 cm
<i>Cephalotrigona capitata</i> (Manbucão)	0 cm	0 cm	3,17 cm

No teste de difusão em disco realizado com a bactéria *Staphylococcus aureus*, os extratos de mel das espécies *Scaptotrigona postica* (Mandaguari preta) e *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna) apresentaram zonas de inibição média de 0,26 cm e 0,1 cm, respectivamente. Os extratos de própolis das espécies *Melipona quadrifasciata* (Mandaçaia), *Melipona bicolor* (Guaraipo) e *Cephalotrigona capitata* (Mambucão) apresentaram zonas de inibição média de 1,08 cm; 0,15 cm e 0,23 cm, respectivamente. O medicamento Clindamicina apresentou zona de inibição média de 1,33 cm. Os extratos de mel e própolis das demais espécies de abelhas não apresentaram halos contra *S. aureus* (Tabela 2).

Tabela 2. Zonas de inibição no teste de difusão de disco com a bactéria *S. aureus*

Espécies de abelhas	Média de zonas de inibição de mel	Média de zonas de inibição de própolis	Média de zonas de inibição do Controle Positivo
<i>Scaptotrigona postica</i> (Mandaguari preta)	0,26 cm	0 cm	1,33 cm
<i>Scaptotrigona xanthothicha</i> (Mandaguari amarela)	0 cm	0 cm	1,33 cm
<i>Scaptotrigona bipunctata</i> (Tubuna)	0,1 cm	0 cm	1,33 cm
<i>Melipona mandury</i> (Uruçu amarela)	0 cm	0 cm	1,33 cm

<i>Melipona rufiventris</i> (Uruçu amarela rufiventris)	0cm	0cm	1,33cm
<i>Tetragona clavipes</i> (Borá)	0 cm	0 cm	1,33 cm
<i>Melipona quadrifasciata</i> (Mandaçaia)	0 cm	1,08 cm	1,33 cm
<i>Melipona bicolor</i> (Guaraipo)	0 cm	0,15 cm	1,33 cm
<i>Tetragonisca angustula</i> (Jataí)	0 cm	0 cm	1,33 cm
<i>Cephalotrigona capitata</i> (Manbucão)	0 cm	0,23 cm	1,33 cm

No teste de concentração inibitória mínima (CIM) e no teste de Concentração bactericida mínima (MIB) obteve-se os seguintes resultados: o mel da espécie *Scaptotrigona postica* (Mandaçaia) apresentou efeito microbicida até a diluição 10^1 ; o mel da espécie *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna) apresentou efeito microbicida até a diluição 10^3 ; a própolis da espécie *Melipona quadrifasciata* (Mandaçaia) apresentou efeito microbicida até a diluição 10^5 ; a própolis da espécie *Melipona bicolor* (Guaraipo) apresentou efeito microbicida até a diluição 10^1 e a própolis da espécie *Cephalotrigona capitata* (Manbucão) apresentou efeito microbicida até a diluição 10^1 .

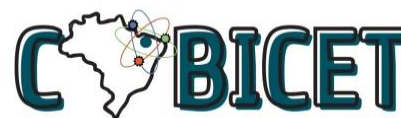
Diversos relatos científicos apontam que as cepas *S. aureus* e *K. pneumoniae* foram inibidas por diferentes extratos de mel e própolis. Diversos autores sugeriram que o efeito terapêutico do mel decorre de diversas propriedades físicas e químicas (Russell et al., 1990, Snow e Manley-Harris, 2004). Entre as características físicas que contribuem para sua atividade antibacteriana, destacam-se a elevada osmolaridade e a acidez. Quanto aos fatores químicos, incluem-se peróxido de hidrogênio, compostos voláteis, ácidos orgânicos, flavonoides, cera de abelha, néctar, pólen e própolis, os quais conferem ao mel propriedades antibacterianas (Russell et al., 1990). O mel também apresenta pequenas quantidades de oligossacarídeos. Em estudo, Shin e Ustunol (2005) associaram a composição de açúcares de méis provenientes de diferentes fontes florais à inibição do crescimento de diversas bactérias intestinais. Em conjunto, esses fatores físicos e químicos conferem ao mel propriedades singulares como agente cicatrizante: promove rápida eliminação de infecções, desbridamento acelerado de feridas, supressão eficaz

da inflamação, redução da formação de cicatrizes, estímulo à angiogênese, além de favorecer a granulação tecidual e o crescimento epitelial (Molan, 2002).

No presente estudo, verificou-se que alguns dos extratos analisados não apresentaram efeito microbiocida nem microbiostático contra *S. aureus* e *K. pneumoniae*, indicando, portanto, ausência de atividade antibacteriana detectável nas condições experimentais adotadas. Entretanto, é importante considerar que, durante o período de coleta, foi observado que as abelhas foram submetidas a diferentes tipos de estresses ambientais, os quais podem ter influenciado diretamente a composição química e, conseqüentemente, a eficácia biológica dos produtos obtidos. Dentre esses fatores, destacam-se a fragmentação de habitats, frequentemente associada à redução e à irregularidade na disponibilidade de recursos alimentares, bem como o ataque ou a presença de espécies exóticas com potencial competitivo por recursos florais utilizados pelas abelhas nativas (Allen-Wardely, 1998). Dessa forma, tais condições configuram um conjunto de pressões ambientais que impactam negativamente não apenas as populações dessas abelhas, mas também a qualidade e a quantidade dos extratos de mel e própolis por elas produzidos (Allen-Wardely et al., 1998). Esses impactos podem refletir diretamente na variabilidade dos compostos bioativos presentes, influenciando os resultados obtidos em análises microbiológicas. Portanto, torna-se necessária a realização de novas coletas de mel e própolis produzidos por essas espécies de abelhas, contemplando diferentes condições de criação e manejo, bem como distintas épocas do ano, a fim de abranger uma maior diversidade de condições ambientais. Essa abordagem permitirá a replicação dos testes em cenários variados e mais representativos, possibilitando uma avaliação mais robusta e conclusiva acerca da ação antibacteriana dos extratos produzidos por essas espécies de abelhas.

CONCLUSÃO

Nesse contexto, o presente estudo contribuiu de maneira relevante para a identificação de extratos de mel e própolis provenientes de algumas espécies de abelhas nativas que apresentaram ação antimicrobiana in vitro sobre *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*. Tais produtos naturais são tradicionalmente utilizados pela população no tratamento de infecções, especialmente do trato respiratório, e, de acordo com os dados obtidos nesta pesquisa, demonstram potencial para atuar como alternativa terapêutica complementar ao uso de antibióticos de escolha clínica. Cabe destacar que, até o momento, ainda não foram realizados ensaios



específicos destinados a avaliar o possível sinergismo entre esses extratos naturais e os antibióticos testados. No entanto, os resultados aqui apresentados fornecem subsídios importantes para o delineamento de novos estudos, os quais poderão investigar de forma mais aprofundada os efeitos sinérgicos e/ou antagônicos dessas combinações, ampliando a compreensão sobre suas interações farmacológicas. Adicionalmente, sugere-se a continuidade desta linha de pesquisa, com a realização de novos experimentos que envolvam a replicação dos testes utilizando diferentes amostras de mel e própolis, oriundas de espécies de abelhas cultivadas em distintos meliponários e sob variadas condições ambientais. Tal abordagem permitirá a obtenção de resultados mais robustos e representativos, contribuindo para a validação e consolidação dos achados aqui apresentados.

O aumento da resistência microbiana aos fármacos atualmente disponíveis, frequentemente decorrente da administração inadequada, excessiva e, por vezes, indiscriminada de antibióticos que anteriormente se mostravam eficazes no combate a microrganismos patógenos de relevância para a saúde humana, configura-se como uma preocupação de alcance global e de crescente impacto sobre os sistemas de saúde. Esse fenômeno compromete significativamente a eficácia dos tratamentos convencionais, dificultando o controle de infecções e contribuindo para o aumento das taxas de morbidade e mortalidade associadas a doenças infecciosas. Nesse contexto, observa-se um cenário cada vez mais desafiador para a medicina contemporânea, no qual infecções outrora consideradas de fácil tratamento passam a demandar abordagens terapêuticas mais complexas, prolongadas e, muitas vezes, menos eficazes. Dessa forma, essa problemática evidencia, de maneira inequívoca, a necessidade urgente de intensificação das pesquisas científicas voltadas à investigação e ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, capazes de complementar ou, quando necessário, substituir os tratamentos convencionais atualmente disponíveis, contribuindo para o enfrentamento da resistência microbiana e para a melhoria dos desfechos clínicos.

Apesar disso, os dados observados reforçam, sob uma perspectiva científica consistente, que o uso de extratos de mel e própolis, tradicionalmente empregados por populações locais ao longo do tempo, apresenta potencial significativo para contribuir na resolução de casos de infecções respiratórias causadas por essas espécies bacterianas. Tal evidência dialoga com o conhecimento empírico acumulado por essas comunidades, ao mesmo tempo em que amplia sua validação no âmbito acadêmico e científico. Ainda que os resultados experimentais indiquem a formação de zonas de inibição de pequeno diâmetro, esse achado não deve ser subestimado, uma vez que já demonstra

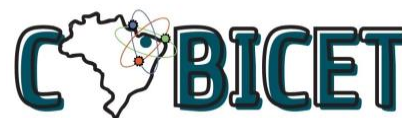
atividade antimicrobiana relevante, especialmente quando considerado o atual e crescente desafio imposto pela resistência aos fármacos convencionais. Nesse contexto, mesmo efeitos considerados modestos podem representar importantes alternativas como antibióticos naturais ou agentes coadjuvantes em terapias combinadas. Ademais, a realização de estudos mais aprofundados, voltados ao aprimoramento das metodologias de extração, padronização e aplicação desses compostos naturais, poderá viabilizar a prospecção de futuros ensaios clínicos, bem como o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas mais seguras e eficazes, contribuindo para a diversificação das estratégias no combate às infecções bacterianas.

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos são direcionados às orientadoras Marina Nogueira dos Santos Rodrigues, Marisa Cristina da Fonseca Casteluber, Fernanda Prieto Bruckner, ao bolsista Gabriel Elias Vasconcelos Gonçalves, à voluntária Stephanie Ferreira de Oliveira e ao órgão de fomento PAPq edital 15/2024 e ao Laboratório de Pesquisa da UEMG LAMAP.

REFERÊNCIAS

- Allen-Wardell, G., P. Bernhardt, R. Bitner, A. Burquez, S. Buchmann, J. Cane, P. Cox, V. Dalton, P. Feinsinger, M. Ingram, D. Inouye, C. Jones, K. Kennedy, P. Kevan, H. Koopowitz, R. Medellin, S. Medellin-Morales, G. Nabhan, B. Pavlik, V. Tepedino, P. Torchio e S. Walker. 1998. As potenciais consequências do declínio de polinizadores na conservação da biodiversidade e na estabilidade da produção de culturas alimentares. *Conservation Biology* 12(1):8-17.
- Farnesi, A. P. Efeitos da própolis de abelhas africanizadas e meliponíneas em microorganismos. 2007. Dissertação (Mestrado em Genética) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2007. Doi:10.11606/D.17.2007. de-20082007-162013. Acesso em: 2024-0
- Rodrigues, A. S. Etnoconhecimento sobre abelhas sem ferrão: saberes e práticas dos índios Guarani M'Byá na Mata Atlântica. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Piracicaba, 2005.
- Silveira, F. A.; Melo, G. A. R.; Almeida, E. A. B. Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. Ministério do Meio Ambiente, Belo Horizonte, 2002.



Shin, H; Ustunol, Z. Composição de carboidratos do mel proveniente de diferentes fontes florais e sua influência no crescimento de bactérias intestinais selecionadas. Food Res. Int., 38 (2005), pp. 721-728

Naghavi M, Vollset S, Ikuta K et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. The Lancet, 2024; 404, 1199-1226

Molan, P. Nem todos os méis são iguais para cicatrização de feridas. Eur. Tissue Rep. Soc., 9 (2002), pp. 5-6

Russell, P K.; Molan, A.; Wilkins, P. Holanda. Identificação de alguns constituintes antibacterianos do mel de Manuka da Nova Zelândia. J. Agric. Food Chem., 38 (1990), pp. 10-13

Silva, Valdira Salgueiro da. Multirresistência de *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em hemoculturas em UTIs: uma revisão de literatura/ Valdira Salgueiro da Silva. – 2022. 44 f.

Snow, M.; Manley-Harris. Sobre a natureza da atividade antibacteriana não peróxida no mel de Manuka da Nova Zelândia. Food Chem., 84 (2004), pp. 145-147