

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LORRANY MATOS CARDOZO DA SILVA

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE MÉIS DE MELIPONÍNEOS
OBTIDOS DE DIFERENTES REGIÕES DO ESTADO DO PARANÁ
(BRASIL)

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2016

LORRANY MATOS CARDOZO DA SILVA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE MÉIS DE MELIPONÍNEOS
OBTIDOS DE DIFERENTES REGIÕES DO ESTADO DO PARANÁ
(BRASIL)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos, do Departamento de Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof^a. Dra. Márcia Regina Geraldo Perdoncini

CAMPO MOURÃO

2016



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Departamento Acadêmico de Alimentos
Engenharia de Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE MÉIS DE MELIPONÍNEOS OBTIDOS DE
DIFERENTES REGIÕES DO ESTADO DO PARANÁ (BRASIL)

por

LORRANY MATOS CARDOZO DA SILVA

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 15 de junho de 2016 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Marcia Regina Geraldo Perdoncini
Prof^a Orientadora

Márcia Maria dos Anjos Szczerepa
Membro titular

Rafael Porto Ineu
Membro titular

- O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso -

AGRADECIMENTOS

É difícil expressar com palavras minha gratidão por este momento, ao longo desses anos pude perceber claramente a presença de Deus em minha vida, segurando minhas mãos, ou até mesmo me carregando em seus braços, sem Ele com certeza a caminhada seria mais complicada.

Aos meus pais, Maria Linéia e Idalberto, contar com o amor e afeto de vocês é o que me faz seguir em frente. Agradeço por nunca desistirem de mim, sei o quanto se dedicam e espero um dia retribuir tamanho amor.

À meu irmão, Idalberto Junior, a quem posso chamar de melhor amigo. Suas idéias revolucionárias, ponto de vista incomum, curiosidade, sempre incentivando a todos ao melhor, minha grande admiração e orgulho.

À Tainara Ramos, minha prima, a quem devo muito, crescimento pessoal e principalmente espiritual. Aos meus familiares que mesmo distante fisicamente se fizeram presente, obrigada pelas orações e torcida.

À Mayara Huffenbeacher amiga de longa data, que contribuiu com palavras de incentivo.

Aos amigos mais que especiais, Grasieli Beloni de Melo, Fernando Anjo, Iago David Aliprandini, Íris Felisberto, tornando esta jornada mais leve. Amizades que levo no coração.

Aos membros da IASD CM, por me acolherem, em especial a Luana Garcia Su e Mara, família Leal, Silvana Aureliano, meu apreço.

A professora Dr^a Maria Josiane Sereia e Dr^a Rejane Stubbs Parpinelli pelos méis cedidos e por me darem o privilégio de aprender sobre este fantástico mundo das abelhas.

A professora Dr^a Márcia Regina F. Geraldo Perdoncini, a quem tenho grande carinho, pela confiança em meu trabalho, por todo o conhecimento compartilhado,

atenção e dedicação ao longo desses anos, obrigada por estar presente em todas as fases da minha vida acadêmica. Agradeço a Profª Drª Lívia Bratz, a Profª Drª Márcia dos Anjos e Prof Dr Rafael Porto Ineu pela atenção, disponibilidade e contribuição dedicadas a este trabalho.

Aos técnicos de laboratório, Marcos Viera, Vanessa, Adrielle e aos estagiários Michel, Carina e Daniele por sempre estarem dispostos a me ajudar.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* Campo Mourão, por ceder espaço físico e pelo ensino de qualidade que foram proporcionados, assim como aos professores que colaboraram direta e indiretamente para minha formação acadêmica.

RESUMO

SILVA, Lorrany Matos Cardozo da. **Atividade Antibacteriana de méis de meliponíneos obtidos de diferentes regiões do estado do Paraná (Brasil)**. 2016. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2016.

Com o uso irracional de certos compostos, como ampicilina, cefalexina, entre outros, as bactérias progressivamente vêm desenvolvendo resistência aos antibióticos, conduzindo a estudos para novas formulações com ação antimicrobiana a partir de diferentes produtos naturais, como o mel. Abelhas sem ferrão, também conhecidas como meliponíneos, elaboram um mel diferenciado, com características sensoriais e físico-químicas particulares. Este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos méis de *Tetragonisca angustula* (JATAÍ), *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (MANDAÇAIA), *Scaptotrigona bipunctata* (TUBUNA), oriundas de diferentes regiões do estado do Paraná (Brasil) frente às bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhymurium*, *Staphylococcus aureus*, onde foi verificada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) através do Método de Microdiluição em Caldo proposto pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Os méis analisados apresentaram atividade antimicrobiana em relação às bactérias propostas. Em destaque ao mel de Jataí, mostrou-se como o melhor agente antibacteriano quando comparado aos outros méis investigados, devido a sua ação contra todas as bactérias testadas. Já as amostras de méis de Tubuna expressaram o menor desempenho entre os méis analisados, onde houve crescimento de *S. aureus* e *E.coli* na maioria das amostras. Porém, conclui-se que as características antibacterianas dos méis são influenciadas não só por fatores extrínsecos, mas fatores intrínsecos, conferindo particularidades que em conjunto fornecem ao mel alterações na expressão da atividade antimicrobiana.

Palavras-chave: Abelha sem ferrão. Jataí. Mandaçaia. Tubuna. Microdiluição em caldo.

ABSTRACT

SILVA, Lorrany Matos Cardozo's. **Meliponines honey antibacterial activity of obtained from different regions of Paraná state (Brazil)**. 2016. 48 p. Final Paper (Bachelor of Food Engineering) - Federal Technological University of Paraná. Campo Mourão, 2016.

Due to the irrational use of certain compounds, as ampicillin, cephalexin and others, bacteria progressively have been developing drug resistance, leading to studies for new antimicrobial activity formulations, analyzing different natural products like honey. Meliponines, also known as stingless bees, develop a distinctive honey with particular sensory and physicochemical characteristics. This study aims to evaluate the honey antimicrobial activity from *Tetragonisca angustula* (JATAI), *Melipona quadrifasciata* (MANDAÇAIA) e *Scaptotrigona bipunctata* (TUBUNA), from different regions of Paraná state (Brazil) on the bacteria *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhymurium*, *Staphylococcus aureus*, whose Minimum Inhibitory Concentration (MIC) by microdilution in broth, proposed by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) was verified. The different honey samples analyzed showed antimicrobial activity in relation to bacteria proposals. Jatai honey stood out being the best antibacterial agent when compared to other kinds of honey investigated, due to its action against all bacteria tested. However, the samples of honey from Tubuna expressed the lowest performance among the analyzed honeys, where there was growth of *S. aureus* and *E. coli* in most samples. It is concluded that the honey antibacterial characteristics are influenced not only by extrinsic factors, but also intrinsic factors, providing characteristics that together provide honey changes in the expression of antimicrobial activity.

Keywords: Stingless bee. Jataí. Mandaçaia. Tubuna. Microdilution.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. ASPECTO DA ASF <i>T. ANGUSTULA</i> DEFENDENDO A ENTRADA DE UM NINHO NATURAL.....	16
FIGURA 2. ASPECTO DAS ABELHAS <i>MELIPONA QUADRIFASCIATA</i> , <i>MELIPONA QUADRIFASCIATA ANTHUDUIUDES</i> E <i>HÍBRIDO</i>	18
FIGURA 3. ENTRADA DO NINHO DE MANDAÇAIA.....	18
FIGURA 4. NINHO DE <i>SCAPTOTRIGONA BIPUNCTATA</i> COM PRESENÇA DE ABELHAS SENTINELAS NO TUBO DE ENTRADA	20
FIGURA 5. PAREDE CELULAR DE BACTÉRIA GRAM-NEGATIVA	23
FIGURA 6. PAREDE CELULAR DE BACTÉRIA GRAM-POSITIVA.....	23
FIGURA 7. PLACA 96 POÇOS	30

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA, MUNICÍPIO DE ORIGEM E ESPÉCIE DE ABELHAS DAS AMOSTRAS DE MEL PRODUZIDAS POR ASF ADQUIRIDAS NO ESTADO DO PARANÁ (PR).....	27
TABELA 2. CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) EM % PARA AMOSTRAS DE MÉIS DE <i>T. ANGUSTULA</i> (JATAÍ).....	32
TABELA 3. CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) EM % PARA AMOSTRAS DE MÉIS DE <i>M. Q. QUADRIFASCIATA</i> (MANDAÇAIA).33	
TABELA 4. CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) EM % PARA AMOSTRAS DE MÉIS DE <i>S. BIPUNCTATA</i> (TUBUNA).....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASF Abelhas sem ferrão

CIM Concentração Inibitória Mínima

CMH Caldo Miller Hinton

UFC Unidade Formadora de Colônia

DTAs Doenças Transmitidas por Alimentos

EHEC Infecção Enterohemorrágica

HUS Síndrome Urêmica Hemolítica

CLSI *Clinical and Laboratory Standards Institute*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRAFICA	13
2.1	ABELHA SEM FERRÃO	13
2.1.1	<i>Tetragonisca angustula</i> (Jataí)	16
2.1.2	<i>Melipona quadrifasciata quadrifasciata</i> (Mandaçaia)	17
2.1.3	<i>Scaptotrigona bipunctata</i> (Tubuna)	19
2.2	MEL E PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS	20
2.3	BACTÉRIAS	22
3	OBJETIVOS	26
3.1	OBJETIVO GERAL	26
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4	MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1	MÉIS DE ASF	27
4.2	BACTÉRIAS	28
4.2.1	Preparação do inóculo bacteriano e padronização	29
4.2.1.1	Método de Crescimento	29
4.3	TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA	29
4.3.1	Método de Microdiluição em Caldo	29
6	CONCLUSÃO	38
7	REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

Com o avanço da ciência e uso irracional de certos compostos, como ampicilina, cefalexina, entre outros, as bactérias progressivamente vêm desenvolvendo resistência aos antibióticos, conduzindo a estudos para novos compostos com ação antimicrobiana a partir de diferentes produtos naturais, como o mel (MOTHERSHAW, JAFFER, 2004; CABRERA et al., 2007; FERNANDES et al., 2009).

Desde os primórdios da civilização o mel apresenta importância cultural, não restringido apenas à alimentação, mas atribuídas a medicina popular e uso como cosmético (BALLIVIÁN, 2008), devido suas diferentes propriedades terapêuticas, antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, antiviral, antiparasitária e antiinflamatória (SILVA et al., 2006; MARIANO, 2010; MOTHERSHAW, JAFFER, 2004; BOGDANOV et al., 2008).

Por extensão territorial com diversificada vegetação e um clima tropical favorável à exploração apícola, o Brasil apresenta grande potencial, oferecendo condições de uma elevada produção, com a possibilidade de fornecer mel o ano todo. Contudo, estas mesmas qualidades, proporcionam ao mel uma grande variedade em suas propriedades físico-químicas, características sensoriais e outras peculiaridades (BARBOSA et al., 2014). As características dos méis, principalmente físico-químicas, são influenciadas tanto pela a origem botânica, condições climáticas, manejo do apicultor, espécie de abelha, entre outros, tornando-o um produto de alto grau de complexidade (ABREU, 2011; MARCHINI, MORETI, 2001; LOPES et al., 2011).

Abelhas sem ferrão (ASF), também conhecidas como meliponíneos, elaboram mel diferenciado, com características sensoriais e físico-químicas particulares, o que tornam seu valor comercial mais elevado, quando comparado ao mel tradicional de *Apis mellifera* (MANSUÊTO, 2014; VILLAS-BÔAS, 2012; CARVALHO et al., 2005). A criação de abelhas sem ferrão é denominada como meliponicultura.

A Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, define mel como produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colméia (BRASIL, 2000).

Para fins de comercialização do mel a regulamentação é direcionada pela Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000), baseado em legislações internacionais, porém, esta somente atende às características do mel de *Apis mellifera*, não contemplando o mel das abelhas sem ferrão (ALMEIDA-ANACLETO et al., 2009).

Mel de meliponíneos apresenta percentuais de umidade maiores comparado aos valores máximos sugeridos para o mel de *Apis*, limite máximo de 20%, sendo que o ideal é um teor de 17 a 18%, com o intuito de enquadrá-los conforme a Instrução Normativa nº 11, os criadores aquecem o mel como forma de desidratar, descaracterizando e alterando características naturais, cuja interação destes é responsável pela atividade antimicrobiana (VILLAS-BÔAS, 2012).

Visto que a falta de legislação mostra-se um campo pouco explorado da meliponicultura, este trabalho tem por objetivo gerar informações sobre a atividade antimicrobiana de amostras de méis provenientes das abelhas sem ferrão, *Tetragonisca angustula* (JATAÍ) *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (MANDAÇAIA) *Scaptotrigona bipunctata* (TUBUNA), oriundas de diferentes regiões do estado do Paraná (Brasil), frente às bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium* e *Staphylococcus aureus*.

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 ABELHA SEM FERRÃO

Em 1953, o pesquisador Paulo Nogueira Neto, utilizava pela primeira vez o termo meliponicultura, adotado a partir de então, o qual refere-se à criação de abelhas com ferrão atrofiado, impossibilitando o uso do mesmo como defensivo (NOGUEIRA NETO, 1997).

A meliponicultura é uma pratica antiga desenvolvida pelo povo indígena antes mesmo da colonização do Brasil. Ao longo do tempo o conhecimento se difundiu, e passou a ser praticado de forma tradicional por pequenos e médios produtores como uma atividade econômica complementar (COLLETO- SILVA, 2005). O legado indígena é evidenciado nas denominações populares desse grupo de abelhas (VILLAS BOAS, 2012). Nogueira-Neto (1997) conclui que há confusão em relação aos nomes populares dos meliponíneos, não indicando com precisão a verdadeira identidade da abelha, tendo como única referencia segura a nomenclatura científica. Segundo Roubik (2006) uma característica marcante no reconhecimento das espécies é a arquitetura do ninho .

Os meliponíneos pertencem à família Apidae, subfamília Meliponinae e divide-se em duas tribos: a Meliponini e a Trigonini (BALLIVIÁN, 2008).

Em 2012, Villas Boas (2012), notificou que são descritos aproximadamente 400 tipos de abelhas sem ferrão nas Américas, região de maior diversidade de espécie no planeta, entretanto, ocupam outras regiões de clima tropical e temperado subtropical em menor diversidade, como África, sudeste asiático e norte da Austrália. Nogueira-Neto (1997) verificou a presença de meliponíneos no México delimitando como ponto mais ao norte, na Argentina e Uruguai como pontos mais ao sul. Silveira et al. (2002), atribui a pequena diversidade de abelhas sem ferrão em ambientes campestres mais frio devido a escassez de árvores, dificultando a construção de ninhos; no Brasil as ASF são nativas, encontrando-as em todo o

território nacional. Segundo Witter, Nunes-Silva (2014) no Rio Grande do Sul estão registradas 24 espécies, destas, três estão inseridas na Lista Vermelha das Espécies Ameaçadas de Extinção.

Apesar de possuírem o ferrão atrofiado os meliponíneos desenvolveram estratégias de defesas que variam conforme espécie da abelha, inimigo e ecossistema. Algumas espécies quando se sentem ameaçadas tampam a entrada do ninho com cera e resina, reabrindo apenas quando se sentem seguras, outras, constroem ninhos com entradas estreitas onde possam passar uma abelha de cada vez, além da entrada ser protegido por abelhas-guarda (FREITAS, 2003).

Na natureza as colônias de ASF são encontradas em troncos de árvores vivas ou mortas. São consideradas eussociais por viverem em sociedade, onde as colônias são bem estruturadas, com divisão de trabalho (FRAZÃO, 2013).

A divisão é organizada pelas castas: zangões, que são os machos, rainhas (poedeira(s) e virgens) e operarias, ambas fêmeas. Os zangões são gerados em grande numero, vivem basicamente para fecundação, às vezes realizam algumas tarefas, como desidratação do néctar e a manipulação da cera. A rainha poedeira realiza a postura dos ovos e comanda a colônia. Geralmente, a colônia possui apenas uma rainha, porém, há relatos de colônias com duas ou mais rainhas poedeiras. Caso houver necessidade de substituir a rainha, existem rainhas virgens disponíveis para a reposição. As operarias representam a maior parte da colônia, onde são responsáveis por construir e realizar a manutenção da colônia, cuidar da cria, coletar e processar o alimento (FRAZÃO, 2013).

Kerr (2001) notifica que até o ano de 1838 a principal fonte adoçante natural era o mel das abelhas sem ferrão, ano em que o Padre Manoel Severiano inseriu as abelhas *Apis mellifera* no Rio de Janeiro (KERR, 2001).

Especialmente relacionada à produção de mel, as abelhas ainda oferecem muito mais, como pólen, geoprópolis e cerume, sendo estes os principais atrativos para a sua criação. Porém, a importância dos meliponíneos está além, a principal função na natureza é a polinização das flores e, conseqüentemente, a produção de frutos e sementes. A criação e manejo possibilitam o arrendamento das colônias para o serviço de polinização (BALLIVIAN et al., 2008; FRAZÃO, 2013).

A meliponicultura inseriu-se, no cenário atual, como prestação de serviços ao ecossistema. Tarefa de essencial importância para a manutenção da flora e diversidade vegetal (KERR et al., 2001).

A polinização é o processo reprodutivo de transferência do pólen (estrutura masculina da flor) até o estigma (estrutura feminina da flor) (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2004). O pólen e o néctar são os principais recursos oferecidos pelas flores, sendo o pólen o alimento base das abelhas, fonte de proteína, lipídios, vitaminas e sais minerais, para as larvas e operárias jovens, enquanto o néctar é uma das matérias-primas para o mel (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2004; SALOMÉ, 2009; MAAREC, 2015).

As abelhas coletam o néctar, e junto ao corpo carregam o pólen, durante o voo, de flor em flor, fertilizam-se as plantas. Ao entrar em contato o grão de pólen e o estigma inicia-se a formação de um novo fruto, caso houver a germinação das sementes deste fruto no solo, originar-se-á uma nova planta com características das plantas que participaram da polinização (BALLIVIAN, 2008).

Durante a busca de alimento as abelhas retribuem às plantas com o serviço de fertilização cruzada, mutualismo que resulta em frutos de melhor qualidade e maior número de sementes (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2004).

Ramalho et al. (1994) indica que há uma tendência a não misturar pólenes de diferentes espécies de plantas, ação apreciada para fins de polinização.

Estima-se que 75% da produção mundial de alimentos depende da polinização realizada por animais, sendo que as abelhas ocupam um papel de destaque, responsáveis por 75% da polinização cruzada de plantas (CABRAL, 2016). No entanto, com o uso indevido do solo, o emprego descontrolado de agrotóxicos e inseticidas, as grandes queimadas, assim como a ação predatória do homem contribuem para a destruição de plantas e acentuada perda de colônias de abelhas nativas, conseqüentemente diminuindo a polinização (KERR, 1997; BRUENING, 2001; OLIVEIRA et al, 2013).

Magalhães, Venturieri (2010) explica que a meliponicultura é nova entre os cursos técnicos, com pouca mão de obra especializada para dar apoio na difusão tecnológica, além da grande diversidade de espécies existentes, havendo necessidade de estudos (MAGALHÃES, VENTURIERI, 2010).

2.1.1 *Tetragonisca angustula* (Jataí)

A ASF *Tetragonisca angustula* é conhecida popularmente como jataí, espécie da subfamília Meliponinae pertencente à tribo Trigonini, é uma abelha pequena com cerca de 4 mm de comprimento e coloração amarelada. No Brasil é encontrada nos Estados do Amazonas, Amapá, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Mato Grosso, Pará, Paraíba, Paraná, Rio de Janeiro, Rondônia, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo (ROUBIK, 1983; SILVEIRA et al., 2002; NOGUEIRA-NETO, 1997).

Constroem os ninhos em pequenas cavidades de árvores, paredes de alvenaria, tubulações, adaptam-se às diferentes condições de nidificações. Apresentam características peculiares em relação ao ninho, a entrada é um tubo de cerume marrom-amarelado de extremidade mais estreita (ANTUNES, 2005; FREITAS, SOARES, 2004). Grüter et al. (2012) notificam a permanência de operárias guardas junto a entrada do ninho, estacionadas ou em vôo ao redor, prontas para defenderem a colméia de ataques ou invasões de abelhas de outras colméias e outros insetos (Figura 1).



Figura 1. Aspecto da ASF *T. angustula* defendendo a entrada de um ninho natural

Fonte: Grüter et al., 2012.

É tida como a abelha de comportamento mais higiênico. Dentre as ASF o mel produzido pela Jataí é o mais apreciado, com sabor e aroma peculiar, meio azedo e um pouco ácido. A produção anual de mel varia entre 0,5 a 1,5 L por colméia, alcançando preços elevados no mercado (OLIVEIRA, RIBEIRA, OLIVEIRA, 2013; IMPERATRIZ-FONSECA et al., 1984; ANACLETO et al., 2009). Além de ser um dos méis mais utilizados para a medicina popular, estudos apontam atribuições terapêuticas nos tratamentos oftálmicos, sinusite, tosse, antisséptico (BOBANY et al., 2010; NETO et al., 2004).

2.1.2 *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (Mandaçaia)

A ASF *Melipona quadrifasciata* conhecida popularmente como Mandaçaia, é pertencente à tribo Meliponini, estão subdividas em duas subespécies, *Melipona quadrifasciata anthidioides* e *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*, a principal diferença entre si são as faixas tergais, de três a cinco listras amarelas contínuas em *M. q. quadrifasciata*, e de dois a cinco listras amarelas interrompidas em *M. q. anthidioides*, possível de se observa na Figura 2 (SCHWARZ, 1948).

Distribuídas geograficamente desde o Rio Grande do Sul, até o sul de São Paulo, destaca-se por suas atividades em regiões mais altas e de temperaturas baixas (MOURE & KERR, 1950; MOURE, 1975). Em regiões do Estado de São Paulo e no sul de Minas Gerais há ocorrência de híbridos com padrões intermediários de bandas tergais (Figura 2) (Melo & Campos, 1987).

Apresenta aspecto mais robusto, de tamanho entre 7 a 15 mm (Silveira et al. 2002; Oliveira et al. 2013). Constroem os ninhos em cavidades, como ocos de árvores, a entrada apresenta estruturas raiadas feitas de batume. O batume é uma mistura de barro e própolis, podendo receber outros materiais como flores, folhas, sementes e gravetos, as abelhas utilizam o batume na construção dos ninhos, para vedar frestas e usar em crostas externas de ninhos expostos (RIBEIRO, 2014; SANCHES, 2012) (Figura 3). Nogueira-Neto (1997) relata a contaminação por *E. coli* em batumes de Mandaçaia, pois estas coletam excrementos de animais

vertebrados e usam como mistura para a formação do batume (NOGUEIRA-NETO 1997).

Em média por ano a mandaçaia produz por colméia de 2 a 3 litros de mel, muito apreciado e de fácil comercialização (Kleinert et al., 2009). Estudos realizados por Gonçalves et al. (2010) apontam o mel desta abelha com elevado teor de umidade, resultando em um mel menos denso e mais propício a fermentação.

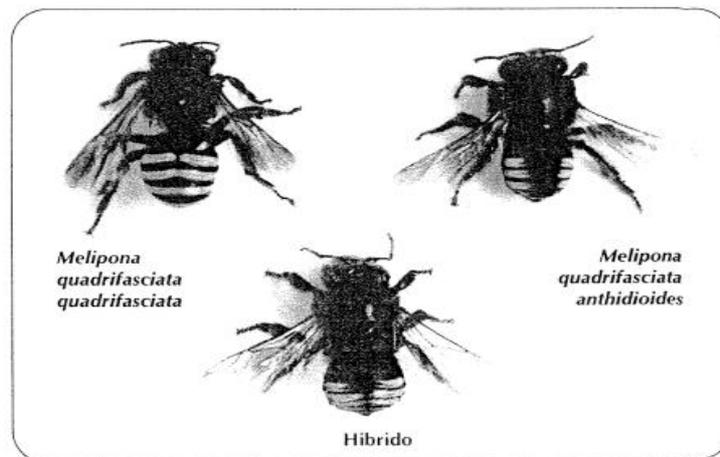


Figura 2. Aspecto das abelhas *Melipona quadrifasciata quadrifasciata*, *Melipona quadrifasciata anthidioides* e híbrido.

Fonte: Aidar, 1996.



Figura 3. Entrada do ninho de Mandaçaia

Fonte: Meliponicultura em foco, s.d.

2.1.3 *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna)

A abelha *Scaptotrigona bipunctata*, pertencente à tribo Trigonini, é conhecida popularmente como tubuna, devido à formação característica da entrada do ninho, um funil ou tubo de cerume, que permite a passagem de várias abelhas simultaneamente (BLOCHTEN et al., 2008) (Figura 4). Nidifica em cavidades pré-existentes, predominantemente em ocos de troncos de árvores, com colônia muito numerosa variando de 2.000 a 50.000 abelhas (LINDAUER, KERR, 1960; Nogueira-Neto 1970).

São abelhas de porte médio, que geralmente apresentam comportamento defensivo agressivo, liberando um odor forte quando atacam, enrolando-se nos cabelos/pêlos do inimigo (BARROS, 2013; BLOCHTEN, 2008).

Estão distribuídas por toda a região Neotropical, e no Brasil são encontradas nos estados de Minas Gerais, Rio Grande do Sul e São Paulo (SILVEIRA et al., 2002; WITTER; LOPES et al., 2010).

Oliveira, Santos (2011) compararam a composição físico-química de amostras de mel de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) e amostras de mel de *S. bipunctata*, obtiveram diferença significativa em alguns parâmetros avaliados, destacando-se a umidade, açúcares redutores e hidroximetilfurfural, onde o mel de tubuna apresenta menor quantidade de açúcares redutores, hidroximetilfurfural, porém, mais úmido (OLIVEIRA, SANTOS, 2011).



Figura 4. Ninho de *Scaptotrigona bipunctata* com presença de abelhas sentinelas no tubo de entrada

Fonte: Intercoop, 2013.

2.2 MEL E PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS

Em condições normais o mel representa uma solução líquida com baixo teor de água (13 a 20%) e alta concentração de matéria seca. Possui uma grande quantidade de açúcares simples, em média 32% de glicose, 38% de frutose, pequenas quantidades de outros açúcares, como sacarose, maltose e outros dissacarídeos, ainda é constituído por sais minerais, como potássio, sódio, cloro, enxofre, cálcio, fósforo, silício, ferro e magnésio, aminoácidos e enzimas (NOGUEIRA COUTO, COUTO, 2006).

O mel é uma substância preparada, principalmente, a partir do néctar das flores (mel floral), de exsudações vegetais ou de excreções de insetos sugadores de plantas (mel de melato ou melato), ou mesmo frutas (MOREIRA, 2001). Após a coleta deste material, as enzimas hipofaríngeas das abelhas entram em ação, transformando e armazenando para maturação (BRASIL, 2000). Assim, a quantidade e a qualidade têm influência direta da produção e concentração dessa substância inicial, o teor de enzimas resultante ao mel é diferenciado devido à floral,

características do solo, ou a fatores sazonais como temperatura, pluviosidade, conferindo ao mel características específicas (MARCHINI et al., 2004).

Ainda que os meliponíneos produzam mel em menor quantidade, o resultado é um produto diferenciado do mel de *Apis mellifera*, os ácidos orgânicos, enzimas, vitaminas, flavonóides, minerais e uma extensa variedade de compostos orgânicos, contribuem para a cor, odor e sabor específico (CARVALHO, et al. 2005). A principal diferença está na umidade, elevada em méis de melíponas, tornando-o menos denso quando comparado ao mel das *Apis mellifera*, exigindo maiores cuidados quanto a sua conservação (ANACLETO, et al. 2008).

O mel dos meliponíneos tem apresentado crescente demanda de mercado, porém a falta de legislação mostra-se que a meliponicultura é um campo pouco explorado, devido ao escasso conhecimento sobre o mel de abelhas sem ferrão, o que exclui o mesmo das normas internacionais para mel (C.A.C., 2001) e não é controlado pelas autoridades de controle dos alimentos, logo, o consumidor não tem garantias de um produto de qualidade. Os Padrões de mel existentes no Brasil (BRASIL, 2000) contemplam somente o mel de *A. mellifera*, seguindo as orientações de normas internacionais da *Codex Alimentarius Comission* (C.A.C., 2001). Para se enquadrarem aos parâmetros previstos os criadores utilizam do aquecimento como forma de desidratar o mel, descaracterizando e alterando características naturais (VILLAS-BÔAS, 2012).

Não restringido apenas à alimentação, o mel é atribuído a medicina popular, devido à atividade biológica sobre uma variedade de microrganismos, segundo relatos há inibição tanto de patógenos sensíveis como resistentes a antibióticos (MOTHERSHAW, JAFFER, 2004; BOGDANOV et al., 2008).

A ação antimicrobiana está relacionada a muitos fatores que interessam a composição química dos méis, desde diferenças no solo, condições atmosféricas, diversificação vegetal, que interferem na formação do mel, como baixa atividade de água (A_w), alta pressão osmótica, baixo pH, o sistema glucose/oxidase com formação de peróxido de hidrogênio, presença de componentes fitoquímicos e de substâncias voláteis (WESTON, 2000; MAVRIC et al, 2008). Diferentes qualidades que em conjunto fornecem ao mel alterações na expressão da atividade antimicrobiana (ABREU, 2011; BARBOSA et al., 2014).

Silva et al. (2006) cita Molan (1999) informando que em solução supersaturada de açúcares, o mel apresenta uma baixa atividade de água, além da acidificação natural do meio, conferindo condições desfavoráveis para o crescimento de bactéria.

Na presença de água e oxigênio, a enzima glicose-oxidase, converte glicose, em ácido glucônico e peróxido de hidrogênio, são consideradas substâncias relevantes de ação antioxidante, que afetam o envoltório dos microrganismos, conservando a esterilidade do mel durante a maturação (WESTON, 2000; SATO, MYATA, 2000; BANG et al., 2003).

Tendo em vista a complexa composição, os estudos referentes a caracterização do mel são de suma relevância para a criação de padrões de qualidade de acordo com fatores vegetais, climáticos das respectivas regiões em que são produzidos, contribuindo para a qualidade, oferecendo garantias do produto e controlando possíveis fraudes (MARCHINI et al., 2006).

2.3 BACTÉRIAS

As bactérias são categorizadas em dois grupos segundo a composição da parede celular, Gram-positivos e Gram-negativos. A parede celular atua como uma barreira de proteção contra determinados agentes químicos e físicos externos, funcionando como suporte de antígenos somáticos bacterianos (NOGUEIRA, MIGUEL, 2009; VIEIRA, FERNANDES, 2012).

Bactérias consideradas Gram-negativas possuem parede celular mais complexa, é composta por uma fina camada de peptidoglicano (2-3nm), sobre a qual se encontra outra camada, designada como membrana externa, esta é composta por lipoproteínas, fosfolipídios, proteínas e lipopolissacarídeos (Figura 5). Já as Gram-positivas são constituídas basicamente por peptidoglicano (30nm), não

apresentam camada externa (Figura 6) (NOGUEIRA, MIGUEL, 2009; VIEIRA, FERNANDES, 2012).

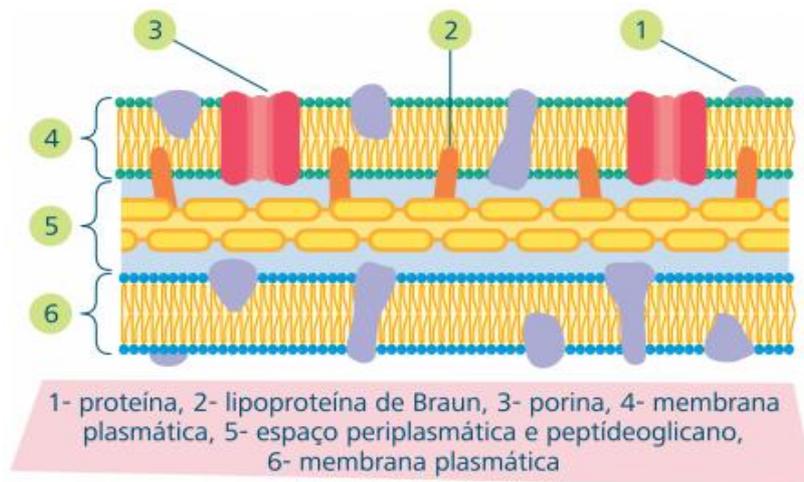


Figura 5. Parede celular de bactéria Gram-negativa

Fonte: CTISM, s.d., apud VIEIRA, FERNANDES, 2012.

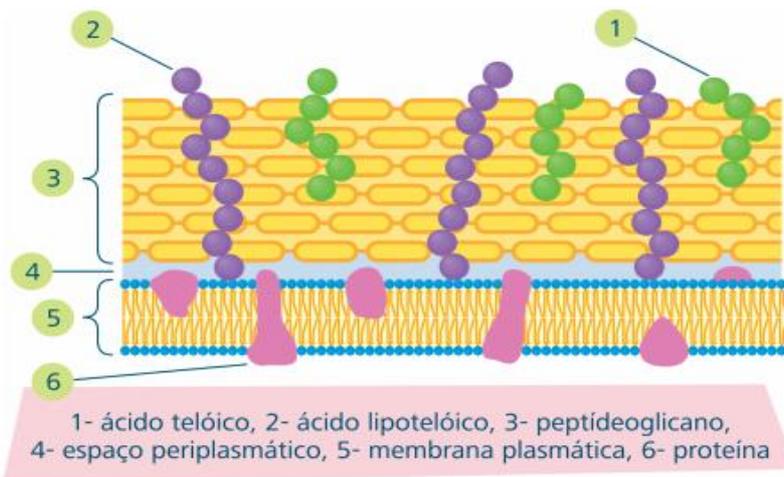


Figura 6. Parede celular de bactéria Gram-positiva

Fonte: CTISM, s.d., apud VIEIRA, FERNANDES, 2012.

Bactérias Gram-negativas, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, e *Salmonella Typhymurium*, assim como a Gram-positiva *Staphylococcus aureus*, frequentemente são associadas à DTA (Doença Transmitida por Alimento). As DTAs constituem um dos problemas de saúde pública mais comuns do mundo contemporâneo (FERRAZ et al., 2015).

A presença de *Escherichia coli* em alimentos deve ser avaliada sob duas formas, a princípio por ser uma enterobactéria, uma vez detectada é indicativo de condições higiênicas insatisfatórias, com contaminação de origem fecal. O outro aspecto é que diversas linhagens são comprovadamente patogênicas ao homem e animal (FRANCO, LANDGRAF, 2008).

As *Pseudomonas* são importantes devido à intensa atividade metabólica, sendo capazes de utilizar uma grande variedade de compostos orgânicos, além de produzirem pigmentos hidrossolúveis, enzimas proteolíticas e lipolíticas. A *Pseudomonas aeruginosa* em especial, são patógenos oportunistas em humanos (FRANCO, LANDGRAF, 2008). Por causa da alta resistência a antibióticos e do grande arsenal de fatores de virulência desta bactéria, as infecções causadas por ela são de difícil controle (ARRUDA, 1995).

A *Salmonella* é uma bactéria entérica responsável por graves intoxicações alimentares, sendo um dos microrganismos mais envolvido em casos de doenças de origem alimentar registrados em vários países (SHINOHARA et al., 2008).

Enquanto o *Staphylococcus aureus* é a espécie mais importante do gênero *Staphylococcus*, e está associado à intoxicação alimentar devido à formação de enterotoxinas (JAY, 2005).

Segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2013), no Brasil, entre o período de 2000 a 2013, 39,39% dos surtos de DTAs estavam associados a *Salmonella* spp., 19,71% à *S.aureus* e 12,40% a *E. coli*.

No período entre maio e julho de 2011, países da União Européia foram surpreendidos com um surto alimentar proveniente de *E. coli*. O surto que teve início na Alemanha se espalhou pelos países europeus, manifestava-se como Infecção Enterohemorrágica (EHEC), e em alguns casos Síndrome Urêmica Hemolítica (HUS), dados da Organização Mundial de Saúde, totalizaram 3167 casos de EHEC com 16 casos de óbito e 908 casos de HUS com 34 que resultaram em óbito (FRANK et al., 2011).

Entre setembro de 2008 e início de 2009, nos Estados Unidos, 714 vítimas foram infectadas pelo surto de *Salmonella* Typhimurium, relacionados com o consumo de manteiga de amendoim contaminada (BASU, 2014).

Fernandes et al.(2009) relataram surto incomum de mastite causada por *Pseudomonas aeruginosa* em 19 vacas, o estudo revela a resistência múltipla a drogas das bactérias isoladas a cinco ou mais agentes antimicrobianos convencionais, incluindo ampicilina, cefalexina, cloxacilina, penicilina e tetraciclina (FERNANDES et al., 2009).

Atualmente a resistência bacteriana é descrita em praticamente todas as espécies de bactérias. É um fenômeno genético, conexo à existência de genes do próprio microrganismo que codificam diferentes mecanismos bioquímicos, impedindo a ação das drogas. A resistência das espécies bacterianas aos antimicrobianos difere-se entre os países e regiões. Há espécies que demonstram resistência amplamente difundida em todo o mundo, como é o caso do *Staphylococcus aureus*, no entanto outras espécies apontam sensibilidade às drogas em alguns países (TAVARES, 2000).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar a atividade antimicrobiana *in vitro* de méis de abelha sem ferrão proveniente de diferentes regiões do Paraná, visando contribuir para o melhor conhecimento sobre o seu potencial antimicrobiano.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a atividade antimicrobiana das amostras dos méis de :

- *Tetragonisca angustula* (JATAÍ);
- *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (MANDAÇAIA);
- *Scaptotrigona bipunctata* (TUBUNA);

Frente à cepas microbianas:

- *Escherichia coli* ATCC 24922;
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853;
- *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028;
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923;

Segundo teste de sensibilidade antimicrobiana por microdiluição;

- Identificando a menor concentração necessária para a inibição de cada microrganismo testado.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo realizou-se no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *Campus* Campo Mourão.

4.1 MÉIS DE ASF

Analisaram-se vinte e três amostras de méis de ASF, cedidas gentilmente pela Dr^a Rejane Stubs Parpinelli, estas, foram obtidas diretamente de meliponicultores de diferentes cidades do estado do Paraná. A Tabela 1 apresenta a identificação, município de origem e espécie de abelhas das amostras analisadas.

Tabela 1. Identificação da amostra, município de origem e espécie de abelhas das amostras de mel produzidas por ASF adquiridas no Estado do Paraná (PR).

(continua)

Amostra	Localidade	Espécie
B	Jussara	Jataí
C	Marechal C. Rondon	Jataí
D1	Guaraqueçaba	Jataí
D2	Guaraqueçaba	Mandaçaia
D3	Guaraqueçaba	Tubuna
E1	São José dos Pinhais	Mandaçaia
F	Floresta	Jataí
G	Tuneiras do Oeste	Jataí
H	Ponta Grossa	Jataí

Tabela 1. Identificação da amostra, município de origem e espécie de abelhas das amostras de mel produzidas por ASF adquiridas no Estado do Paraná (PR).

(conclusão)

Amostra	Localidade	Espécie
I1	Perobal	Jataí
I2	Perobal	Mandaçaia
J	Pérola	Jataí
K1	Cambará	Jataí
K2	Cambará	Tubuna
L1	Mandirituba - Colônia Retiro	Jataí
L2	Mandirituba - Colônia Retiro	Tubuna
L3	Mandirituba - Chimboveiro	Jataí
L4	Mandirituba - Serrinha	Mandaçaia
L5	Mandirituba - Quatro Pinheiros	Mandaçaia
L6	Mandirituba - Santo Amaro	Tubuna
M	Ortigueira	Jataí
N	Maringá	Jataí
O	Maringá	Tubuna

4.2 BACTÉRIAS

As bactérias utilizadas são pertencentes ao acervo da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Câmpus* Campo Mourão. Utilizou-se as seguintes bactérias:

- Gram-negativas: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 e *Escherichia coli* ATCC 24922;
- Gram-positiva: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Conservadas sob-refrigeração à 6°C.

4.2.1 Preparação do inóculo bacteriano e padronização

4.2.1.1 Método de Crescimento

Procedeu-se segundo o documento do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), documento M07-A9 (2012), o mesmo procedimento se deu para todas as bactérias utilizadas.

Repicou-se de três a cinco colônias da bactéria em questão (Seção 4.2) para um tubo de ensaio com rosca contendo 4-5 mL de Caldo Miller Hinton (CMH), incubou-se a cultura em caldo a 35° C por 18-24 horas, findado as horas de incubação, padronizou-se a suspensão bacteriana em solução salina 0,85% obtendo-se uma turbidez óptica comparável à da solução padrão McFarland 0,5. A comparação realizou-se a olho nu, sob luz suficiente para comparar o tubo de inóculo e a solução padrão McFarland 0,5 contra um cartão de fundo branco e linhas contrastantes pretas. Posteriormente diluiu-se o mesmo na proporção de 1:10 em solução salina 0,85% resultando em uma concentração de 10^7 UFC/mL.

4.3 TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA

4.3.1 Método de Microdiluição em Caldo

O teste de sensibilidade antimicrobiana seguiu-se segundo o documento do CLSI, M07-A9 (2012), onde foi verificada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) através do Método de Microdiluição em Caldo.

Para a realização do teste utilizou-se microplacas de 96 poços de fundo U com marcações indicando a posição de cada poço, linhas (de A a H) e colunas (de 1 a 12), como mostra a Figura 7.

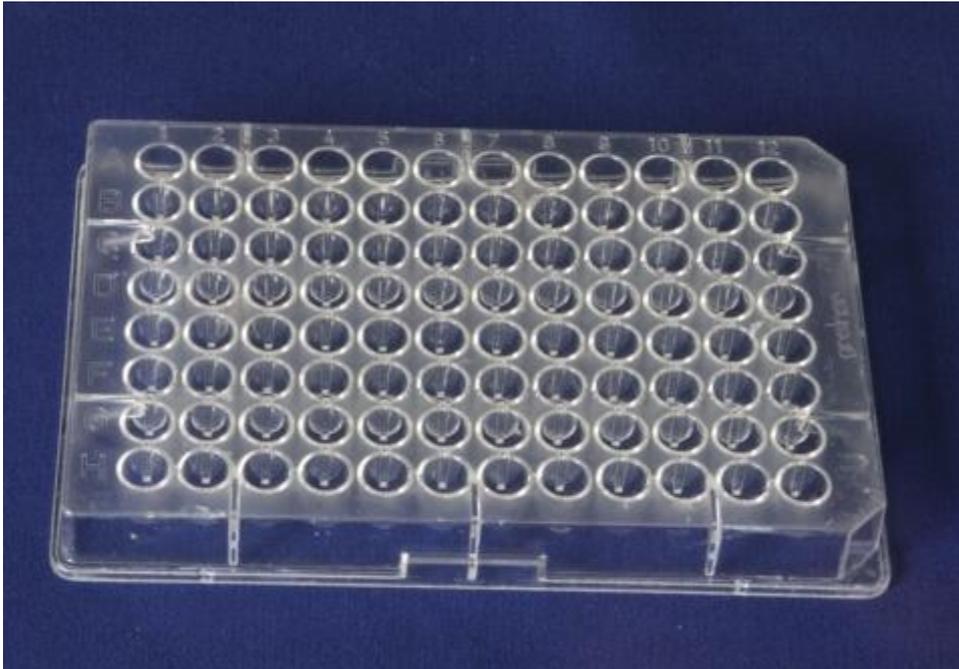


Figura 7. Placa 96 poços, fundo em U.

Fonte: Esterilab, s.d.

Primeiramente pipetou-se 100 μ L de CMH em cada poço, em seguida, realizou-se a diluição seriada das diferentes amostras de méis, sendo cada amostra de mel em uma linha diferente.

Para a diluição seriada pipetou-se 100 μ l de mel no primeiro poço, homogeneizou-se, retirou-se 100 μ l do primeiro poço e transferiu-se para o segundo poço, retirou-se 100 μ l do segundo e transferiu-se para o terceiro, assim sucessivamente, até o poço 9^a de cada linha. Obtendo-se assim, as seguintes concentrações de mel em porcentagem (%) apresentadas abaixo (Quadro 1):

Nº do poço	Mel (%)
1	50
2	25
3	12,5
4	6,25
5	3,125

6	1,56
7	0,78
8	0,39
9	0,195

Quadro 1. Correlação entre poço e concentração de mel (%).

Como controle bacteriano (sem adição de mel) utilizou-se o poço 10 e o poço 11 como controle do caldo (sem adição de mel e inóculo).

Depois de adicionado o mel, inoculou-se 5 µL da suspensão padronizada da bactéria em questão em cada poço, exceto no poço de controle do caldo, de maneira que a concentração final de bactérias do teste seria 5×10^4 UFC/poço.

As microplacas foram identificadas e incubadas em estufa bacteriológica (TE-392/2, Tecnal) a 35°C por 24h.

Findada às 24h de incubação as microplacas foram analisadas para determinação do CIM. O CIM foi definido como a menor concentração de mel em que não houve crescimento visível após a incubação. De modo a complementar, analisou-se ao microscópio o conteúdo do poço indicado como CIM.

Os ensaios foram realizados em triplicata para cada uma das bactérias analisadas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos estão apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4, segundo as espécies de abelhas das amostras de méis, *T. angustula*, *M. q. quadrifasciata* e *S. bipunctata*, respectivamente, expressos conforme a média em porcentagem (%) dos ensaios realizados em triplicata.

Tabela 2. Concentração Inibitória Mínima (CIM) em % para amostras de méis de *T. angustula* (Jataí).

Bactéria	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> Typhymurium
Amostra				
B	14,58	25,00	37,50	37,50
C	25,00	50,00	25,00	50,00
D1	10,42	-	16,67	25,00
F	41,67	50,00	33,33	25,00
G	16,67	25,00	16,67	12,50
H	10,42	25,00	29,17	37,50
I1	10,42	50,00	12,50	25,00
J	10,42	50,00	18,75	50,00
K1	8,33	25,00	25,00	37,50
L1	8,33	50,00	12,50	50,00
L3	10,42	50,00	33,33	50,00
M	10,42	50,00	33,33	50,00
N	10,42	50,00	16,67	50,00

(-) Houve crescimento bacteriano em todas as concentrações avaliadas.

Tabela 3. Concentração Inibitória Mínima (CIM) em % para amostras de méis de *M. q. quadrifasciata* (Mandaçaia).

Bactéria	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> Typhymurium
Amostra				
D2	12,5	50,00	-	25,00
E1	6,25	50,00	16,67	50,00
I2	16,67	25,00	16,67	37,50
L4	8,33	-	-	12,50
L5	8,33	-	8,33	25,00

(-) Houve crescimento bacteriano em todas as concentrações avaliadas.

Tabela 4. Concentração Inibitória Mínima (CIM) em % para amostras de méis de *S. bipunctata* (Tubuna).

Bactéria	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> Typhymurium
Amostra				
D3	14,58	-	-	-
K2	6,25	-	-	-
L2	8,33	-	-	-
L6	8,33	-	-	12,50
O	10,42	50,00	16,67	50,00

(-) Houve crescimento bacteriano em todas as concentrações avaliadas.

Em todas as microplacas após a incubação formou-se uma espécie de “botão” ao fundo, proveniente da sedimentação de compostos dos méis, fato que pode estar relacionado à fermentação do mel, averiguou-se também que em alguns casos houve turvação envolvendo os botões.

Analisando o conteúdo das microplacas em lâminas ao microscópio verificou-se que quando houve a formação do “botão” envolto por turvação ocorreu crescimento bacteriano. Ainda em análise ao microscópio, nos ensaios feito com *E.*

coli os poços em que sucedeu crescimento, os microrganismos se movimentavam lentamente.

Comparando as Tabelas 2, 3 e 4, observa-se que em todas as amostras de méis independente da espécie da abelha, a atividade antimicrobiana mais expressiva foi para a bactéria *P. aeruginosa*.

Em análise à Tabela 2 nota-se que o mel de Jataí apresentou efeito inibitório em todas as amostras de méis, bem como para todas as espécies de bactérias, em destaque na inibição de *P. aeruginosa* e *E. coli*, onde apresentou menores concentrações, exceto a amostra D1 que não apresentou inibição a bactéria *S. aureus*.

O mel de Jataí mostrou-se como o melhor agente antibacteriano quando comparado aos outros méis investigados, devido a sua ação contra todas as bactérias testadas.

Observa-se na Tabela 3 que o mel de Mandaçaia apresentou resultados eficientes contra *P. aeruginosa* e *Salmonella Typhymurium*, sendo que para *Salmonella Typhymurium* foi necessária uma porcentagem maior de mel para que ocorresse a inibição. Já para as bactérias *S. aureus* e *E.coli* nem todas as amostras de méis demonstraram atividade inibitória, contudo, quando inibido *E. coli* verificava-se uma porcentagem menor de mel necessária.

Constata-se que as amostras de méis de Tubuna (Tabela 4) expressam o menor desempenho entre os méis analisados, onde houve crescimento de *S. aureus* e *E.coli* em praticamente todas as amostras, exceto a amostra O.

Borsato et al. (2013) em análise a atividade antibacteriana de diferentes méis produzidos por meliponíneos nativos do Paraná- Brasil, verificou que o mel de Tubuna e Jataí inibiram o crescimento de *E. coli* e *S. aureus* com CIM 3,12% e CIM 1,56%, respectivamente, divergindo com os resultados obtidos neste estudo. Os méis analisados por Borsato et al. (2013) apesar de serem da mesma espécie de abelhas dos méis analisados no presente trabalho são de localidades diferentes.

Miorin et al. (2003) constataram a atividade antibacteriana de mel e própolis fornecidos pela espécie Jataí frente *S. aureus*, concluíram ainda que alguns compostos típicos da própolis também foram identificados em amostras de mel, em

análise aos componentes principais revelaram que a composição química das amostras de mel e própolis foram distintas com base na localização geográfica das amostras (MIORIN et al., 2003).

Ballivián (2008) explica que o mel de meliponíneos é armazenado em potes de cerume, feitos de uma junção de cera e própolis; para Temaru et al. (2007) este contato de mel e cerume há grande chance de que os constituintes fitoquímicos presente na própolis mistura-se ao mel, conferindo-lhe propriedades antibacterianas.

Guerrini et al. (2009) investigaram o potencial antibacteriano do mel de abelhas nativas do Equador, sem distinção entre os méis, para *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, revelando valores de CIM sempre inferiores às de méis de *A. Mellifera*.

Nishio et al. (2012) avaliaram a atividade antibacteriana do mel da abelha *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (Mandaçaia) coletada da região de Londrina-PR e Mauá da Serra-PR, contra as cepas de *S. aureus*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* e *P. aeruginosa*. Os testes de atividade antibacteriana mostraram que as cepas de *S. aureus* foram sensíveis para este mel, com CIM de 2,5% (NISHIO et al., 2012), porcentagem inferior à encontrada no presente estudo, conforme a Tabela 3.

Bigotto et al. (2015) aplicaram em sabonete líquido uma mistura de méis obtidos das abelhas *S. postica* e *S. bipunctata* em diferentes concentrações, mas em proporções igualitárias (2,5%, 10,0% e 20,0%; p/p) em pH 4,5, com o objetivo de analisar a atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *Candida albicans*, os resultados obtidos mostraram a eficácia do sabonete contra o crescimento desses microrganismos, observa-se na Tabela 4, valores discrepantes aos obtidos por Bigotto et al. (2015) em relação ao mel de *S. bipunctata* frente a *S. aureus*.

Mercês et al. (2013) estudaram sobre meliponíneos do estado da Bahia, os méis obtidos de *M. asilvai*, *M. quadrifasciata anthidioides*, *F. doederleinei*, *T. angustula* foram mais ativos que os de *Plebeia sp.* frente a *S. aureus* e *E. coli.*, os microrganismos *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* foram resistentes a todos os méis em ambos ensaios. Eles ainda confrontaram a atividade antimicrobiana dos méis com uma solução de açúcar e os resultados foram mais efetivos para o mel, sugerindo que o mecanismo de inibição do crescimento bacteriano não está somente relacionado ao efeito osmótico (MERCÊS et al., 2013).

Um fator importante a ser apontado é a peculiaridade do microrganismo, que influencia diretamente nos resultados de atividade antimicrobiana, reagindo de diversas formas a substâncias antibióticas. É notável a resistência de *S. aureus* nos resultados deste estudo, BRITO (2002) e CRUZ (2011) relaciona a resistência à produção da enzima catalase pelos *S. Aureus* e MOTA et al. (2013) explicam que esta enzima converte o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio livre. Quando o mel é diluído sucede a ativação da enzima glicose-oxidase, ocorrendo a oxidação da glucose em ácido gluconico e peróxido de hidrogênio (WESTON, 2000; SATO, MYATA, 2000; BANG et al., 2003). Porém, em alguns casos, o peróxido de hidrogênio no mel pode ser facilmente destruído pela ação do calor ou presença de catalase (MATTOS et al., 2003) reduzindo a capacidade antimicrobiana.

Quanto mais secreções as abelhas acrescentam ao néctar ou soluções açucaradas, mais repleto o mel fica em glicose oxidase, aumentando a quantidade de peróxido de hidrogênio (PEREIRA et al., 2003).

Segundo Kwakman e Zaat (2011) a elevada concentração de açúcares combinados com um baixo teor de umidade leva ao stress osmótico da célula, o que evita a deterioração do mel por microorganismos. Quando o mel é diluído cerca de 30-40% o teor de açúcar presente resulta em inibição bacteriana, para diluições maiores a atividade antibacteriana é devida a outros compostos (KWAKMAN, ZAAT, 2011).

Silva et al. (2006) sugeriram que substâncias antibacterianas adicionais relacionadas com as fontes florais do mel favoreciam a atividade antimicrobiana do mel e Peralta (2010) evidencia que em méis de meliponíneos o baixo pH, acidez e substâncias como compostos fenólicos contribuem como agentes antimicrobianos.

Outros autores confirmam a atividade antimicrobiana do mel atribuída à osmolaridade, acidez (pH baixo), peróxido de hidrogênio e componentes não-peróxido, como a presença de componentes fitoquímicos (WESTON, 2000; MAVRIC et al, 2008).

O mel é um produto biológico e seus constituintes relacionam entre si, associados à sua origem botânico-geográfica, e espécie da abelha, o conjunto proporciona ao mel diferentes resultados para a atividade antimicrobiana sobre o microrganismo alvo. Os fatores intrínsecos e extrínsecos que conferem ao mel

propriedades antimicrobianas devem ser melhor estudadas a fim de detalhar a contribuição de cada componente na atividade antimicrobiana.

6 CONCLUSÃO

As amostras de méis das abelhas sem ferrão *Tetragonisca angustula* (Jataí), *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* (Mandaçaia), e *Scaptotrigona bipunctata* (Tubuna), provenientes de diferentes regiões do estado do Paraná-Brasil, apresentaram atividade antimicrobiana frente às bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella Typhimurium* e *Staphylococcus aureus*, onde foi verificada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) através do Método de Microdiluição em Caldo proposto pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI).

O mel de Jataí mostrou-se como o melhor agente antibacteriano quando comparado aos outros méis investigados, devido a sua ação contra todas as bactérias testadas, já o mel de Tubuna expressou o menor desempenho, onde houve crescimento de *S. aureus* e *E. coli* em praticamente todas as amostras.

Porém, com relação aos resultados obtidos conclui-se que a ação antimicrobiana não deriva apenas da espécie da abelha sem ferrão produtora de mel, nota-se que as características dos méis são influenciadas não só por fatores extrínsecos, mas fatores intrínsecos, conferindo particularidades que em conjunto fornecem ao mel alterações na expressão da atividade antimicrobiana.

A meliponicultura é uma atividade sustentável, ecologicamente correta, economicamente apreciável, visto a valorização do mel. Criar abelhas nativas é atuar na preservação do meio ambiente.

7 REFERÊNCIAS

ABREU, C. O. **Atividades de vôo de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1836 (Apidae, Meliponinae) e sua preferência floral no Parque das Neblinas, Mogi das Cruzes, SP.** Dissertação de mestrado. Ribeirão Preto, 2011. 83 p.

AIDAR, D. S. **A mandaçaia: Biologia de abelhas, manejo e multiplicação artificial de colônias de *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae).** Série Monografias 4, Braz, Journ. Genetics, 104p, 1996.

ANACLETO, D. A.; SOUZA, B. A.; MARCHINI, L. C.; MORETI, A. C. C. C. Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula* latreille, 1811). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol.29 n.3 Campinas, 2009.

ANTUNES, T. O. **Abelha jataí como agente polinizador de cultivares de morangueiro em ambiente protegido.** Dissertação apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo para a obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegeta. Passo Fundo-RS, 2005.

ARRUDA, E. A. G. Infecção hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente: análise epidemiológica no HC-FMUSP. **Rev Soc Bras Med Trop.** 1998 set-out;31(5):503-4. DOI:10.1590/S0037-86821998000500017.

BALLIVIÁN, J. M. P. P. **Abelhas Nativas sem Ferrão.** São Leopoldo: Oikos, 2008.

BANG, L.M.; BUNTTING, C.; MOLAN, P. C. **The effect of dilution on the rate of hydrogen peroxide production in honey and its implications for wound healing.** J Altern Complement Med. 2003;9:267–273.

BARBOSA, L.S.; MACEDO, J.L.; SILVA, M.R.F.; MACHADO, A. Estudo Bioquímico de Qualidade do Mel de Abelha Comercializado no Município de Caraúbas – RN. **Revista Verde** (Mossoró – RN - Brasil), v 9. , n. 2 , p. 45 - 51, 2014.

BARROS, H. M. **Manejo racional de colônias de meliponíneos.** Relatório de estágio apresentado ao curso de Graduação em Agronomia, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC, 2013.

BASU, M. Peanut butter killed his mom; now son watches company brass stand trial. **CNN**, 2014. Disponível em:<<http://edition.cnn.com/2014/08/30/us/peanut->

salmonella-trial/index.html?sr=fb083014SalmonellaTrial7pStoryGalLink > Acesso em 20 maio 2016.

BIGOTTO, B. G.; MATSUMOTO, M. Y. S.; GARCIA, A. A. S. Inovação em sabonete íntimo líquido contendo a mistura de méis de abelha indígenas sem ferrão. **XXIV EAIC**, Encontro Anual de Iniciação Científica. Londrina, 2015.

BLOCHTEN, B.; FERREIRA, N. R.; TEIXEIRA, J. S. G.; FERREIRA JUNIOR, N. T.; WITTER, S.; CASTRO, D. **Manual de boas práticas para a criação e manejo racional de abelhas sem ferrão no RS**: GuaraipoMelipona bicolor schenki, Manduri- Melipona marginata obscurior, Tubuna- Scaptotrigona bipunctata. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2008.

BOBANY, D. M.; PIMENTEL, M. A. P.; MARTINS, R. R. C.; NETTO, B. A. S.; TOLLA, M. S. **Atividade antimicrobiana do mel de abelhas jataí (*Tetragonisca angustula*) em cultivo de microrganismos do conduto auditivo de caninos domésticos (*Canis familiaris*)**. Ci. Anim. Bras., Goiânia, v. 11, n. 2, p. 441-446, abr./jun. 2010.

BOGDANOV, S.; JURENDIC, T.; SIEBER, R.; GALLMAN, P. Honey for nutrition and health: a review. **American Journal of the College of Nutrition**. v. 27, p. 677-689, 2008.

BORSATO, D. M.; ESMERINO, L. A.; FARAGO, P. V.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. **Atividade antimicrobiana de méis produzidos por meliponíneos nativos do Paraná (Brasil)**. B.CEPPA, Curitiba, v. 31, n. 1, p. 57-66, jan./jun. 2013.

BRASIL. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 out. 2000. Seção 1, p.16-17.

BRITO, M. A. V. P.; CAMPOS, G. M. M.; BRITO, J. R. F. Esquema simplificado para identificação de estafilococcus coagulase-positivos isolados de mastite bovina. **Cienc. Rural [online]**. 2002, vol.32, n.1, pp.79-82. ISSN 1678-4596. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782002000100014>> Acesso em 19 maio 2016.

BRUENING, P. H. **Abelha Jandaíra**— 2a Edição —FUNDAÇÃO GUIMARÃES DUQUE. FUNDAÇÃO VINGT-UN ROSADO COLEÇÃO MOSSOROENSE. Série “C” — Volume 1189 — Abril de 2001.

CABRAL, K. Painel de especialistas mundial alerta para os riscos de insegurança alimentar com o declínio dos polinizadores. **EMBRAPA**. 2016. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/mobile/noticias/-/noticia/10559060/painel-de-especialistas-mundial-alerta-para-os-riscos-de-inseguranca-alimentar-com-o-declinio-dos-polinizadores>> Acesso em 22 jun 2016.

CABRERA, C. E.; GÓMEZ, R. F; ZÚÑIGA, A. E. **La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación.** Colombia Médica. Vol. 38 Nº 2, 2007.

CARVALHO, C.A.L.; ALVES, R.M.O.; SOUZA, B.A. **Criação de abelhas nativas: aspectos práticos.** Cruz das Almas: UFBA; SEAGRI-BA, 2003. (Série Meliponicultura, 1).

CARVALHO, C. A. L.; SOUZA, B. A.; SODRÉ, G.; MARCHINI, L. C.; ALVES, R. M. O. **Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química.** Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA: Carlos Alfredo L. de Carvalho, 2005.

CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition.** CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Revised codex standard for honey:** CODEX STAN 12-1981. Rome: FAO, 2001. 7 p.

COLETTO-SILVA, A. **Implicações na implantação da meliponicultura e etnobiologia de abelhas sem ferrão em três comunidades indígenas no estado do Amazonas.** Tese de Doutorado. Curso de Pós-Graduação em Entomologia, Manaus, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), 2005.

CRUZ, E. D. A. et al. Staphylococcus aureus detection in the mouth of housekeepers. **Rev. Latino-Am. Enfermagem [online].** 2011, vol.19, n.1, pp.90-96. ISSN 0104-1169. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-11692011000100013>.

ESTERILAB, s.d. Disponível em: <
http://www.esterilab.pt/admin/modulo_products/imagens_produtos/Imagem158.jpg
> Acessado em 20 maio 2016.

FERNANDES, M. C.; RIBEIRO, M. G.; SIQUEIRA, A. K.; SALERNO, T.; LARA, G. H. B.; LISTONI, F. J. P. **Surto de mastite bovina causada por linhagens de Pseudomonas aeruginosa multirresistentes aos antimicrobianos.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.61, n.3, p.745-748, 2009.

FEERRAZ, R. R. N.; SANTANA, F. T.; BARNABÉ, A. S.; FORNARI, J. V. **Investigação de surtos de doenças transmitidas por alimentos como ferramenta de gestão em saúde de unidades de alimentação e nutrição.** RACI, Getúlio Vargas, v.9, n.19, Jan/Jul. 2015.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FRANK, C.; WERBER, D.; CRAMER, J. P.; ASKAR, M.; FABER, M.; HEIDEN, M.; BERNARD, H.; FRUTH, A.; PRAGER, R.; SPODE, A.; WADL, M.; ZOUFALY, A.; JORDAN, S.; KEMPER, M. J.; FOLLIN, P.; MULLER, L.; KING, L. A.; ROSNER, B.; BUCHHOLZ, U.; STARK, K.; KRAUSE, G. Epidemic Profile of Shiga-Toxin–Producing *Escherichia coli* O104:H4 Outbreak in Germany. **The new england journal of medicine**, v. 365, n. 19, p. 1771-1780, 2011.

FREITAS, Breno M. **Meliponíneos**. Universidade Federal do Ceará, 2003. Disponível em <<http://www.abelhas.ufc.br/documentos/meliponineos.pdf>>. Acessado em 22 maio 2016.

FREITAS, G. S.; SOARES, A. E. E. **Procurando Irá: um passeio ecológico**. Ribeirão Preto: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 2004. 35 p. Disponível em: <<http://www.grupoabena.com.br/site/noticias/download/58/cartilha-usp-procurando-ira-58.>>. Acesso em 21 maio 2016.

GONÇALVES, M. C.; TERÁN-ORTIZ, G. P.; GOULART, E. D.; GONÇALVES, G. L. Caracterização físico-química de mel de abelha sem ferrão proveniente do Alto São Francisco. **II Semana de Ciencia e Tecnologia do IFMG**, campus Bambuí, Bambuí- MG, 2010.

GRÜTER C.; MENEZES C.; IMPERATRIZ-FONSECA V. L.; RATNIEKS F. L. W. **A morphologically specialized soldier caste improves colony defense in a neotropical eusocial bee**. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 109, 1182–1186. doi:10.1073/pnas.1113398109, 2012.

GUERRINI, A.; BRUNI, R.; MAIETTI, S.; POLI, C.; ROSSI, D.; PAGANETTO, G.; MUZZOLI, M.; SCALVENZI, L.; SACCHETTI, G. **Ecuadorian stingless bee (*Meliponinae*) honey: a chemical and functional profile of an ancient health product**. *Food Chemistry*, v. 114, p. 1413-1420, 2009.

INTERCOOP, COOPERATIVA INTERDISCIPLINAR DE SERVICOS TÉCNICOS. **Relatório técnico final de monitoramento. Núcleo de resgate de abelhas nativas sem ferrão**. Curitiba- PR, 2013. Disponível em: <http://www.usinamaua.com.br/upload/tiny_mce/arquivos/meio_ambiente/Resgate_de_Fauna/Monitoramento_ABELHAS_NATIVAS_UHE_Maua_Relatorio_Final.pdf> Acesso em 21 maio 2016.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L.; CONTRERA, F. A. L.; KLEINERT, A. M. P. A meliponicultura e a iniciativa brasileira dos polinizadores. **XV Congresso**

Brasileiro de Apicultura- 1º Congresso Brasileiro de Meliponicultura. Natal- RN, 2004.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Arned, 2005.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; NASCIMENTO, V. A. **A abelha urucu: biologia, manejo e conservação**. Belo Horizonte: Acangaú, 143p., 1996.

KERR, W. E.; CARVALHO, G. A.; SILVA, A. C.; ASSIS, M. G. P. **Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica**. Biodiversidade, pesquisa e desenvolvimento na Amazônia. PARCERIAS ESTRATÉGICAS - NÚMERO 12 - SETEMBRO 2001.

KLEINERT, A.M.P.; RAMALHO, M.; CORTOPASSI-LAURINO, M.; RIBEIRO, M.F. E IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Abelhas Sociais (Meliponini, Apinini, Bombini). In: PANIZZU, A.R. & PARRA, J.R.P. (Eds.). **Bioecologia e nutrição de insetos**. Base para o manejo integrado de pragas. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília. pp. 371-424, 2009.

LINDAUER, M. & W.E. KERR. 1960. **Communication between the workers of stingless bees**. Bee World 41: 29-41.

LOPES, M. T. R.; BARBOSA, A. L.; VIEIRA NETO, J. M.; PEREIRA, F. M.; CAMARGO, R. C. R.; RIBEIRO, V. Q.; SOUZA, B. A. **Alternativas de sombreamento para apiários**. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 41, n. 3, p. 299-305, jul./set. 2011.

MAAREC, Mid-Atlantic Apiculture Research and Extension Consortium. Honey bee nutrition. **U. S. Department of Agriculture**. Publication 1.4, February, 2015.

MANSUÊTO, L. Venda de mel de abelhas sem ferrão precisa de legislação. **INPA-** Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia. Disponível em: <https://www.inpa.gov.br/noticias/noticia_sgno2.php?codigo=490> [28 jan. 2015]

MARCHINI, L.C.; MORETI, A.C.C.C. Características físico-químicas de amostras de mel de cinco diferentes espécies de eucaliptos. In: Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 4. Campinas, 2001. **Anais...** Campinas: SBCTA, 2001. p. 42.

MARCHINI, L. C.; SOUSA, B. A. Composição físico-química, qualidade e diversidade dos méis brasileiros de abelhas africanizadas. In: Congresso Brasileiro de Apicultura, 16., 2006. **Anais...** Congresso Brasileiro de Meliponicultura, 2., Aracaju, 2006.

MARIANO, C. M. A. **Enxerto de túnica albugínea bovina, conservada em mel, como reforço de parede abdominal em cães.** Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro- UENF. Campos dos Goytacazes, RJ, 2010.

MATTOS, I. L.; SHIRAISHI, K. A.; BRAZ, A. D.; FERNANDES, J. R. **Peróxido de hidrogênio: importância e determinação.** *Quím. Nova.* 2003, vol.26, n.3, pp.373-380. ISSN 1678-7064.

MAVRIC, E.; WITTMANN, S.; BARTH, G.; HENLE, T. **Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand.** *Mol Nutr Foods Res.* 2008;52:483–489

BRASIL, Ministério da Saúde. Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

MIORIN, P.L.; LEVY JUNIOR, N.C.; CUSTODIO, A.R.; BRETZ, W.A.; MARCUCCI, M.C. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, p. 913-920, 2003.

MOTA, T. R.; SOARES, A. A.; PERALTA, R. M. Produção da enzima catalase por *Pleurotus ostreatus*, *Oudemansiella canarii* e *Phanerochaete chrysosporium* em cultivos em estado sólido. **VIII EPCC-** Encontro Internacional de Produção Científica, Maringá- PR, 2013. ISBN 978-85-8084-603-4.

MELIPONICULTURA EM FOCO. Mandaçaia. Disponível em: <<http://melipofoco.blogspot.com.br/p/mandacaia.html>> Acesso em 21 maio 2016.

MELO, G. A. R. & CAMPOS, L. A. O., 1987, Variação do padrão de faixas na população de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier, 1936, no Estado de Minas Gerais (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). In: **Anais do 14º Congresso Brasileiro de Zoologia**, Juiz de Fora, p. 76.

MOTHERSHAW, A. S.; JAFFER, T. Antimicrobial activity of foods with different physico-chemical characteristics. **International Journal of Food Properties**, v. 7, n. 3, p. 629-638, 2004.

MOURE, J.S. (1975). Notas sobre as espécies de *Melipona* descritas por Lepeletier em 1836 (Hymenoptera: Apidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 35(4):615-623.

MOURE, J. S. & KERR, W. E. **Sugestões para a modificação da sistemática do gênero *Melipona* (Hymenoptera, Apoidea).** *Dusenía*, 12: 105-129, 1950.

NETO, E. M.; PACHECO, J. M. **Utilização medicinal de insetos no povoado de Pedra Branca, Santa Terezinha, Bahia, Brasil –UFSCAR, 2004.**

NISHIO, E. K.; CARDOZO, V. F.; KOBAYASHI, R. K. T.; PRONI, E. A.; FACCIONE, M. Avaliação da atividade antibacteriana do mel da abelha *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera: Apidae, Meliponini). **XXI ALAM**, Congresso Latinoamericano de Microbiologia, Santos- Brasil, 2012.

NOGUEIRA COUTO, R.H.; COUTO, L.A. **Apicultura: manejo e produtos.** 3 ed., Jaboticabal: FUNEP, 2006.

NOGUEIRA, J. M. R; MIGUEL, L. F. S. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 4. cap 3.** Rio de Janeiro, EPSJV, IOC, 2009. 496 p. ISBN: 978-85-98768-41-0.

OLIVEIRA, E.N. A.; SANTOS, D.C. Análise físico-química de méis de abelhas africanizada e nativa. **Rev Inst Adolfo Lutz.** São Paulo, 2011; 70(2):132-8, 2011.

OLIVEIRA, K. A. M.; RIBEIRO, L. S.; OLIVEIRA, G. V. Caracterização microbiológica, físico-química e microscópica de mel de abelhas canudo (*Scaptotrigona depilis*) e Jataí (*Tetragonisca angustula*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais.** v. 15, n. 3, p. 239-247, 2013.

PERALTA, E. D. **Atividade antimicrobiana e composição química de méis do Estado da Bahia.** Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Estadual de Feira de Santana, 2010.

PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R.; CAMARGO, R. C. R.; VILELA, S. L. O. Produção de mel. **Embrapa Meio-Norte.** Sistema de Produção, 3, JUL/2003. ISSN 1678-8818.

RAMALHO, M.; GIANNINI, T. C; MALAGODI-BRAGA, S.; IMPERATRIZFONSECA, V. L. I. **Pollen harvest by stingless bees foragers.** Grana v.33 p.239-244, 1994.

RAMALHO, M.; SILVA, M. D.; CARVALHO, C. A. L. **Dinâmica de uso de fontes de pólen por *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae): Uma análise comparativa com *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), no domínio tropical Atlântico.** Neotrop Entomol 36:37-45, 2007.

RIBEIRO, M. F. Criação de abelhas-sem-ferrão no poli Petrolina, PE- Juazeiro, BA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, **EMBRAPA Semiárido**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Petrolina-PE, 2014.

ROUBIK, D. W. **Experimental community studies**: Time-series tests competition between African and Neotropical bees. *Ecology*, Oxford, v.5, n.64, p.971-978, 1983.

ROUBIK, D. W. **Stingless bee nesting biology**. *Apidologie* 37: 124-143, 2006.

SALOMÉ, J. A. Manutenção de colméias frente às pressões ambientais. **Relatório Analítico**, Sistema de inteligência setorial. jun. 2009. 20p.

SANCHES, M. A. **A própolis de abelhas sem ferrão e suas propriedades terapêuticas**. *Pesquisa & Tecnologia*, vol. 9, n. 1, Jan-Jun 2012.

SATO, T.; MIYATA, G. **The nutraceutical benefit. Part III: Honey**. *Nutrition*, New York, n.16, p.468-469, 2000.

SCHWARZ, H. Stingless bees (Meliponidae) of the Western Hemisphere. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, New York, p. 167, 1948.

SILVA, R. A.; MAIA, G. A.; SOUZA, P. H. M.; COSTA, J. M. C. **Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha**. *Alim. Nutr.*, Araraquara v.17, n.1, p.113-120, jan./mar. 2006.

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; FILHO, J. L. L. **Salmonella spp.**, importante agente patogênico veiculado em alimentos. *Ciência & Saúde Coletiva*, 13(5): 1675-1683, 2008.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 33(3):281-301, mai-jun, 2000.

TEMARU, E.; SHIMURA, S.; AMANO, K.; KARASAWA, T. Antibacterial activity of honey from stingless honeybees (Hymenoptera: Apidae; Meliponinae). **Polish Journal of Microbiology**, v. 56, p. 281-285, 2007.

VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico: Mel de Abelhas sem Ferrão**. Brasília – DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN). Brasil, 2012.

VIEIRA, D. A. P.; FERNANDES, N. C. A. Q. **Microbiologia Geral**. e-Tec Brasil. Inhumas: IFG; Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012.

WITER, S.; LOPES, L. A.; LISBOA, B. B.; BLOCHTEIN, B.; MONDIN, C. A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. Abelhas sem ferrão no Rio Grande do Sul: distribuição geográfica, árvores importantes para nidificação e sustentabilidade regional. APACAME - **Mensagem Doce** 100, 2010. Disponível em: <http://myrtus.uspnet.usp.br/bioabelha/images/pdfs/projeto33/divulgacao/2009_freitas_et_all.pdf> Acesso em 20 maio 2016.

WESTON, R. J. The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. **Food Chemistry**. 2000;71: 235–239.