



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS ANIMAIS
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

DÉBORA ALVES DE CARVALHO FREIRE

**ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DA CERA DE DIFERENTES
ESPÉCIES DE ABELHAS SEM FERRÃO**

MOSSORÓ-RN

2014

DÉBORA ALVES DE CARVALHO FREIRE

**ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DA CERA DE DIFERENTES
ESPÉCIES DE ABELHAS SEM FERRÃO**

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA, Departamento de Ciências Animais para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva – UFERSA.

MOSSORÓ-RN

2014

O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade de seus autores

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência

F866a Freire, Débora Alves de Carvalho.

Análise do potencial antimicrobiano da cera de diferentes espécies de abelhas sem ferrão. / Débora Alves de Carvalho Freire -- Mossoró, 2014.

39f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva.

Monografia (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Graduação.

1. Cera de abelha. 3. Meliponicultura. 4. Bioprodutos. I. Título.

RN/UFERSA/BCOT /293-14

CDD: 668

Bibliotecária: Vanessa Christiane Alves de Souza Borba
CRB-15/452

DÉBORA ALVES DE CARVALHO FREIRE

**ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DA CERA DE DIFERENTES
ESPÉCIES DE ABELHAS SEM FERRÃO**

Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA,
Departamento de Ciências Animais para a
obtenção do título de Bacharel em
Biotecnologia.

APROVADA EM: 07 / 03 / 14

BANCA EXAMINADORA

— ~~Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva - UFERSA~~
Presidente

— Msc. Maria Rociene Abrantes – Médica Veterinária
Primeiro Membro

— Msc. Francisco Alexandre de Araújo Almeida
Segundo Membro

A Deus, meu Pai e Melhor Amigo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS por ter estado me guiando e ter me dado forças quando mais precisei. A Ele, toda honra e glória para sempre. Amém!

À minha família, presente de Deus, obrigada por estarem ao meu lado. Em muitas etapas deste caminho vocês foram o incentivo para prosseguir.

Ao meu orientador Profº Dr. Jean Berg Alves da Silva, por ter me apoiado sempre e acreditado no meu potencial. Aprendi muito durante esses 3 anos. Obrigada por ser um exemplo, pelo incentivo nos estudos e a oportunidade de aprender mais no mestrado. Quem me conhece sabe do orgulho que tenho de ser sua orientada. As palavras nunca expressarão por completo minha gratidão!

À minha avó-mãe Maria das Dores Alves Furtado, por ter me ensinado o ABC, por me estimular sempre a estudar e por ser uma referência de garra e persistência. Obrigada pelo apoio em todos os sentidos na vida. Essa conquista é nossa.

À minha mãe, Kylsse Alves da Silva, e ao meu pai, Raimundo Miguel da Silva Junior, obrigada pelo apoio, pelos ensinamentos e conselhos, pelas vezes que me escutaram chorando, e por terem acreditado sempre que eu chegaria até aqui, mesmo quando nem eu acreditava.

À Maria Rociene Abrantes, minha co-orientadora, pela paciência, pelos ensinamentos no laboratório e na vida acadêmica, por ter estado sempre presente e pelos momentos de descontração. Você é sem dúvida, admirável e insubstituível!

Aos meus tios, Krygger e Suênia, o meu carinho e respeito. Obrigada por terem me apoiado e pelos conselhos.

À minha irmã Milena Alves da Silva e ao meu primo Levi Krygger Alves de Carvalho. Vocês só precisam existir para me fazerem feliz. Obrigada pelos sorrisos mais sinceros!

Ao meu pai, Carlos Antônio Rodrigues de Carvalho Freire, a Genilma, e aos meus irmãos, Carla Luiza e Carlos Antônio. A distância nunca diminuiu a importância de vocês em minha vida.

À Êlika Suzianny por ter contribuído passo-a-passo nesse trabalho, por ser paciente, pelo carinho, e por trazer ao mundo Lilian Emanuela para abrilhantar esse momento.

À Carla Campêlo, pelo companheirismo, amizade e cumplicidade durante todo o curso de Biotecnologia. Por ter sonhado junto comigo e ajudado a construir esse momento.

Aos Professores Dr. Dejair Message, Dr. Airton Torres Carvalho e Dr. Jael Soares Batista. Que contribuíram de alguma forma e somaram com esse trabalho.

A todos do LIPOA, em especial a Carol, por sempre ter estado disposta a ajudar, ensinar e aconselhar. E a Alexandre, pelas dicas para o mestrado e por ter aceito prontamente fazer parte dessa banca.

À Joselena, por ter me auxiliado em vários momentos nessa produção, obrigada por tudo!

A Carlos Silveira, pela grande contribuição na estatística. Obrigada pela ajuda e paciência.

A Uziel Nogueira, Joana Nogueira, Janine Nogueira e Fabrícia dos Santos pelos 2 anos que fui acolhida em Mossoró. Serei eternamente grata!

Aos amigos, espalhados por diversos lugares, aprendi muito com cada um. Obrigada por me escutarem e por me fazerem sentir tão especial.

Aos meus colegas e amigos de turma: Caio, Carla, Darlene, Emanuela, Hebert, Joelma, Lorena, Luã, Luan, Mirna e Waleska. Vocês contribuíram para minha formação como pessoa e profissional. E tornaram-se inesquecíveis!

À Juliana e Lorena, obrigada por serem minha 2ª família em Mossoró. Com vocês a vida tem mais graça.

A todos os professores e profissionais da Ufersa que contribuíram diretamente ou indiretamente para minha formação! MUITÍSSIMO Obrigada!

“Deus nunca disse que a jornada seria fácil,
mas Ele disse que a chegada valeria a pena.”

Max Lucado

RESUMO

A meliponicultura consiste no manejo de abelhas sem ferrão. Os produtos obtidos desta prática são popularmente utilizados devido suas propriedades medicinais. Destes produtos a cera se destaca por possuir grande valor para a estrutura da colmeia. Desta forma, este trabalho teve por objetivo analisar a atividade antimicrobiana da cera de cinco diferentes espécies de abelhas sem ferrão frente as cepas de *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus*. Os extratos foram produzidos a partir da cera coletada das abelhas *Melipona asilvae*, *Melipona quadrifaciata*, *Melipona subnitida*, *Plebeia* sp. e *Scaptotrigona* sp. Para a análise da atividade antimicrobiana das ceras foi utilizada a técnica de difusão em discos. Os extratos hidroalcoolicos foram utilizados na forma pura (100%) e diluídos em água destilada estéril em 75% e 50%. Posteriormente, semeou-se em triplicatas, pelo método Kirby-Bauer, as cepas *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, em placas de Petri. Para o controle positivo realizou-se o teste de sensibilidade das bactérias a diferentes antibióticos. E como controle negativo utilizou-se a água destilada estéril. No teste de antibiograma dos antibióticos, a ciprofloxacina inibiu o crescimento das bactérias: *E. aerogenes*, *E. coli*. e *S. aureus*, com maior avidez. E o antibiótico amoxicilina foi mais eficaz sobre a *Salmonella* spp. Em relação ao teste com os extratos, os resultados encontrados demonstraram que os extratos de cera das espécies Canudo (*Scaptotrigona* sp.), Jandaíra (*Melipona subnitida*) e Jatí (*Plebeia* sp.) apresentaram atividade contra os micro-organismos testados, principalmente no combate a *S. aureus* e *E.coli*.

Palavras-chave: cera; antibiograma; sensibilidade; resistência; Meliponicultura.

ABSTRACT

The meliponiculture is the management of stingless bees. Products derived from such practice are commonly used because of their medicinal properties. Stingless bee wax stands out for having great value for the structure of the hive. Thus, this study aimed to analyze the antimicrobial activity of the wax from five different species of stingless bees against strains of *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus*. Extracts were made from *Melipona asilvae*, *Melipona quadrfaciata*, *Melipona subnitida*, *Plebeia* sp. and *Scaptotrigona* sp. bee's wax. To analyze the waxes antimicrobial activity the disc diffusion technique was used. The hydroalcoholic extracts were used in pure form (100 %) and diluted in sterile distilled water at 75% and 50%. Later, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* strains were cultivated in triplicate by Kirby-Bauer method in Petri dishes. For the positive control, the sensitivity test of these bacteria to different antibiotics was performed; and as negative control, sterile distilled water was used. In the antibiogram test, ciprofloxacin inhibited, more successfully the growth of *E. aerogenes*, *E. coli*. and *S. aureus*. In *Salmonella* spp., amoxicillin was more efficient. As to testing with the extracts, the results showed that the wax extracts of species Canudo (*Scaptotrigona* sp.), Jandaíra (*Melipona subnitida*) and Jati (*Plebeia* sp.) showed activity against the micro-organisms tested, particularly in combating *S. aureus* and *E. coli*.

Keywords: wax; antibiogram; sensitivity; resistance; Meliponiculture.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Cera nas colmeias das abelhas sem ferrão.....	25
--	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Comparação entre as medidas dos halos do extrato de Jati entre 12h e 24h.....	30
Gráfico 2 – Comparação entre as medidas dos halos do extrato de Jandaíra entre 12h e 24h.....	31
Gráfico 3 – Comparação entre as medidas dos halos do extrato de Canudo entre 12h e 24h.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média dos halos de inibição (mm) pelo antibiograma frente as cepas de <i>E. aerogenes</i> , <i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>S. aureus</i>	29
Tabela 2 – Média dos halos (mm) resultantes do extrato de cera de Jati.....	30
Tabela 3 – Média dos halos (mm) resultantes do extrato de cera de Jandaíra.....	31
Tabela 4 – Média dos halos (mm) resultantes do extrato de cera de Canudo.....	32
Tabela 5 – Média dos halos (mm) resultantes do extrato de cera de Mandaçaia e Rajada.....	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1 A MELIPONICULTURA	15
2.1.1 As abelhas sem ferrão	15
2.2 PRODUTOS DA COLMEIA	16
2.2.1. Cera de abelhas.....	17
2.2.1.1 A produção da cera pelas abelhas.....	18
2.2.1.2 Características físico-químicas da cera de abelhas.....	19
2.2.1.3 Características antimicrobianas dos produtos das abelhas	20
2.3. DESENVOLVIMENTO DE BIOPRODUTOS	21
3 OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GERAL.....	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 COLETA DAS AMOSTRAS.....	23
4.2 PRODUÇÃO DOS EXTRATOS	24
4.3. REATIVAÇÃO DAS CEPAS.....	24
4.4. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS ANTIBIÓTICOS IN VITRO	24
4.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS	25
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
5 RESULTADOS E DISCUSSAO	26
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	34
REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

A criação de abelhas pode ser classificada de acordo com a presença de ferrão. Existem duas práticas de criação de abelhas: a apicultura e a meliponicultura. Na apicultura tem-se a utilização racional de abelhas com ferrão, principalmente da espécie *Apis mellifera*, cuja prática já é bem conhecida e explorada pela sociedade assim como os produtos resultantes da mesma (FUJII et al., 2009). Já a meliponicultura consiste no manejo de abelhas indígenas sem ferrão (NOGUEIRA-NETO, 1997).

Os meliponíneos são produtores de mel, sendo seu uso praticado desde períodos pré-colombianos na América. Desde então são atribuídas propriedades medicinais ao mel, pólen, geoprópolis e cera produzidos por estes insetos. Esses produtos desde cedo eram usados pelos índios no combate às doenças pulmonares, infecção ocular, falta de apetite e como agentes antimicrobianos (SOUZA et al., 2004).

Dentre os produtos provindos de abelhas, a cera tem sido pouco relatada em estudos quando comparada ao mel. Ela é um produto que se caracteriza pela consistência plástica, cor amarelada, muito fusível e secretada pelas abelhas operárias para construção dos favos nas colmeias. Nessas estruturas as abelhas armazenam seus alimentos: mel, pólen e água. Embora a maior parte da cera tenha como destino a produção de placa de ceras alveoladas, ela pode ser utilizada na fabricação de velas, em indústrias de cosméticos e produtos terapêuticos (COSTA; OLIVEIRA et al., 2005).

A cera tem se mostrado um produto de abelha menos alergênico. Além disso, ela tem demonstrado propriedades antibacterianas, sendo utilizada no revestimento de fármacos. Também é observado que a cera quente tem obtido ótimos resultados quando aplicada contra inflamações dos músculos, nervos e articulações (BOGDANOV, 2009).

Nos últimos anos tem se realizado uma busca com maior avidez, baseada na biodiversidade de plantas e animais, por recursos genéticos e bioquímicos que possam ser modificados ou que apresentem moléculas bioativas com potencial farmacêutico. Ainda que a maioria das pesquisas sejam relacionadas à atividade de produtos vegetais, produtos de origem animal têm conquistado espaço, tais como, os produtos originados de abelhas (BASTOS et al., 2011).

Existe atualmente uma variedade de antimicrobianos destinados ao tratamento de infecções causadas por micro-organismos. Contudo, o uso indiscriminado e prolongado destes tem ocasionado uma seleção de micro-organismos resistentes, fazendo com que a utilização

de bioprodutos seja uma alternativa para combate de infecções e desenvolvimento de novos fármacos (BASTOS et al., 2011).

Afim de ampliar o conhecimento sobre os produtos de meliponíneos no nordeste e contribuir para o desenvolvimento de novos bioprodutos de importância terapêutica, este estudo teve como objetivo análise da atividade antimicrobiana de extrato de cera de diferentes espécies de abelhas sem ferrão.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 A MELIPONICULTURA

A meliponicultura é definida como a criação racional de abelhas indígenas sem ferrão. A produção melífera é uma das finalidades desta atividade, embora essas abelhas produzam menores quantidades de mel, quando comparadas com as do gênero *Apis*. Ambas as atividades são importantes para a economia, nutrição dos seres humanos e o ambiente (FUJII et al., 2009).

Observa-se na América Latina aproximadamente 300 espécies de abelhas sem ferrão, das quais a maioria são produtoras de méis utilizados pela população nas regiões produtoras. Os Mayas e Nahoas no México permitiram um maior conhecimento sobre as abelhas sem ferrão, nessa região ainda é mantida a tradição dos antepassados de misturar o mel da espécie *Melipona beecheii* com bebidas no intuito de oferenda aos deuses durante cerimônias religiosas e também o uso das misturas como remédio (CARVALHO et al., 2005).

As abelhas sem ferrão podem ser chamadas de meliponíneos, são abelhas sociais e nativas no Brasil, onde encontramos muitas espécies. Seu mel no Brasil, no século XIX, era utilizado como alimento por índios e brancos, e a cera na produção de velas pelos jesuítas. Esse tipo de mel se diferencia do produzido pelas *A. mellifera*, principalmente devido a doçura e sabor diferenciado, agregando valor ao produto (CARVALHO et al., 2005).

Algumas das espécies de meliponíneos são bem conhecidas e criadas regionalmente. No Norte e Nordeste do Brasil, o mel destas é muito apreciado tendo importância econômica para as populações rurais. O mel foi o primeiro produto a ser utilizado pelo homem, devido ao valor alimentar e medicinal. Contudo, as abelhas também estão envolvidas na produção de cera, pólen, resina e própolis produtos estes com valor comercial (IMPERATRIZ-FONSECA, 2004).

2.1.1 As abelhas sem ferrão

Existem cinco gêneros diferentes, *Melipona*, *Trigona*, *Meliponula*, *Dactylurina* e *Lestrimelitta* nos quais estão inseridos as abelhas sem ferrão, insetos eussociais. Esses desempenham um papel importante na polinização (HEARD, 1999).

A criação racional das abelhas indígenas se desenvolve de maneira expressante no nordeste brasileiro, onde encontram-se principalmente as abelhas do gênero *Melipona*. Contudo, o manejo de abelhas de outros gêneros de meliponíneos não é descartada, e também são realizadas de maneira racional. A jandaíra, uruçú e tiúba se destacam no nordeste por serem manipuladas por técnicas consagradas popularmente (CORTOPASSI-LAURINO; IMPERATRIZ-FONSECA, 2001; WEBBEE, 2013).

O mel produzido pela *Melipona scutellaris* (Uruçu) e *Melipona subnitida* (Jandaíra), possuem propriedades medicinais, e a cera é utilizada de muitas maneiras pelas técnicas rurais e têm sido transmitidas de pai para filho. Observa-se a presença de Jandaíra na caatinga, nas regiões do interior do Nordeste, enquanto a Uruçu é típica da região litorânea, mais úmida originalmente coberta por Mata Atlântica e hoje com grande concentração nas áreas urbanas (CORTOPASSI-LAURINO; IMPERATRIZ-FONSECA, 2001).

A maioria das abelhas sem ferrão depende das árvores para fazer ninhos, enquanto uma minoria constrói ninhos no chão ou fazem ninhos expostos (NOGUEIRA-NETO, 1997). Os méis dessas espécies sem ferrão possuem maior teor de umidade, são mais ácidos e com maior atividade antibacteriana que *Apis*, justificando o uso comum desses na medicina popular das regiões onde se encontram (CORTOPASSI-LAURINO; GELLI, 1991).

Em relação aos nomes populares das abelhas sem ferrão existem muitos conflitos entre as regiões. Devido, principalmente, a variação linguística entre os locais um mesmo nome pode representar mais de uma espécie de abelha, e a descoberta e descrição de novas espécies (NOGUEIRA-NETO, 1997).

2.2 PRODUTOS DA COLMEIA

Entre os vários produtos da colmeia podemos citar o mel, a própolis, o pólen, a cera, apitoxina e a geléia real. O mel se destaca entre os produtos como produto de alto valor comercial. Ele é definido como o produto de caráter alimentar produzido pelas abelhas a partir do néctar das flores ou de secreções provindas das plantas (BRASIL, 2001). As abelhas recolhem estes, transformam, combinam com substâncias específicas e armazenam nas colmeias até a maturação nos favos. O mel tem sido usado além de alimento com valor nutricional, na formulação de cosméticos e produtos higiênicos. E tem sido testado com resultados estimuladores, como anti-séptico e na cicatrização de feridas (ALMEIDA; CARVALHO, 2009).

Já a propólis consiste em um material resinoso, sendo usada para defesa da colmeia, na vedação de frestas, tornando superfícies regulares e contra invasores (KOSONOKA, 1990). Possui em sua constituição substâncias como resinas e bálsamos, ceras, óleos voláteis, pólen e impurezas mecânicas (THOMSON, 1990; BANSKOTA et al., 2001). E tem sido relatada em trabalhos científicos relacionadas com atividades tais como: bacteriostáticas, antifúngicas, analgésicas, cicatrizantes, anti-inflamatórias e antioxidantes (PEREIRA et al., 2002; LUSTOSA et al., 2008).

O pólen é uma parte das flores responsável pela fecundação (MORETI, 2006). Ele é composto de proteínas, lipídios, açúcares, fibras, sais minerais, aminoácidos e vitaminas. E tem sido empregado como alimento e como complexo alimentar. Uma dieta rica em pólen pode combater tanto o stress como problemas de ordem física e mental (ALMEIDA; CARVALHO, 2009).

A geléia real é uma substância produzida pelas glândulas hipofaríngeas e mandibulares das operárias a partir do pólen (SILVA et al., 2010). É utilizada nas indústrias cosmética e farmacêutica, na composição de diversos produtos. É bastante eficaz no tratamento de artrite reumatóide e tem demonstrado prevenção do câncer associada com pólen e própolis (MARCUCCI; CÂNDIDA, 2002).

A apitoxina é o veneno das abelhas operárias de *Apis mellifera* purificado. Encontrada apenas em ferrões, possuem substâncias que estão associadas à atividade farmacológica e fisiológica (LEGLER, 2001 apud SILVA et al., 2010).

A cera de abelha assim como os outros produtos é de grande importância não só pra colmeia, mas possui substâncias em sua composição que são potenciais para indústria de cosméticos e medicamentos. Além de possuir importância econômica na produção de velas (SILVA et al., 2010).

2.2.1. Cera de abelhas

De acordo com a Instrução Normativa nº.3 dos Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de apitoxina, cera de abelha, geléia real, geléia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis, a cera de abelha é definida como um produto de consistência plástica, de cor amarela, muito fusível, a qual é segregada pelas abelhas para formação dos favos nas colmeias (BRASIL, 2001).

A cera de abelhas pode ser classificada de acordo com a Instrução Normativa n.3 do mesmo regulamento, em: cera bruta, que é aquela que não sofreu nenhum processo de purificação, apresenta coloração desde amarela até parda, é untuosa ao tato, mole e plástica ao calor das mãos, fratura granulosa, cheiro especial lembrando o do mel, sabor levemente balsâmico e ainda com traços de mel; e em cera branca quando tiver sido descolorida pela ação da luz, do ar ou por processos químicos, isenta de restos de mel, apresentando-se de cor branca, ou creme, frágil, pouco untuosa e de odor acentuado (BRASIL, 2001).

A cera de abelhas tem um espectro muito amplo de aplicações e ocupa uma posição especial entre as ceras de origem vegetal e animal (KRELL, 1996). No Brasil, uma das primeiras atividades fazendo uso das abelhas do gênero *Apis*, foi a exploração de cera. Durante a fase primitiva da apicultura no país, as primeiras colônias foram transportadas a região para uso, sobretudo pelos religiosos que careciam de cera para fabricação de velas e também como “hobby” (GONÇALVES, 2004).

Em temperatura ambiente, a cera apresenta coloração variável, de branca a amarelada e se mantém em estado sólido. Entretanto, quando recém-secretada pelas abelhas através das glândulas cerígenas ou gordurosas, apresenta-se incolor e no estado líquido, e após contato com o ar passa a ser sólida devido elevado ponto de fusão (63/64°C). Após secreção, a cera assume o formato de elipsoide no modelo de flocos ou de escamas translúcidas (COSTA; OLIVEIRA, 2005).

A cera é constituída de diversas substâncias, as quais são obtidas do mel consumidos pela abelha. Essas substâncias permitem que a cera tenha uma estrutura complexa, dificultando os processos de alteração e deterioração. Desse modo, a cera pode ser reciclada sem perda de qualidade, poupando as abelhas de secretar cera e moldar novos favos. A colmeia é formada por estruturas contendo cera, na forma de favos. Sendo assim, a cera é um elemento imprescindível para o enxame e a formação da colmeia (COSTA; OLIVEIRA 2005).

2.2.1.1 A produção da cera pelas abelhas

A cera de abelha é produzida nas colmeias pelas abelhas cerígenas. Essas deglutem o mel que ao ser digerido é transformado em gordura, durante o período de um dia, fornecem cera como produto final (MAGALHÃES, 2001). As glândulas cerígenas, localizadas na parte ventral do abdômen são responsáveis por expelir a cera em forma líquida, a qual se solidifica depois do contato com o ar (PEREIRA, 2008).

Existem alguns fatores importantes para a produção de cera nas colmeias, tais quais: estágio de florada, número de abelhas jovens (12-18 dias) e distribuição de espaço livre. No entanto, as abelhas só produzem a cera quando é preciso ampliar a área de postura de ovos pela abelha rainha, ou aumentar o espaço para depositar mel e pólen (ZOVARO, 2007).

A maior parte da produção da cera de abelhas abrange diversas aplicações e se destaca em posição de destaque dentre as ceras de origem vegetal e animal. Da produção de cera é observado o uso para fabricação de velas, modelagem, polidores, cosméticos, embalagens e processamento de alimentos, revestimento de medicamentos e produção de antibióticos (KACÁNIOVÁ et al., 2012).

O sistema de produção de cera de abelha é fácil, a cera não é um composto perecível, não necessita de cuidados rebuscados, além disso, um simples processamento para transformação em cera alveolada pode agregar valor a ela. Esses pontos tornam a produção de cera uma alternativa atraente aos produtores. De maneira que, a apicultura permite um mercado amplo e em expansão para a produção de cera (FREITAS, 2004). Nos continentes europeu e americano é perceptível a grande demanda por cera (LIRA, 2011).

A cera nos meliponíneos pode se apresentar nos meliponíneos misturada a secreções salivares das abelhas e própolis formando o cerume (SANCHES, 2012). Além disso, a resina coletada nas árvores pode estar misturada a cera. O cerume é considerado o principal material de construção usado por essas abelhas. Estas paredes de cerume formam estruturas como folhas que protegem a área da colmeia onde ficam a rainha e a cria. O alimento coletado pelas abelhas também pode ser guardado em potes de cerume (WEBBEE, 2014).

2.2.1.2 Características físico-químicas da cera de abelhas

Em sua composição química as ceras apresentam ésteres, ácidos céricos livres, hidrocarbonetos em sua maioria saturados e álcoois. Embora apresentem uma composição complexa, as ceras possuem as características físicas estáveis, de modo que, é de fácil detecção a ocorrência de fraudes (COSTA; OLIVEIRA, 2005).

A cera de *Apis mellifera* tem apresentado mais de trezentos tipos de componentes que podem ser agrupados em monoésteres (35%), hidrocarbonetos (14%), diésteres (14%), ácidos livres (12%), hidroxipoliésteres (8%), hidroximonoésteres (4%), triésteres (3%), ácidos poliésteres (2%), ácidos monoésteres (1%) e outros componentes não identificados (7%) (NOGUEIRA-COUTO; COUTO, 2006).

Além desses compostos majoritários, a cera possui em sua composição outros elementos em menores quantidades, dentre eles, estão proteínas introduzidas no processo de mastigação pelas abelhas, como as lipases, compostos fenólicos e terpenos derivados do própolis e pólen. Essas substâncias podem constituir em torno de 5 % do peso da cera, fato que irá depender da espécie da abelha, do tipo de flora que as abelhas se alimentam e da variação vegetal da região (BARROS et al., 2009)

Nas subespécies de abelhas, a composição da cera irá depender da idade da cera e das condições climáticas da produção. Podendo variar devido à quantidade relativa dos diferentes componentes mais do que a própria natureza destes (BARROS et al., 2009). Nas espécies de abelhas sem ferrão os dados sobre os componentes dos seus produtos ainda são escassos, necessitando mais estudos para conhecimento adequado da sua composição (VELIKOVA et al., 2000; PATRICIO et al., 2002).

O valor dos parâmetros físico-químicos em cera de abelha pura de *Apis* diferem entre países (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1993; REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA, 1997; UNITED STATES, 2000.) Demonstrando que os fatores ambientais e geográficos possuem um papel significativo na adaptação de abelha e, como consequência, na composição de cera de abelha (SERRA et al., 1989). Os dados relacionados a cera de meliponíneos ainda são escassos, assim como a legislação (COLETTTO-SILVA, 2005).

2.2.1.3 Características antimicrobianas dos produtos das abelhas

As propriedades antibacterianas do mel estão relacionadas com a quantidade de peróxido de hidrogênio produzido, regulado pelos níveis das enzimas glico-oxidase e catalase (WESTON, 2000). Existem fatores que não estão relacionados aos níveis de peróxido, contudo contribuem para sua atividade antimicrobiana e antioxidante, que são as lisozimas, ácidos fenólicos e flavonóides respectivamente (SNOWDON; CLIVER, 1996). Esses fatores dão ao mel as propriedades curativas, auxiliando na eliminação de infecções, cicatrização rápida de feridas, supressão de inflamação e estimulação da angiogênese (MOLAN, 2002)

Na composição das ceras entram substâncias com ação bacteriostática (ALZUGARAY; ALZUGARAY, 1986). A cera de *Apis mellifera* possui 248 componentes diferentes, nem todos ainda identificados (PEREIRA et al., 2002). A cera também tem sido usada para tratar feridas infectadas e no combate a doenças da pele (ALZUGARAY; ALZUGARAY, 1986).

Devido à existência de uma variabilidade imensa da flora brasileira, a composição dos produtos das abelhas é complexa, existindo diferença entre os compostos produzidos pelos meliponíneos das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) (SILVA et al., 2006).

O caráter antimicrobiano da cera de abelha tem sido documentado no uso de fármacos na Europa e Ásia por séculos (KACANIOVÁ et al., 2012). Bogdanov (2004) descreveu sobre o uso de cera de abelha na atualidade e suas propriedades antibacterianas, verificando atividade contra as cepas *Bacillus alvei*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella Gallinarum* e *Bacillus subtilis*. Kacaniová et al. (2012) encontrou atividade antimicrobiana em extratos etanólicos e metanólicos de pólen, própolis e cera. Esse estudo foi um dos primeiros a quantificar propriedade antimicrobiana de cera de abelha contra diversas espécies patogênicas de micro-organismos.

A cera de abelhas pode ser associada ainda a outros produtos no tratamento de queimaduras (ZANOSCHI et al., 1991). E tem sido usada há um longo tempo na composição de medicamentos por diversos países, na Europa, África, Oriente Médio, Índia e Europa (MASSOUD et al., 2001; MUNIRUZZANAN; CHOWDRUY, 2004).

2.3. DESENVOLVIMENTO DE BIOPRODUTOS

Devido ao uso irracional dos antimicrobianos tem se elevado à seleção de micro-organismos resistentes. Esse fato tem levado a uma maior busca por alternativas terapêuticas, sendo o uso de produtos naturais uma fonte viável e mais aceitável para pacientes (BASTOS et al., 2011). A resistência bacteriana aos antibióticos vem expandindo ao redor do mundo, acarretando problemas na saúde pública (ALANIS, 2005; OLIVEIRA et al., 2013; TESSI et al., 1997).

As pesquisas relacionadas à busca de moléculas bioativas na biodiversidade que possuam potencial terapêutico, exploram principalmente a atividade biológica de produtos vegetais. Produtos como os derivados de abelhas tem alcançado grande importância no uso terapêutico, mostrando-se uma fonte importante de estudos para o desenvolvimento de bioprodutos (BASTOS et al., 2011).

Em geral, as bactérias têm a capacidade genética de adquirir e de transmitir resistência às drogas utilizadas como agentes terapêuticos (COHEN, 1992). Nesse sentido, a busca por alternativas viáveis para o controle microbiano de patógenos tem direcionado muitas pesquisas em busca de bioprodutos eficazes, de baixo custo e ecologicamente corretos (ALBUQUERQUE, 2001).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos de cera de espécies de abelhas sem ferrão, frente a cepas microbianas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos de cera de abelhas sem ferrão, das espécies de Jandaira, Jatí, Mandaçaia, Rajada e Canudo frente as cepas *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus*.
- Comparar os resultados obtidos dos extratos hidroalcoólicos de cera de abelhas sem ferrão com os de antibióticos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COLETA DAS AMOSTRAS

Foram coletadas amostras de cera de cinco tipos de abelhas sem ferrão, conhecidas como Canudo (*Scaptotrigona* sp.), Jandaíra (*Melipona subnitida*), Jatí (*Plebeia* sp.), Mandaçaia (*Melipona quadrifaciata*) e Rajada (*Melipona asilvae*) na região do Rio Grande do Norte (Figura 1). Estas foram coletadas diretamente de meliponicultores. As ceras foram obtidas assepticamente, colocadas em sacos plásticos estéreis, e conduzidas até ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal – LIPOA, onde foram mantidas em congelador (-20°C) até a produção dos extratos.

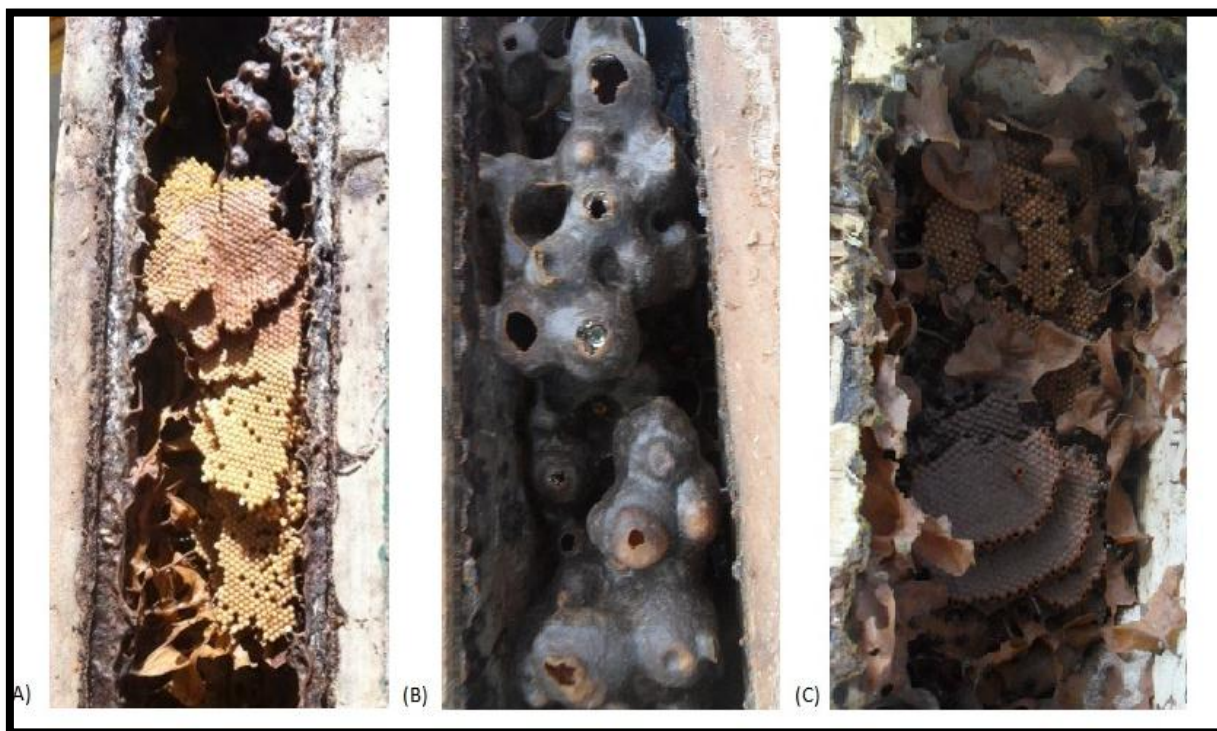


Figura 1: Cera nas colmeias das abelhas sem ferrão. (A) Cera de Jatí. Aspecto folheado e coloração marrom claro. (B) Cera da abelha Canudo coletada no CETAPIS (Centro Tecnológico de Apicultura e Meliponicultura do Rio Grande do Norte) Aspecto bem resistente e coloração preta. (C) Cera de Jandaíra coletada no CETAPIS. Aspecto folheado e coloração marrom.

Fonte: A- meliponário do sertao, 2014; B;C- Arquivo pessoal, 2014.

4.2 PRODUÇÃO DOS EXTRATOS

Antes de iniciar o processo de extração as amostras de cera foram trituradas, pesadas e colocadas em banho-maria a 45° C por 7 dias . O solvente extrator utilizado foi o etanol a 70°GL. O extrato hidroalcoólico foi obtido por adição do álcool a 70% na proporção de 3:7 (m/v) da cera triturada. Durante os sete dias os extratos foram vigorosamente agitados por alguns segundos, uma vez ao dia. Após esse período as amostras foram filtradas com papel filtro e os extratos obtidos foram mantidos sob abrigo da luz até o início das análises. As diluições dos extratos foram realizadas na proporção 75 µg/mL e 50 µg/mL em água destilada estéril para as espécies Canudo, Jandaíra e Jatí. Para a Mandaçaia e Rajada foi utilizada apenas o extrato puro devido a pequena quantidade de amostra.

4.3. REATIVAÇÃO DAS CEPAS

As cepas padrão que foram empregadas são : *Enterobacter aerogenes* (ATCC 1304), *Salmonella* spp., *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). Estas foram reativadas utilizando-se caldo Brain Heart Infusion –BHI. Após 24 – 48h, o desenvolvimento microbiano das cepas foi avaliado quanto a turvação do líquido. As amostras foram comparadas com o grau de turvação da solução padrão de McFarland, de acordo com CLSI (2011) equivalente a 0,5 da amostra padrão. E então semeadas em placas de Petri.

4.4. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS ANTIBIÓTICOS *IN VITRO*

Inicialmente foi realizada a técnica de difusão em discos com algumas drogas antimicrobianas. Foram utilizadas as cepas padrão reativadas e suspendidas anteriormente na inoculação de placas de petri, contendo meio Ágar Mueller-Hinton, com auxílio de *swabs*. O processo se realizou em triplicata pelo método de Kirby-Bauer, com posterior inserção dos discos de antibióticos, sendo os utilizados no experimento: Amicacina (30µg), Amoxicilina (20µg) , Ampicilina (10µg), Cefalexina (30µg), Ciprofloxacina (5µg), Eritromicina(15µg), Gentamicina (10µg), Neomicina (30 µg), Oxaciclina (1µg) e Penicilina G (10U). Então, as placas foram invertidas e incubadas a 35°C em estufa por um período de 24h. Passado as 24h,

com auxílio de paquímetro foram medidos os diâmetros dos halos de inibição. A leitura dos resultados seguiu a tabela de halos padronizada pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2011).

4.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS

O potencial antimicrobiano dos extratos de cera foi analisado utilizando-se a técnica de difusão em discos. As placas contendo Ágar Müller Hilton foram semeadas, com as cepas padrão de *Enterobacter aerogenes* (ATCC 1304), *Salmonella* spp., *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). O processo aconteceu em triplicata. Para a semeadura foram utilizados swabs, pelo método de Kirby-Bauer. Discos de papel filtro foram embebidos com os extratos de cera das diferentes espécies, nas concentrações de 100 µg/mL, 75 µg/mL e 50 µg/mL de extrato em relação a água destilada. O controle positivo utilizado foi o antibiótico mais efetivo para cada cepa e o controle negativo a água destilada. As placas foram invertidas e incubadas a 36°C durante 24h. Em seguida, foram medidos os halos de inibição com auxílio de paquímetro após 12h e 24h.

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise da diferença significativa entre os halos formados pelos extratos de cera sob as bactérias, nas concentrações avaliadas, foi utilizado o teste de Tukey a 5%. Os resultados foram avaliados significativos quando $p \leq 0,05$ (Software estatístico GraphPad Prism 6 for Windows versão 6.01, setembro 21, 2012).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do teste de sensibilidade aos antimicrobianos estão expressos na Tabela 1. Os dados foram medidos em milímetros, de acordo com os diâmetros dos halos de inibição dos antibióticos de uso farmacológico (6mm) (Figura 2) e comparados de acordo com a tabela de halos padronizada pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2011).

O teste de difusão em discos dos antibióticos evidenciou que *E. aerogenes*, *E. coli*. e *S. aureus* apresentaram maior halo de inibição a ciprofloxacina e a *Salmonella* spp. maior halo a Amoxicilina (Tabela 1). De maneira que, estes antibióticos foram utilizados como controle positivo nos testes dos extratos de cera.

A atividade de ciprofloxacina aos micro-organismos confirma o progresso da droga em tratamentos relatado por Appelbaum; Hunter (2000). Este antimicrobiano faz parte da classe das fluorquinolonas, dos antibióticos sintéticos, e vem se destacando no combate a diferentes tipos de bactérias pela inibição da DNA girase ou topoisomerase II (APPELBAUM; HUNTER, 2000).

Já a cefalexina e oxacilina não apresentaram atividade contra nenhum dos micro-organismos. Contudo, de acordo com a ANVISA (2014) a cefalexina uma cefalosporina de primeira geração é muito ativa contra cocos gram-positivos e tem atividade moderada contra *E.coli*.

Quanto a resistência de *S. aureus* a oxacilina, indica que esta cepa apresenta resistência a meticilina (CLSI, 2011). Nesse sentido, a quantidade de infecções decorrentes da ação de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (MRSA) tem aumentado continuamente em instituições hospitalares em nível mundial. De forma, que se torna necessária a descoberta de novos fármacos potenciais (COHEN et al., 2008; DE LENCASTRE et al., 2007, RATTI; SOUSA, 2009).

Também pode-se inferir pela análise do antibiograma, que a *E. aerogenes* não foi classificada como sensível a nenhum dos antibióticos testados. Apenas a ampicilina e a ciprofloxacina tiveram ação intermediária sobre a cepa. De acordo com Monteiro (2011), a identificação de genes de resistência encontrados em plasmídeos nas Enterobacteriaceae tem aumentado a nível mundial.

Tabela 1: Média dos halos de inibição (mm) pelo antibiograma frente as cepas de *E. aerogenes*, *E.coli*, *Salmonella spp.*, *S.aureus*.

Halos de inibição (mm) pelo antibiograma				
	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella spp.</i>	<i>S. aureus</i>
Amicacina	13,0 ^R	20,0 ^S	10,0 ^R	13,0 ^R
Ampicilina	14,0 ^I	* ^A	22,0 ^S	* ^R
Amoxicilina	18,0 ^A	15,0 ^A	27,0 ^A	* ^A
Cefalexina	* ^A	* ^A	* ^A	* ^A
Ciprofloxacin	20,0 ^I	22,0 ^S	24,0 ^S	28,0 ^S
Eritromicina	* ^A	15,0 ^A	15,0 ^A	* ^A
Gentamicina	12,0 ^R	19,0 ^I	16,0 ^S	14,0 ^I
Neomicina	19,0 ^A	15,0 ^A	18,0 ^A	16,0 ^A
Oxacilina	* ^A	* ^A	* ^A	* ^R
Penicilina	* ^A	* ^A	23,0 ^A	* ^R

*Não houve formação de halo significativo.

^R = resistente, ^I = intermediário, ^S = sensível, ^A = Ausente na tabela .

Padrões Interpretativos de Diâmetros do Halo de inibição baseados na tabela CLSI (2011)

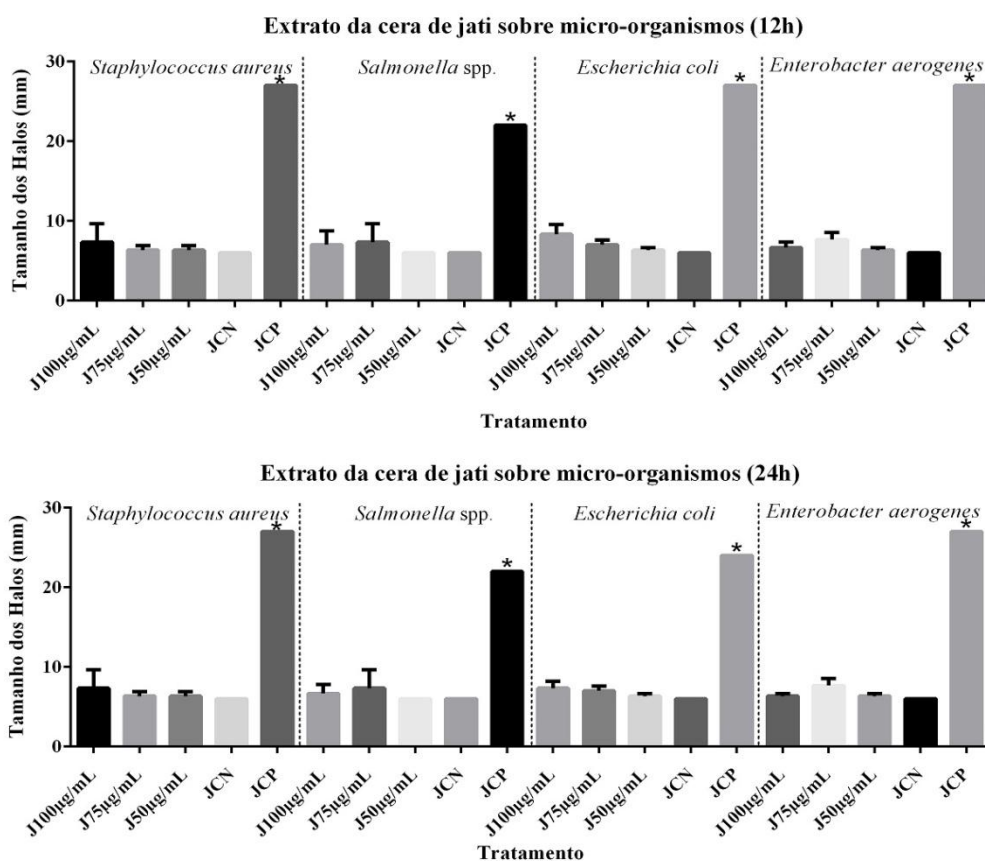
Quanto aos resultados obtidos nos testes dos extratos de cera de abelhas sem ferrão também foram dados em milímetros. Foi observada ação bacteriostática pelos extratos de cera de canudo, jandaíra e jati para os micro-organismos testados tanto na leitura de 12h quanto na de 24h. A comparação direta dos resultados obtidos dos extratos de ceras com os resultados alcançados por outros autores, não pode ser realizada devido às diferenças entre as metodologias utilizadas, dos produtos de colmeia utilizados e dos micro-organismos, mas quanto as tendências no desempenho biológico de cada grupo podem ser relacionados.

Na leitura de 12h e no fim das 24h houve formação de halos em todas as concentrações do extrato de Jati (Gráfico 1). Exceto na concentração de 50µg/mL sobre a *Salmonella spp.* em ambas as leituras (Tabela 2).

Mercês et al. (2013), testando o mel de cinco espécies de abelhas sem ferrão, inclusive a Jati (*Plebeia sp.*) contra bactérias e fungos, encontraram atividade antimicrobiana de todos os méis, com um halo em torno de 17,5 a 32,7mm pela técnica de poços apenas para *S.aureus* e não para *E. coli*. Contudo, observou efeito bacteriostático sobre a *E. coli* no teste de

microdiluição. As bactérias *Salmonella* spp. e *E. aerogenes* não foram observadas nesse estudo.

Gráfico 1: Comparação entre as medidas dos halos do extrato de Jati entre 12h e 24h.



* Difere significativamente dos outros tratamentos ($p \leq 0,05$)

Tabela 2: Média dos halos (mm) resultantes do extrato de cera de Jati

Extrato de cera de Jati										
	12h					24h				
	100 µg/mL	75 µg/mL	50 µg/mL	CN	CP	100 µg/mL	75 µg/mL	50 µg/mL	CN	CP
<i>E. aerogenes</i>	6,7	7,7	6,3	*	27,0	6,3	7,7	6,3	*	27,0
<i>E.coli</i>	8,3	7,0	6,3	*	27,0	7,3	7,0	6,3	*	24,0
<i>Salmonella</i> spp.	7,0	7,3	*	*	22,0	6,7	7,3	*	*	22,0
<i>S. aureus</i>	7,3	6,3	6,3	*	27,0	7,3	6,3	6,3	*	27,0

* Não houve formação de halo significativo

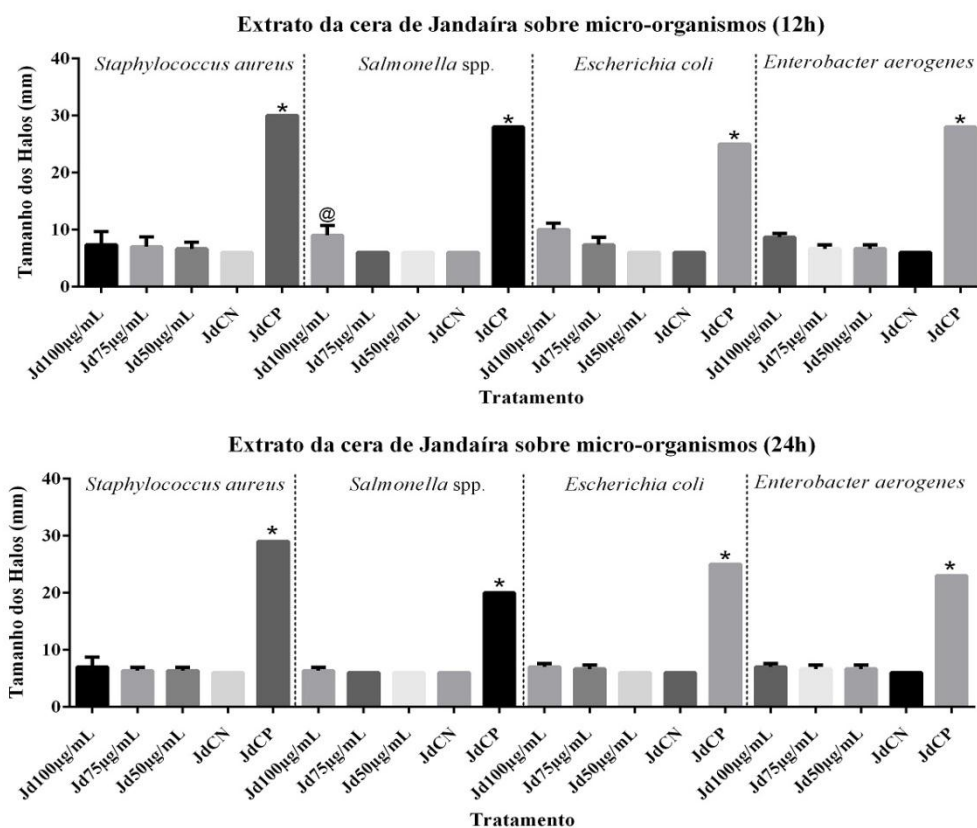
O extrato de cera de jandaíra apresentou halo de inibição contra as cepas testadas nos dois momentos de leitura. Todavia, no período de 24h foi observada diminuição na dimensão dos halos (Tabela 3 e Gráfico 2).

Tabela 3: Média dos halos (mm) resultantes do extrato de cera de Jandaíra

Extrato de cera de Jandaíra										
	12h					24h				
	100 µg/mL	75 µg/mL	50 µg/mL	CN	CP	100 µg/mL	75 µg/mL	50 µg/mL	CN	CP
<i>E. aerogenes</i>	8,7	6,7	6,7	*	27,0	7,0	6,7	6,7	*	23,0
<i>E.coli</i>	10,0	7,3	*	*	25,0	7,0	6,7	*	*	25,0
<i>Salmonella spp.</i>	9,0	*	*	*	28,0	6,3	*	*	*	20,0
<i>S. aureus</i>	7,3	7,0	6,7	*	30,0	7,0	6,3	6,3	*	29,0

* Não houve formação de halo significativo

Gráfico 2: Comparação entre as medidas dos halos do extrato de Jandaíra entre 12h e 24h.



* Difere significativamente dos demais tratamentos. @ Difere significativamente dos outros tratamentos com extrato.

Os resultados encontrados para *E.coli* e *S. aureus* estão de acordo com os de Alves et al. (2008), que determinaram o mel de jandaira eficiente no tratamento de feridas infectadas em ratos. Estes perceberam que os micro-organismos gram-negativos como a *Escherichia coli* foram inibidos com maior frequência do que gram-positivos como *Staphylococcus* sp.

Em relação ao extrato de cera de Canudo, observou-se que foi eficaz no combate de todas as bactérias nas 12h iniciais. (Tabela 4). Mas, os maiores halos formados foram em relação a *E.coli* na concentração de 100 µg/mL, tanto em 12 h como em 24h (Gráfico 3).

Farnesi et al. (2009) encontrou dados semelhantes para o extrato etanólico de própolis *Scaptotrigona* sp., o qual inibiu o crescimento de *E.coli* e *S. aureus*. A metodologia utilizada também foi por difusão em discos. Dentre as amostras de própolis testadas no estudo, a de *Scaptotrigona* sp. juntamente com própolis verde apresentaram maior atividade para *E. coli*.

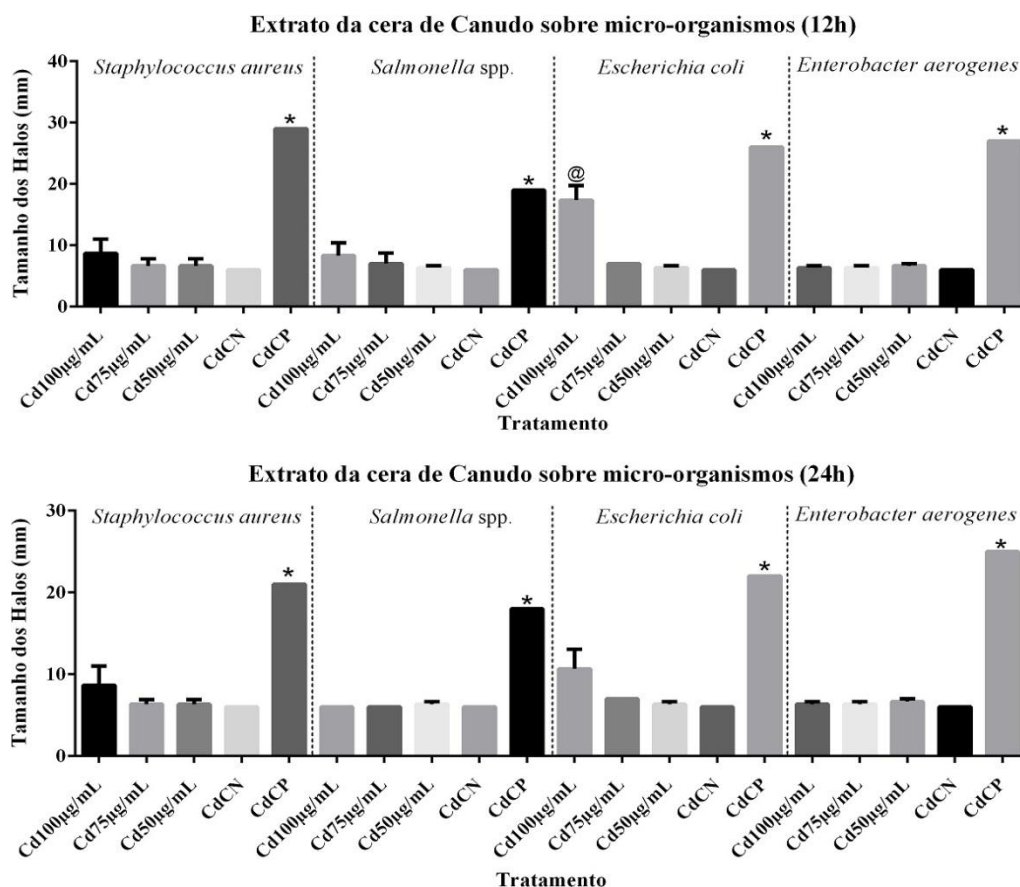
Tabela 4: Média dos halos (mm) resultantes do extrato de cera de Canudo

Extrato de cera de Canudo										
	12h					24h				
	100 µg/mL	75 µg/mL	50 µg/mL	CN	CP	100 µg/mL	75 µg/mL	50 µg/mL	CN	CP
<i>E. aerogenes</i>	6,3	6,3	6,7	*	27,0	6,3	6,3	6,7	*	25,0
<i>E.coli</i>	17,3	7,0	6,3	*	26,0	10,7	7,0	6,3	*	22,0
<i>Salmonella spp.</i>	8,3	7,0	6,3	*	19,0	*	*	6,3	*	18,0
<i>S. aureus</i>	8,7	6,7	6,7	*	29,0	8,7	6,3	6,3	*	21,0

* Não houve formação de halo significativo

As ceras das espécies Mandaçaia e Rajada não apresentaram atividade significativa sobre as bactérias testadas (Tabela 5). O extrato de cera de Rajada apresentou halo na concentração de 100 µg/mL apenas para *E. aerogenes*. O tempo maior em que as amostras em relação as outras amostras foram mantidas acondicionadas sobre congelamento pode ter interferido na atividade. Pois de acordo com Almeida-Muradian et al. (2013), a refrigeração e congelamento podem levar a alterações nos parâmetros físico-químicos, quando comparado ao mel mantido em temperatura ambiente, sendo necessário alguns estudos sobre o assunto em ceras para maior compreensão.

Gráfico 3: Comparação entre as medidas dos halos do extrato de canudo entre 12h e 24h.



* Difere significativamente dos demais tratamentos.

@ Difere significativamente dos outros tratamentos com extrato.

As ceras das espécies Mandaçaia e Rajada não apresentaram atividade significativa sobre as bactérias testadas (Tabela 5). O extrato de cera de Rajada apresentou halo na concentração de 100 µg/mL apenas para *E. aerogenes*. O tempo maior em que as amostras em relação as outras amostras foram mantidas acondicionadas sobre congelamento pode ter interferido na atividade.

Os dados contrapõe os encontrados por Borsato et al. (2013), os quais estudaram diferentes méis de abelhas sem ferrão. Dentre estes, o da *Melipona quadrifasciata* o qual inibiu o crescimento de *E. coli* e *S. aureus* em menores concentrações quando em comparação com outros méis de outras espécies. Quanto ao extrato da Rajada (*Melipona alsiavae*) não foi encontrado dados na literatura sobre a atividade antimicrobiana de seus produtos.

A diferença encontrada entre os diferentes extratos de ceras de abelhas sem ferrão neste trabalho podem estar associados a diversos fatores relatados por alguns autores, como: flora, clima, ambiente, composição físico-química, temperatura e os métodos de processamento

empregados (ALMEIDA-MURADIAN et al. 2013; CIMPOIU et al. 2013; SILVA et al. 2009).

De forma geral, os halos formados pelos extratos de cera não foram mais significativos que os dos antibióticos utilizados como controles. Contudo, observou-se que as ceras de Canudo, Jandaíra e Jati apresentaram atividade antimicrobiana. Nesse sentido, é necessário que haja mais estudos sobre os produtos de colmeia em abelhas sem ferrão, afim de explorar esse potencial de produtos naturais.

Tabela 5: Média dos halos (mm) resultantes do extrato de cera de Mandaçaia e Rajada

Extrato de cera Mandaçaia										
	12hs					24hs				
	100 µg/mL	75 µg/mL	50 µg/mL	CN	CP	100 µg/mL	75 µg/mL	50 µg/mL	CN	CP
<i>E. aerogenes</i>	*	-	-	*	22,0	*	-	-	*	22,0
<i>E.coli</i>	*	-	-	*	25,0	*	-	-	*	23,0
<i>Salmonella spp.</i>	*	-	-	*	20,0	*	-	-	*	20,0
<i>S. aureus</i>	*	-	-	*	33,0	*	-	-	*	30,0

Extrato de cera de Rajada										
	12hs					24hs				
	100 µg/mL	75 µg/mL	50 µg/mL	CN	CP	100 µg/mL	75 µg/mL	50 µg/mL	CN	CP
<i>E. aerogenes</i>	6,33	-	-	*	22,0	*	-	-	*	22,0
<i>E.coli</i>	*	-	-	*	25,0	*	-	-	*	23,0
<i>Salmonella spp.</i>	*	-	-	*	20,0	*	-	-	*	20,0
<i>S. aureus</i>	*	-	-	*	33,0	*	-	-	*	30,0

* Não houve formação de halo significativo

Kacaniova et al. (2012), estudando própolis, pólen e cera de abelhas na Eslováquia, avaliaram a atividade de extratos metanoicos e etanolicos, pelo método de difusão em discos, sobre bactérias patogênicas, fungos microscópicos e leveduras. Tendo encontrado como resultado para os extratos de cera de abelha em um período de 48h, maiores halos de inibição para *E. coli*, *Aspergillus niger* e *Candida tropicalis*.

Já Nevine et al. (2011), advertiu sobre a possibilidade de interações sinérgicas, bem como antagônicas entre misturas naturais de produtos apícolas. No estudo, foram misturadas cera e própolis observando-se melhores resultados para algumas bactérias quando utilizados individualmente. Com halos de inibição com média de 7mm-20mm utilizando a cera para *E. coli* e *S. aureus* e outras bactérias e fungos (NEVINE, 2011).

Al-Waili (2005), também encontrou dados semelhantes da ação antimicrobiana de cera de abelha quando misturada com mel e azeite, contra *C. albicans* e *S. aureus*. Sendo a cera segura e eficaz no tratamento de pele. Foi observado também que os componentes poderiam ter efeitos sinérgicos entre si na variação de concentrações.

De modo que, são necessários estudos maiores quanto a composição dos produtos de origem de abelhas sem ferrão. Assim como, as metodologias empregadas na obtenção de extrato de cera e os fatores ambientais que estão associados a atividade antimicrobiana. Contribuindo para o desenvolvimento de bioprodutos para tratamentos terapêuticos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise do potencial antimicrobiano demonstrou que a cera das espécies Jatí, Jandaíra, Canudo e Rajada apresentaram atividade contra os micro-organismos testados. Contudo, os halos de inibição pelos extratos quando comparados com os formados pelos antibióticos, teve um espectro menor.

REFERÊNCIAS

- ALANIS, A. J. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? **Archives of Medical Research**, Indianapolis, v. 36, n. 6, p. 697-705, junho. 2005.
- ALBUQUERQUE, U. P. ; The Use Of Medicinal Plants By The Cultural Descendants Of African People In Brazil. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 20, n. 2, p. 139-144, 2001.
- ALMEIDA, M. A. D. de; CARVALHO, C. M. S.; **Apicultura: uma oportunidade de negócio sustentável** .; Salvador : SEBRAE, 2009. 52 p.
- ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; STRAMM, K. M.; ESTEVINHO, L. M.; Efficiency of the FT-IR ATR spectrometry for the prediction of the physicochemical characteristics of Melipona subnitida honey and study of the temperature's effect on those properties. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 1, p. 188-195, janeiro. 2013.
- ALVES, D. F. S. et al. Effects of topical application of the honey of Melipona subnitida in infected wounds of rats. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 35, n. 3, p. 188-193, maio/jun. 2008.
- ALZUGARAY, D.; ALZUGARAY, C. **Aprenda a criar abelhas**. São Paulo: Três, 1986. 80p.
- AL-WAILI, N.S. Mistura de mel, cera de abelha e azeite inibe o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. **Archives of Medical Research** , v. 36, n.1, p. 10-13. 2005.
- APPELBAUM, P.C.; HUNTER, P.A. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 16, n. 1, p. 5-15, setembro. 2000.
- ANVISA. **Antimicrobianos - bases teóricas e uso clínico**. Disponível em: <<http://pt.slideshare.net/anaclaurod/manual-do-antibiograma>>. Acesso em: 17 fev. 2014.
- BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; KADOTA, S.; Recent progress in pharmacological research of propolis. **Phytotherapy Research**, v. 15, n.1, p. 561-71. 2001.
- BARROS, A.I.R.N.A. de; NUNES, F.H.F.M.; COSTA, M. M. F.da; **Manual de boas práticas na produção de cera de abelha. Princípios gerais**. FNAP, 2009. 10-16p.
- BASTOS, E. M. A. F. et al.; Indicadores físico-químicos e atividade antibacteriana de própolis marrom frente à *Escherichia coli*. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.63, n.5, p.1255-1259. 2011.
- BOGDANOV, S. Beeswax: Quality issues today. **Bee World**. v. 85, n.3, p. 46-50. 2004.
- _____. **Beeswax: Uses and Trade**. Bee Product Science, 2009. 1-16p.

BORSATO, D. M. et al.; Atividade antimicrobiana de méis produzidos por meliponíneos nativos do Paraná (Brasil). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 31, n. 1., jan/jun. 2013.

BRASIL. Instrução Normativa n.3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de apitoxina, cera de abelha, geléia real, geléia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 de jan. de 2001. Seção 1 p.18-23.

BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION SECRETARIAT, Vol. 1. HMSO, London (UK) p. 65. 1993.

CARVALHO, C. A. L. et al.; **Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química**. Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA. 2005.

CIMPOIU, C. et al. Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 100, n.1, p. 149-154. 2013.

CLSI; Publication M100-S21. **Suggested Grouping of US-FDA Approved Antimicrobial Agents That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Laboratories**, 2011.

_____. **Performance Standard For Antimicrobial Disc Susceptibility Test Approved Standard**, 8th edition M2A8, v. 3, n. 1. 2003.

COHEN, M.L.; Epidemiology Of Drug Resistance: Implications For A Post Antimicrobial .Era. **Science**, Washington, v. 257, n.11, p.1050-1055. 1992.

COHEN, E.C et al. ; Cohort Study Care of Children Isolated for Infection Control: A Prospective Observational. **Pediatrics** 2008; 122:411-5.

COLETTTO-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.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; GELLI, D.S. Analyse pollinique, proprietes physico-chimiques et action antibacterienne des miels d'abeilles africanisees *A. mellifera* e et de Melipones du Bresil. *Apidologie*, v.22, p.61-73. 1991.

CORTOPASSI-LAURINO, M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. **La cria de abejas sin aguijon mas comunes em el Nordeste Brasileiro**. In: Memorias II Seminario Mexicano Sobre Abejas Sin Aguijón - una visión sobre su biología y cultivo. Mérida, Yucatan, México. p.40-43. 2001.

COSTA, P. S. C.; OLIVEIRA, J.S. de; **Manual prático de criação de abelhas**. Editora aprenda fácil, série ouro. 2005.

DE LENCASTRE, H., OLIVEIRA, D., TOMAS, Z. A.; Antibiotic resistant *Staphylococcus aureus*: a paradigm of adaptive power. **Curr Opin Microbiol.**, v. 10, n. 5, p. 428-35. 2007.

FARNESI, A. P. et al.; Effects of stingless bee and honey bee propolis on four species of bacteria. **Genet. Mol. Res.**, v. 8, n. 2, p.635-640. 2009.

FREITAS, B.M.; **Apicultura no nordeste do Brasil: uma história de sucesso com futuro promissor.** 2004.

FUJII, I. A.; RODRIGUES, P. R. M.; FERREIRA, M. do N.; Caracterização físico-química do mel de guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) em Alta Floresta, Mato Grosso. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.10, n.3, p. 645-653, jul/set. 2009.

GOLÇALVES, L. S. Expansão da apicultura brasileira e suas perspectivas em relação ao mercado apícola internacional, In: XV CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 5, 2004, Natal, RN. **Anais...** Natal: 2004.

HEARD, T.A., The role of stingless bees in crop pollination. **Annual Review of Entomology**, v. 44, p. 183–206. 1999.

IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Serviços aos ecossistemas, com ênfase nos polinizadores e polinização.** São Paulo: USP. 2004.

KACANIOVÁ, M. et al.; The antimicrobial activity of honey, bee pollen loads and beeswax from Slovakia. **Arch. Biol. Sci.**, Belgrade, v. 64, n. 3, p. 927-934. 2012.

KOSONOKA, L.; Propolis – snake oil or legitimate medicine?. **Am. Bee J.**, v.130, n.2. 1990.

KRELL, R. **Value-added products from beekeeping.** Rome: FAO, 409. ISBN 92-5-103819-8. 1996.

LENGLER, C. B. Produtos apícolas. **Revista Brasileira de Agropecuária.** São Paulo: Escala, p.28-34. 2001.

LIRA, T.S.; **Avaliação de dois métodos de produção de cera de abelhas na zona da mata alagoana.** 2011. Trabalho de conclusão de curso - Alagoas, 2011.

LUSTOSA, S.R. et al.; Propólis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.3, p.447-454. 2008.

MAGALHÃES, E. O. **Manual e Apicultura** – Modulo I. CD p/ ADRs/BA. 2001.

MARCUCCI, N. C.; CÂNDIDA, M. Apiterapia. In: Congresso Brasileiro de Apicultura, 14. Campo Grande, **Anais...** Campo Grande-MS: CONBRAPI, 2002, p. 136-140. 2002.

MASSOUD, A., et al. , Preliminary study of therapeutic efficacy of a new fasciolicidal drug derived from *Commiphora molmol* (myrrh), **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 65 (2), 96- 99 . 2001.

MELIPONARIODOSERTAO. **Visitantes...** 2014. Kalhil Pereira França. Disponível em: <<http://meliponariodosertao.blogspot.com.br/search?q=visitantes>>. Acesso em: 22 jan. 2014.

MERCÊS, M. D., et al.; Atividade antimicrobiana de méis de cinco espécies de abelhas brasileiras sem ferrão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 4, p.672-675, abr. 2013.

MOLAN, P. Not all honeys are the same for wound healing. **Bulletin of the European Tissue Repair Society**. v. 9, p. 5–6. 2002.

MONTEIRO, A. R. P. **Resistência adquirida a quinolonas em Enterobacteriaceae isoladas de suiniculturas Portuguesas**. TCC. Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2011.

MORETI, A.C.C.C. **Pólen: Alimento protéico para as abelhas - Complemento alimentar para o homem**. 2006. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2006_3/Polen/index.htm>. Acesso em: 12/9/2013.

MUNIRUZZANAN, M.; CHOWDRUY, M.B.R., Sensitivity of fish pathogenic bacteria to various medicinal herbs. **Bangl J. Vet. Med.**, v. 2, n. 1, p. 75- 82. 2004.

NEVINE, B. G. Study on the antimicrobial activity of honey products and some Saudi Folkloric substances. **Research Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 4. 2011.

NOGUEIRA-COUTO, R. H.; COUTO, L. A. A. **Apicultura: Manejo e produtos**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 154 p.,

NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão – São Paulo: Nogueirapis**, 1997. 446p.

_____. **A criação de abelhas indígenas sem ferrão (Meliponinae)**. 2 ed. Tecnapis: Chácaras e Quintais. S. Paulo, 1970. 365 p.

OLIVEIRA, A. C. de, et al. . Desafios e perspectivas para a contenção da resistência bacteriana na óptica dos profissionais de saúde. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 15, n. 3, p. 745-52, set. 2013.

PATRICIO, E.F. et al.; The propolis of stingless bees: terpenes from the tibia of three Frieseomelitta species. **Journal of Insect Physiology**, v.48, n.2, p.249-254. 2002.

PEREIRA, A. dos S.; SEIXAS, F.R.M.S.; AQUINO NETO, F.R. de. Propólis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v.25, n.2, p.321-326,.2002.

PEREIRA, R. A., **Monitoramento das atividades individuais de abelhas africanizadas relacionadas ao comportamento higiênico**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo : USP, 121p. 2008.

RATTI, R. P., SOUSA, C. P. ; *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) e infecções nosocomiais. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl**, v. 30, n. 2, p. 137-143. 2009.

REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA. Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid (Spain) 1997, 615–616 p.

SANCHES, M. A.; A PRÓPOLIS DE ABELHAS SEM FERRÃO E SUAS PROPRIEDADES TERAPÊUTICAS. **Pesquisa & Tecnologia**, São Paulo, v. 9, n. 1. 2012.

SERRA, J.; CAÑAS, S.; GÓMEZ, A.: Características físico-químicas de la cera de abejas producida en España. **Alimentación, equipos y tecnología**, v. 5–6, p. 213–216. 1989

SILVA, A. F. et al.; Diagnóstico da apicultura no município de pombal-PB. **REBAGA** (Mossoró – RN – Brasil) v.4, n.1, p. 01- 12, janeiro/dezembro. 2010.

SILVA, L.R. et al. ; Honey from Luso region (Portugal): physicochemical characteristics and mineral contents. **Microchemical Journal**, 93,73–77. 2009.

SILVA, R. A. da. et al.; Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.6, p.1842-1848, nov/dez. 2006.

SNOWDON, J.A., CLIVER, D.O.; Microorganisms in honey. **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, p. 1–26. 1996.

SOUZA, R. C. da S. et al.; Valor nutricional do mel e pólen de abelhas sem ferrão da região amazônica. **Revista ACTA Amazônica**, v. 34, n. 2, p. 333 – 336. 2004.

TESSI, M. A. et al.; Drug resistance of Enteriobacteriaceae isolated from chicken carcasses, **J. Food Prot**, v. 60, p. 1001–1005. 1997.

THOMSON, W.; Propolis. **Med. J. Aust.** p.153-654. 1990.

UNITED STATES PHARMACOPOEIAL CONVENTION, Inc. National Publishing. National Formulary 19, 2537. 2000.

VELIKOVA, M. et al.; Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian meliponinae. **Zeitschrift für Naturforschung**, v.55, n.9/10, p.785-789. 2000.

WEBBEE. **A criação de jandaíra (*Melipona subnitida*) como atividade de desenvolvimento sustentado**. Disponível em: <<http://www.webbee.org.br/jandaira/adema.htm>>. Acesso em : 02 de abril de 2013.

_____. **Tópicos em Biologia de Abelhas**. Disponível em: <<http://www.webbee.org.br/beelife/biolo.htm>>. Acesso em: 20 jan. 2014.

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

ZANOSCHI C. et al., The efficiency of some natural drugs in the treatment of burns, **Revista Medico – Chirurgicala a Societatii de Medici Si Naturalisti Din Lasi**, v. 95, p. 63- 65. 1991.

ZOVARO, R. **Cera de abelhas: benficiamento, produção e utilização**. 164p. 2007.