



**INSTITUTO  
FEDERAL**

Alagoas

**INSTITUTO FEDERAL DE ALAGOAS  
CAMPUS MACEIÓ  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**ANA CLEDJA DA SILVA FERREIRA**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA  
FRENTE AOS MICRORGANISMOS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*,  
*ESCHERICHIA COLI* E *ENTEROCOCCUS FAECALIS*–IN VITRO.**

**MACEIÓ, ALAGOAS**

**2024**

ANA CLEDJA DA SILVA FERREIRA

Atividade Antimicrobiana do Extrato de Própolis Vermelha Frente aos Microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*–IN VITRO.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Alagoas, Campus Maceió, como requisito para obtenção de grau de licenciado em Ciências Biológicas

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Claudia Garcia de Medeiros

MACEIÓ, ALAGOAS

2024

ANA CLEDJA DA SILVA FERREIRA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA  
FRENTE AOS MICRORGANISMOS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*,  
*ESCHERICHIA COLI* E *ENTEROCOCCUS FAECALIS*–IN VITRO.**

Aprovado em: 31/07/2024

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Alagoas, Campus Maceió, como requisito parcial para obtenção de grau de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas.

**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof.ª Dra. Ana Claudia Garcia de Medeiros (Orientadora)  
Instituto Federal de Alagoas – IFAL



---

Prof.ª Dr. Dário Luiz Nicácio Silva  
Instituto Federal de Alagoas – IFAL  
Campus Marechal Deodoro

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** SHEYLA FERREIRA LIMA COELHO  
Data: 29/08/2024 14:35:35-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

---

Prof.ª Dra. Sheyla Ferreira Lima Coelho  
Instituto Federal de Alagoas – IFAL



**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação**  
**Instituto Federal de Alagoas**  
**Campus Maceió**  
**Biblioteca Benevides Monte**

---

579

F383a Ferreira, Ana Cledja da Silva.

Atividade antimicrobiana do extrato de propólis vermelha frente aos microorganismos *Staphylococcus aureus* *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*–*in Vitro*. [recurso eletrônico] / Ana Cledja da Silva Ferreira. – Dados eletrônicos (1 pdf : 542 KB). – 2024.

Trabalho com 59 f.

Inclui tabelas e referências.

Orientação: Profa. Dra. Ana Cláudia Garcia de Medeiros.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Instituto Federal de Alagoas, *Campus* Maceió, Maceió, 2024.

1. Ciências Biológicas. 2. Própolis vermelha. 3. Antibiótico. 4. Bactérias. I. Título.

---

**Franciane Monick Gomes de França**  
**Bibliotecária – CRB 4/1831**

Dedico este trabalho a todos que  
contribuíram para minha formação  
científica, acadêmica e profissional.

## **AGRADECIMENTOS**

A realização deste trabalho de conclusão de curso não teria sido possível sem o apoio e colaboração de diversas pessoas, às quais gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por me conceder a saúde, força e sabedoria necessárias para a realização deste trabalho

À minha família, pelo amor incondicional, paciência, e incentivo ao longo de toda a minha jornada acadêmica. Em especial, agradeço aos meus pais Cleonice e Sebastião, pelo apoio emocional e financeiro, que foram fundamentais para a conclusão deste curso.

A minha orientadora, a Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Claudia Garcia de Medeiros, pela orientação, paciência, e por compartilharem seus conhecimentos e experiências comigo. Suas sugestões e críticas foram essenciais para o desenvolvimento e aperfeiçoamento deste trabalho.

A professora Sheyla Coelho, coordenadora do Curso, por toda sua paciência para comigo em meio aos meus surtos e estresse e pelos chocolates para me acalmar.

Ao Instituto Federal de Alagoas- IFAL, por proporcionar a estrutura e os recursos necessários para a realização desta pesquisa. Agradeço, em particular, aos técnicos de laboratório e à Estagiária Ingrid Melo, pela assistência técnica e suporte ao longo do projeto.

Aos colegas de curso e amigos, expresso minha profunda gratidão pelo companheirismo, pelas discussões enriquecedoras e pelo apoio prestado durante os momentos de dificuldade. Em especial, gostaria de agradecer à minha amiga Isabela Santos, cuja dedicação e auxílio foram inestimáveis para o desenvolvimento desta pesquisa. Sua incansável colaboração e suporte contínuo foram fundamentais para que este trabalho pudesse ser concretizado.

A todos os professores que, ao longo do curso, contribuíram para a minha formação acadêmica e profissional, transmitindo seus conhecimentos e incentivando o pensamento crítico.

E, finalmente, a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste trabalho.

Muito obrigado a todos!

Querem que vos ensine o modo de chegar à ciência verdadeira? Aquilo que se sabe, saber que se sabe; aquilo que não se sabe, saber que não se sabe; na verdade é este o saber. (Confúcio).

## RESUMO

A própolis vermelha, composta por uma mistura de resinas, bálsamos, ceras, óleos essenciais e compostos orgânicos, é conhecida por suas propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias e antioxidantes. Proveniente principalmente do litoral nordeste do Brasil e produzida por abelhas a partir da planta nativa *Dalbergia ecastophyllum*, a própolis vermelha foi testada em diferentes concentrações (25%, 75% e 100%) e comparada a antibióticos convencionais (penicilina, gentamicina e cefotaxima) contra as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*. Os resultados mostraram que a própolis vermelha apresentou atividade inibitória significativa contra *S.aureus*, *E. coli* e *E. faecalis*, com formação de halo inibitório em comparação aos antibióticos testados. No entanto, em comparação com antibióticos tradicionais, como a cefotaxima, a própolis ainda demonstra menor eficácia, especialmente contra *E. faecalis*.

**Palavras-chaves:** Própolis vermelha; Antibiótico; bactérias.

## ABSTRACT

Red propolis, composed of a mixture of resins, balsams, waxes, essential oils, and organic compounds, is known for its antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant properties. Sourced primarily from the northeastern coast of Brazil and produced by bees from the native plant *Dalbergia ecastophyllum*, red propolis was tested at different concentrations (25%, 75%, and 100%) and compared to conventional antibiotics (penicillin, gentamicin, and cefotaxime) against the bacterium *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Enterococcus faecalis*. The results showed that red propolis exhibited significant inhibitory activity against *S. aureus*, *E. coli*, and *E. faecalis*, with the formation of inhibitory halos comparable to those of the tested antibiotics. However, compared to traditional antibiotics such as cefotaxime, propolis still demonstrated lower efficacy, especially against *E. faecalis*.

**Keywords:** Red propolis; Antibiotic; IBacterium

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO:</b> .....  | <b>8</b>  |
| <b>2. OBJETIVOS:</b> .....   | <b>11</b> |
| 2.1 Geral.....   | 11        |
| 2.2 Específicos:.....  | 11        |
| <b>3. REFERENCIAL TEÓRICO:</b> .....   | <b>12</b> |
| 3.1 Própolis Vermelha.....   | 12        |
| 3.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....   | 14        |
| 3.3 <i>Escherichia coli</i> .....  | 16        |
| 3.4 <i>Enterococcus faecalis</i> .....   | 18        |
| <b>4. METODOLOGIA:</b> .....   | <b>20</b> |
| 4.1 Obtenção da própolis vermelha.....   | 20        |
| 4.2 Preparo das amostras de própolis sob forma de extrato.....   | 20        |
| 4.3 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos (amostras de própolis vermelha sob forma de extrato e os discos de antibióticos)..... | 20        |
| 4.4 Análise estatística.....   | 21        |
| 4.5 Cálculo da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....   | 21        |
| <b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES:</b> .....   | <b>22</b> |
| 5.1 <i>Staphylococcus aureus</i> :.....  | 22        |
| 5.2 <i>Escherichia coli</i> .....  | 27        |
| 5.3 <i>Enterococcus faecalis</i> .....   | 31        |
| <b>6. CONCLUSÃO:</b> .....   | <b>35</b> |
| <b>REFERÊNCIAS:</b> .....  | <b>36</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Os antigos gregos, romanos e egípcios conheciam as propriedades curativas da própolis e faziam uso extensivo dela como medicamento. Na Idade Média, a própolis não era um tema muito popular e seu uso na medicina tradicional desapareceu. Porém, o conhecimento das propriedades medicinais da própolis sobreviveu na medicina popular tradicional. Mais tarde passou a ser utilizada pelos gregos em períodos bélicos, pois a mesma proporciona a potencialização de medicamentos com ação anti-inflamatória e antibiótica (KUROPATNICKI, A. K. et al 2013). Estudos realizados com a própolis levaram ao conhecimento das funções de seus compostos, os quais têm como finalidade principal a estruturação das colméias e manter um ambiente asséptico para a rainha, sendo benéfica para a manutenção e isolamento das colméias contra microorganismos. (CABRAL et al, 2009).

O estudo aprofundado e avaliativo, por meio de revisões de artigos atuais, tem como finalidade principal a comprovação da eficiência da própolis vermelha no controle do crescimento bacteriano e uma melhora alternativa em atividades terapêuticas direcionadas a microorganismos sensíveis aos seus compostos ativos.

Tais estudos serviram de base para novas pesquisas que favoreceram a classificação dos tipos de própolis existentes, além de relacionar suas propriedades físico-químicas de acordo com a localização e o período em que a mesma foi produzida. Oficialmente são reconhecidos 12 tipos de própolis predominantes no Brasil, entretanto, recentemente reconheceu-se a própolis vermelha, que chamou atenção devido suas propriedades antibacterianas. Este tipo de própolis é produzido pela espécie de abelhas *Apis mellifera*, através de processos químicos e ações enzimáticas digestivas que interagem com a seiva avermelhada extraída da *Dalbergia ecastophyllum* (rabo-de-bugio), espécie oriunda da mata atlântica, sobretudo em regiões muito próximas do mar e das encostas dos rios. Neste contexto, observa-se que o litoral do nordeste brasileiro vem ganhando destaque na produção, graças às propícias condições climáticas, ambientais, citando, em especial, o estado de Alagoas. Estudos mostram que os metabólitos identificados na própolis, como ácidos benzóicos, flavonóides, chalconas, dependem intrinsecamente da flora e do clima da localidade (DAUGSH, et al 2007) (LUSTOSA, et al, 2008). Cerca de 90% da própolis produzida no litoral alagoano é exportada e o pouco que

resta é utilizado para pesquisas com baixo investimento, pouco divulgadas e caminhando em passos lentos onde são comercializadas por pequenos produtores.

*Staphylococcus aureus*, bactéria Gram positiva, é componente frequente da microbiota normal do corpo humano e está relacionado como agente de uma ampla gama de infecções, sobretudo nas ocorrências hospitalares graves (TRABULSI, 2008). *Escherichia coli* é responsável por 80 a 90% das infecções do trato urinário adquiridas na comunidade, contudo, o agente etiológico varia de acordo com a idade, sexo e as condições clínicas do paciente (DUQUE 2013). O *Enterococcus faecalis* é um cocos anaeróbio gram-positivo que normalmente se inicia na cavidade oral, no trato gastrointestinal e na vagina, porque demonstrou uma boa adaptação a esses ambientes com nutrientes ricos e baixos níveis de oxigênio e ecologia complexa (ALGHAMDI 2020).

As infecções humanas constituem um sério problema de saúde, considerando que bactérias e fungos frequentemente infectam o homem. Apesar de existirem no comércio agentes terapêuticos disponíveis, seu uso é limitado devido a fatores como baixa potência, baixa solubilidade, resistência microbiana e elevada toxicidade. Sendo assim, pesquisas para a busca de novos agentes antimicrobianos em produtos naturais que minimizem tais efeitos indesejados devem ser encorajados. Apesar das indústrias farmacêuticas produzirem um expressivo número de novos antibióticos nas últimas três décadas, a resistência microbiana a essas drogas também aumentou. A resistência emergente nas Enterobacteriaceae é um problema significativo que requer atenção imediata. Atualmente, registra-se um aumento na frequência do isolamento de bactérias, que eram sensíveis aos fármacos de rotina utilizados na clínica médica, que se apresentam agora resistentes a todos ou quase todos os fármacos disponíveis comercialmente, como demonstrados por várias bactérias multirresistentes (CUTLER & WILSON, 2004). O problema da resistência microbiana é crescente e a perspectiva futura do uso de drogas antimicrobianas, incerta (NASCIMENTO et. al, 2000). Esta resistência aos antimicrobianos beta lactâmicos se deve, na maioria das vezes, à produção de betalactamases (LIVERMORE, 2000). Torna-se urgente adotar, portanto, medidas de enfrentar o problema, entre elas a do controle no uso de antibióticos, O uso generalizado de medicamentos antimicrobianos e a capacidade de certos micróbios de adquirir genes acessórios que podem causar diversidade no fenótipo e nos mecanismos de resistência dos micróbios levaram a uma crise sem precedentes de resistência

antimicrobiana (ASLAN et al., 2018). Baseado nesta problemática, um estudo da atividade antimicrobiana de diferentes concentrações de própolis, oriundas de regiões do estado de Alagoas, poderá colaborar com a divulgação desta matéria prima produzida no estado. Além disso, proporcionar ganhos para a sociedade, que conhecerá uma fonte alternativa e simples de tratamento de doenças causadas por bactérias, representando acesso a um produto de fonte confiável e com eficiência comprovada cientificamente, para os discentes envolvidos na pesquisa que serão dotados de conhecimento adicional/complementar na área de microbiologia, principalmente em se tratando de métodos de controle da proliferação bacteriana (causa de óbitos mais comum) e para a instituição por apoiar e incentivar um trabalho relacionado à saúde pública, um dos grandes problemas do Estado de Alagoas.

## **2. OBJETIVOS:**

### **2.1 Geral:**

- Avaliar a atividade antibacteriana da própolis vermelha em forma de extrato em diferentes concentrações

### **2.2 Específicos:**

- Verificar as atividades antibacterianas da própolis vermelha contra bactérias Gram positiva (*Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* );
- Verificar as atividades antibacterianas da própolis vermelha contra bactéria Gram negativa (*Escherichia coli*);
- Comparar o poder antibacteriano entre a própolis e os antibióticos utilizados na pesquisa (Gentamicina, Cefotaxima e Penicilina).

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Própolis Vermelha

A própolis é uma mistura complexa formada por material resinoso e balsâmico proveniente de diversas partes das plantas, como brotos, exsudatos, galhos e folhas, que é coletada por diferentes espécies de abelhas. É utilizado para proteger a colméia contra insetos e prevenir a proliferação de microrganismos invasores, funcionando assim como uma barreira protetora (SILVA et al 2017; RUFATTO et al 2017). Em geral, a própolis é composta por cerca de 50% de resinas e bálsamos vegetais, 30% de cera, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e 5% de outras substâncias e materiais, incluindo compostos orgânicos.

No Brasil existem 13 tipos de própolis e sua classificação é feita de acordo com localização geográfica, origem botânica, cor e propriedades físico-químicas (Devequi-Nunes et al 2018). A própolis vermelha foi classificada como o 13º grupo e pode ser encontrada, principalmente, nas regiões costeiras brasileiras dos estados de Alagoas, Sergipe, Pernambuco, Bahia e Roraima (Devequi-Nunes et al 2018; MACHADO et al 2016; LÓPEZ et al 2014).

A própolis vermelha brasileira é encontrada principalmente na região costeira do Nordeste do Brasil, e sua composição química é altamente variável e está diretamente relacionada aos compostos encontrados em sua principal origem botânica, *Dalbergia ecastaphyllum* popularmente conhecida por rabo-de-bugio ou marmelo-do-mangue. Se trata do segundo tipo de própolis brasileira mais produzido e comercializado, sendo produzido principalmente no litoral do estado de Alagoas, Nordeste do Brasil (Regueira et al 2018; Salatino et al 2018).

A própolis vermelha apresenta uma riqueza de compostos químicos identificados, que incluem elemicina, isoelemicina, metil isoeugenol, formononetina, biochanina A, isoliquiritigenina, liquiritigenina, medicarpina, homopterocarpana, quercetina e vestitol. Do extrato lipofílico, foram isoladas benzofenonas polipreniladas, como guttiferone E, xantochimol e oblongifolina A, entre outros componentes. As isoflavonas formononetina, biochanina A, pinocembrina e medicarpina são consideradas marcadores químicos distintivos da própolis vermelha devido às suas concentrações significativas, conforme documentado por DE MENDONÇA et al., 2015.

A própolis é conhecida por suas extensas atividades biológicas relacionadas à cicatrização da pele (PICOLOTTO et al., 2019; AHMAD et al 2018), além de antioxidante (ANDRADE, 2017; NASCIMENTO et al., 2019), antibacteriana (REGUEIRA et al 2017; NASCIMENTO et al., 2018) antifúngica (MARTINOTTI 2015) e anti- atividades inflamatórias (BUENO-SILVA et al 2017) . Estas atividades são atribuídas aos compostos fenólicos e são consideradas importantes para o tratamento de feridas. Possui também potencial antialérgico (NAKAMURA et al 2010), evidenciado pela desregulação da alergia tipo I, fator relacionado a desgranulação dos mastócitos e a produção de um mediador químico da resposta alérgica ( NAKAMURA et al 2010; WERNERSSON et al 2014).

### **3.2 *Staphylococcus aureus***

O *Staphylococcus aureus* foi descrito pela primeira vez em 1880, na cidade de Aberdeen, na Escócia, pelo cirurgião Alexander Ogston que observou a presença dessa bactéria em pacientes que apresentavam feridas ulceradas (GUO et al 2020). O *Staphylococcus aureus*, pertencente ao gênero *Staphylococcus* no filo Firmicutes, apresenta características de coloração gram-positiva que consiste em bactérias que trazem consigo uma coloração e possuem um diâmetro aproximado de 0,8 µm. Sob um microscópio é possível observar sua organização em "aglomerados semelhantes a uvas". Essa bactéria é capaz de proliferar tanto em condições aeróbicas quanto anaeróbicas, demonstrando seu crescimento ideal a uma temperatura de 37°C e em um pH de 7,4.

Conforme destacado por FOSTER 2002, o *Staphylococcus aureus* é uma bactéria que tende a colonizar a cavidade nasal em aproximadamente um terço da população saudável comum. Diferentemente dos bacilos Gram-negativos, como a *Escherichia coli*, o *S. aureus* demonstra uma notável resistência à secura e a altos níveis de sal presentes na pele. Além disso, possui a capacidade de formar um biofilme ou "limo", facilitando sua adesão a dispositivos médicos, como cateteres intravasculares.

É relevante observar que cerca de 20% da população humana carrega o *S. aureus* como parte de sua microbiota a longo prazo, e a maioria desses portadores não apresenta sintomas clínicos associados. No entanto, mesmo sem manifestações evidentes, o *Staphylococcus aureus* permanece um patógeno humano significativo, conforme enfatizado por (HUMPHREYS, 2012).

Na década de 1840, o bacteriologista britânico Fleming fez a descoberta pioneira da penicilina, a qual foi subsequentemente aplicada na prática clínica para o controle de infecções causadas pelo *Staphylococcus aureus* (GARDETE, 2014). Antes do advento dos antibióticos, infecções graves por *S. aureus* eram geralmente consideradas uma sentença de morte (ERDEM, et al. 2011).

Posteriormente, testemunhou-se o surgimento contínuo de diversos medicamentos antibacterianos. No entanto, isso não perpetuou, pois apenas alguns anos após a introdução da penicilina foram descritas as primeiras cepas resistentes, atualmente, mais de 95% dos isolados de *S. aureus* são resistentes à penicilina, produzindo uma enzima extracelular, chamada penicilinase. No entanto, é crucial ressaltar que essa significativa pesquisa também acarretou uma ameaça latente para a sociedade humana. O uso generalizado de antibióticos resultou em uma crescente incidência de resistência bacteriana, iniciando com o surgimento de cepas multirresistentes, como *Staphylococcus Aureus* Resistente à Meticilina (MRSA). Cepas de MRSA mostram resistência às penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos, tornando o arsenal  $\beta$ -lactâmico clinicamente ineficaz que se tornou um problema clinicamente relevante e atraiu considerável atenção de especialistas em pesquisa tanto nacionais quanto estrangeiros (PICHEREAU E ROSA, 2010; KLEIN et al., 2017, TURNER., et al., 2019) . As infecções provocadas pelo *S. aureus* representam um risco substancial para a saúde humana, destacando, assim, a necessidade urgente de medidas profiláticas e alternativas terapêuticas.

Divergindo de muitos outros patógenos bacterianos que, frequentemente, baseiam sua capacidade de provocar doenças em uma ou poucas toxinas, o *Staphylococcus aureus* destaca-se ao gerar uma extensa variedade de fatores de virulência. Esta variedade abrange desde uma multiplicidade de toxinas e elementos de evasão imunológica até uma ampla gama de fatores, sejam eles protéicos ou não protéicos, que viabilizam a colonização do hospedeiro durante o curso da infecção (CHEUNG et al., 2021).

### **3.3. *Escherichia coli***

Muito tempo depois da sua primeira descoberta por um pediatra bávaro no final do século XIX, a *Escherichia coli* foi reconhecida como uma espécie bacteriana inofensiva e como uma flora normal no trato gastrointestinal de animais de sangue quente e répteis (PENG et al. 2023).

Geralmente, a *E. coli* e seu hospedeiro humano coexistem em boa saúde e com benefícios mútuos por décadas. Cepas comensais que vivem no organismo humano raramente causam doenças, exceto em hospedeiros imunocomprometidos ou quando as barreiras gastrointestinais normais são violadas, como em casos de peritonite, por exemplo alguns clones de *E. coli* são adaptados a nichos patogênicos e causam uma ampla variedade de doenças ao adquirir atributos específicos de virulência (KAPER, et al 2004).

DENAMUR et al., 2024 destacam que as infecções por *E.coli* podem ser bastante comuns, como no caso de infecções do trato urinário (UTIs), associadas a uma alta morbidade (insuficiência renal em HUS em crianças, sequelas neurológicas em NBM) e alta mortalidade (aproximadamente 15% em bacteremia). É o principal patógeno Gram-negativo responsável por infecções comunitárias e hospitalares em todas as idades. As infecções por *E. coli* foram descritas por BOURRILLON et al., 1978 em dois tipos: intestinais, caracterizadas por diarreias infecciosas, ou extra-intestinais.

As cepas de *Escherichia coli* patogênicas extraintestinais (ExPEC) também têm a infame distinção de estarem associadas à aquisição de novos e preocupantes genes de resistência à antibióticos (Liu Y et al 2016). Estudos de pangenoma de *E. coli* indicam enorme capacidade de evolução por aquisição de genes e modificação genética (BRAZ et al 2020).

A *Escherichia coli* uropatogênica (UPEC) é o organismo mais comum observado, os UPEC são cepas de *Escherichia coli* que desviam de seu status comensal como flora intestinal, crescem e persistem no trato urinário e exibem diversos fatores e estratégias de virulência, que lhes permitem infectar e causar doenças no trato urinário.

*Escherichia coli* é o patógeno mais predominante, causando 80-90% das infecções do trato urinário (ITUs) adquiridas na comunidade e 30-50% das ITUs adquiridas nosocomialmente. As ITUs recorrentes (RUTIs) são relatadas em 25%

das mulheres dentro de 6 meses após um episódio agudo de ITU e representam um grande problema (EJRNÆS 2011).

Nos últimos anos, os antibióticos desempenharam um papel crucial na preservação de um número significativo de vidas e na redução da incidência de doenças em milhões de pessoas em todo o mundo, conforme destacado por JONES et al. (2007). Contudo, os benefícios notáveis dos agentes antimicrobianos na redução das taxas de morbidade e mortalidade enfrentados têm desafios consideráveis devido ao surgimento de cepas resistentes a esses medicamentos.

Observou-se a emergência de *E. coli* multirresistente em diversos países nas últimas décadas. A resistência crescente às cefalosporinas, especialmente o aumento concomitante na prevalência de *E. coli* multirresistente, representa uma preocupação em crescimento constante para o tratamento de infecções causadas por *E. coli* (WU et al., 2021). A *E. coli* multirresistente (MDR), associada à produção de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBLs), enzimas que conferem resistência à maioria das proteínas  $\beta$ -lactâmicos, incluindo penicilinas, cefalosporinas e o monobactam aztreonam, apresenta um desafio significativo no âmbito da saúde. Esta resistência pode resultar em infecções potencialmente fatais. (YANG et al., 2020)

É importante ressaltar que a exposição prolongada de *E. coli* a antibióticos contribui significativamente para o desenvolvimento de resistência a esses medicamentos. Essa resistência representa uma ameaça crescente à eficácia dos tratamentos e destaca a necessidade urgente de abordagens mais abrangentes para lidar com a resistência antimicrobiana (HASHEMI et al., 2018; BOONYASIRI et al., 2014).

### **3.4 *Enterococcus faecalis***

O gênero *Enterococcus* compreende um grupo predominantemente de bactérias Gram-positivas que são de grande relevância para a saúde humana por seu papel como principais agentes causadores de infecções associadas à assistência à saúde. Um exemplo de sua patogenicidade pode ser encontrado o relato de MacCallum e Hastings que isolaram e caracterizaram um organismo (agora considerado uma cepa citolítica de *Enterococcus faecalis* ) de um caso letal de endocardite aguda. (FIORE et al 2019; MACCALLUM et al 1899). Os enterococos

são espécies resilientes e versáteis, capazes de sobreviver em condições adversas, tornando-os bem adaptados ao ambiente de cuidados de saúde. (SOLACHE et al 2019).

Os enterococos, conhecidos por seu potencial como suplemento dietético ou agente terapêutico para fortalecer o sistema imunológico, desempenham também um papel crucial na tecnologia alimentar, atuando como cultura iniciadora na fermentação de carnes e queijos. Por muitos anos, cepas de referência, como *E. faecalis* e *E. faecium*, foram empregadas como aditivos probióticos ou recomendadas para tratar disbiose intestinal e outras enfermidades. Contudo, o uso dessas cepas como probióticos tornou-se objeto de controvérsia recentemente, devido à facilidade de aquisição de fatores de virulência e resistência a diversos antibióticos (KRAWCZYK et al 2021; GARCÍA-DÍEZ et al 2021).

*Enterococcus faecalis* se trata de um microrganismo bastante adaptado para infectar e persistir em múltiplos nichos dentro do hospedeiro mamífero e ajustar-se ao metabolismo para responder a novos ambientes, permitindo a infecção em locais incluindo o trato gastrointestinal, trato urinário, epitélio ferido, coração, sangue e menos frequentemente, na vagina ou na boca. ( KAO et al 2019; KRAWCZYK et al 2021). As infecções potencialmente fatais geralmente associadas a *E. faecalis* incluem endocardite, bacteremia, infecções do trato urinário, meningite e infecções do canal radicular (BOLOCAN et al 2019). No mesmo viés, *E. faecalis* é responsável por aproximadamente 97% de todos os casos de endocardite infecciosa (EI), afetando predominantemente idosos e pacientes com comorbidades (BEGANOVIC et al 2018)

*Enterococcus faecalis* faz parte da flora normal do trato gastrointestinal. Quando um paciente hospitalizado é tratado com antibióticos de amplo espectro, os Enterococos são eliminados, o que leva à diminuição da espessura da camada protetora de muco gastrointestinal. Isto permite o crescimento incomum de clones de Enterococos associados a hospitais que são resistentes a antibióticos, cerca de 85–90% das infecções por Enterococos são causadas por *E. faecalis*. ( Brandl et al 2008; Ubeda et al 2010., Ho et al 2013).

Eles se adaptaram à colonização e à persistência em um ambiente hospitalar, permitindo fácil transmissão através de múltiplas rotas de contaminação cruzada, incluindo dispositivos médicos invasivos. (LEBRETON et al 2013). Além da resistência adquirida aos antibióticos, os enterococos também são intrinsecamente

resistentes a muitos agentes antimicrobianos, dando origem a uma variedade de infecções com opções terapêuticas limitadas e são, portanto, uma preocupação crescente de saúde pública. Assim, os enterococos multirresistentes, especialmente os enterococos resistentes à vancomicina (VRE), são um fardo para os hospitais em todo o mundo (ARIAS et al, 2009).

#### **4. METODOLOGIA:**

- Amostras de própolis sob forma de extrato diluída em diferentes concentrações
- Microorganismos (bactérias):
- Gram- positivas: *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*
- Gram- negativas: *Escherichia coli*
- Meios de cultura: Ágar Sangue; Ágar MacConkey; Ágar Mueller-Hinton
- Discos de difusão de antibióticos penicilina, gentamicina e cefotaxima
- Placas de petri, bicos de bunsen, alças de inoculação e de drigalski, discos de difusão de antibióticos (penicilina, gentamicina, e cefotaxima), pipeta e micropipeta semiautomática, parafilm, autoclave.

##### **4.1 Obtenção da própolis vermelha:**

O extrato da própolis vermelha foi cedido pelo professor Doutor Jonas apicultor e professor do Instituto Federal de Alagoas - IFAL

##### **4.2 Preparo das amostras de própolis sob forma de extrato:**

O extrato da própolis será diluído em água destilada em diferentes concentrações usando o método de diluição simples. Prontos, os extratos foram gotejados no meio de cultura contendo os microrganismos, uma gota da solução de própolis diluída nas concentrações de 25%, 75% e 100% que servirá de comparação em relação aos discos de antibióticos convencionais.

### **4.3 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos (amostras de própolis vermelha sob forma de extrato e os discos de antibióticos):**

Os experimentos foram realizados nos laboratórios de biologia e microbiologia, os mesmos foram realizados conforme descrito na Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos. Primeiramente, as amostras bacterianas foram semeadas utilizando um swab estéril, distribuindo-o uniformemente sobre a superfície das placas de Ágar Mueller-Hinton e Ágar Nutriente, específicas para o crescimento dos microrganismos em estudo. Em seguida, as placas inoculadas foram incubadas a 35°C por um período de 48 horas para permitir o crescimento adequado das colônias bacterianas.

Após o período de incubação, discos impregnados com antibióticos foram colocados nas placas de ágar. Paralelamente, soluções hidroalcoólicas de própolis em concentrações de 25%, 75% e 100%, que foram gotejadas nas placas de ágar. As mesmas foram seladas para evitar contaminação e incubadas novamente a 35°C. Esse processo foi realizado em triplicata para garantir a reprodutibilidade e precisão dos resultados. Cada bactéria foi testada em três placas diferentes com três antibióticos distintos. Além disso, cada concentração de própolis (25%, 75%, 100%) foi aplicada em três placas separadas para cada amostra bacteriana, totalizando três repetições por concentração.

Após a incubação, os halos de inibição foram medidos para avaliar a eficácia dos antibióticos e das soluções hidroalcoólicas de própolis contra as bactérias testadas. Os resultados foram documentados e analisados comparativamente para determinar a atividade antibacteriana dos agentes testados.

### **4.4 Análise estatística:**

A análise estatística dos resultados foi conduzida no Microsoft Excel, empregando uma análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey, com um nível de confiança de 95%. O objetivo era identificar diferenças significativas entre as concentrações de Própolis e os Antibióticos. Em todos os procedimentos estatísticos, o critério de significância adotado foi um valor de  $f_{tab}$  inferior a 3.5.

#### **4.5 Cálculo da Concentração Inibitória Mínima (CIM):**

Para calcular a CIM, soma-se os diâmetros dos halos de inibição para cada antibiótico e dividimos o número de repetições

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 *Staphylococcus aureus*:

Tabela 1. Resultado halo dos antibiogramas

| ANTIBIÓTICOS |            |    |         |    |         |    |              |
|--------------|------------|----|---------|----|---------|----|--------------|
| S. AUREUS    | REPETIÇÕES |    |         |    |         |    | TOTAL (SOMA) |
|              | Placa 1    |    | Placa 2 |    | Placa 3 |    |              |
| TRATAMEN TO  | A1         | A2 | A1      | A2 | A1      | A2 |              |
| Penicilina   | 0          | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0            |
| Cefotaxima   | 16         | 19 | 13      | 15 | 16      | 17 | 96           |
| Gentamicina  | 28         | 28 | 20      | 20 | 19      | 19 | 134          |

Fonte: Autor, 2024.

Os resultados do teste de antibiograma da bactéria *Staphylococcus aureus* apresentou a ausência na inibição da bactéria, indicando que a cepa utilizada no estudo é uma MRSA (*S. aureus* resistente à meticilina). A meticilina é categorizada como uma penicilina, constituindo-se como um subtipo específico dentro desta classe de antibióticos. Essa característica é corroborada por estudos anteriores, que destacam o *S. aureus* como um paradigma na aquisição de resistência aos antimicrobianos. Atualmente, as cepas MRSA são os patógenos multirresistentes mais prevalentes em hospitais em todo o mundo, representando um desafio crescente no tratamento clínico. Observou-se completa resistência da bactéria *S. aureus* aos antibióticos Ampicilina (10 µg) e Penicilina (10 µg), evidenciada pela ausência de halos de inibição halo=0. (DUARTE et al., 2018; SILVA et al., 2022).

A cefotaxima demonstrou reduzir o número de colônias de *S. aureus* ao longo das placas P1, P2 e P3. Isso indica que o tratamento com cefotaxima foi eficaz na diminuição da carga bacteriana de *S. aureus* nas amostras testadas. Observa-se uma variação nas contagens dos halos entre as amostras A1 e A2, o que é esperado devido à natureza biológica das amostras. A soma total da formação dos halos para o tratamento com cefotaxima ao longo das três placas é de 96, refletindo

a eficácia cumulativa do tratamento. HARADA et al., 2018 conduziram um estudo experimental com 182 cepas de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). Ao longo de 6 anos os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) para cefotaxima variaram de 64 a  $\geq 256$   $\mu\text{g/mL}$ , conseqüentemente os valores não correspondem com os do presente estudo que foi de  $16\mu\text{g/mL}$ .

A Gentamicina reduziu consistentemente o campo bacteriano de *S. aureus* ao longo das placas semeadas P1, P2 e P3. Isso sugere que o tratamento com gentamicina foi eficaz na diminuição da carga bacteriana de *S. aureus* nas amostras testadas. Os resultados mostram uma certa estabilidade na eficácia da gentamicina ao longo dos períodos, com variações moderadas nas contagens entre as amostras A1 e A2. A soma total das amostras para o tratamento com gentamicina ao longo das três placas é de 134, refletindo a eficácia acumulada do tratamento. SANTOS 2019 traz uma perspectiva de eficácia da gentamicina de até 16 vezes maior após quatro dias de tratamento com este antibiótico apresentando ao final do ensaio um valor de  $512 \mu\text{g/mL}$  de CIM comparado com os valores do estudo feito cujo o total do CIM corresponde a  $22,33\mu\text{g/mL}$

Tabela 2. Resultado da análise estatística ANOVA

| FONTE DE VARIAÇÕES | GRAU DE LIBERDADE | SOMA DE QUADRADO | QUADRADO MÉDIO | F <sub>Calc</sub> | F <sub>Tab 5%</sub> |
|--------------------|-------------------|------------------|----------------|-------------------|---------------------|
| TRATAMENT<br>O     | 2                 | 1.589,78         | 794,89         | 128,72            | 3,5                 |
| RESÍDUO            | 19                | 117,33           | 6,18           | -                 | -                   |
| TOTAL              | 17                | 1.707,11         | -              | -                 | -                   |

Fonte: Autor, 2024.

Os resultados da ANOVA indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos testados ( $F_{\text{Calc}} = 128,72$ ,  $F_{\text{Tab}} = 3,5$ ). Esse achado indica que o dos tratamento com o antibiótico penicilina teve um impacto significativamente diferente em relação aos demais, pois não aconteceu inibição bacteriana, Gentamicina e Cefotaxima trazem um impacto de significância se mostrando eficiente na sensibilização da bactéria *Staphylococcus aureus*. Isso é crucial, pois demonstra que a escolha do tratamento pode influenciar substancialmente o resultado do experimento. A exposição a longo prazo da bactéria ao tratamento com antibióticos está associada ao desenvolvimento de fenótipos que permitem sua

sobrevivência, causando assim sua resistência e podendo contribuir para o surgimento de superbactérias. ( ZINNER et al., 2018).

Neste mesmo viés a variação dentro dos grupos (Resíduo) foi relativamente baixa (SQ = 117,33), indicando que a maior parte da variação total observada nos dados pode ser atribuída às diferenças entre os tratamentos. Isso fortalece a confiança na análise, sugerindo que os resultados não são apenas devido a flutuações aleatórias nos dados, mas sim devido às diferenças reais entre os tratamentos aplicados.

O teste de Tukey HSD (Honestly Significant Difference) foi realizado para avaliar as diferenças entre as médias dos tratamentos. Os contrastes e seus respectivos valores de diferença média e significância estão apresentados a seguir:

Tabela 3: Teste de Tukey

| <b>Contraste [ Y ]<br/>Diferença</b> | <b>Media</b> | <b>Significância</b> |
|--------------------------------------|--------------|----------------------|
| G vs C                               | 6,33         | *                    |
| G vs P                               | 22,33        | *                    |
| C vs P                               | 16           | *                    |

Fonte: Autor, 2024.

Os resultados do teste de Tukey indicam que todas as comparações entre os grupos Gentamicina, Penicilina e Cefotaxima (G, C e P) são estatisticamente significativas. Isso mostra que as médias dos grupos são diferentes entre si, de forma que confirma os dados obtidos através da análise de variância ANOVA.

Tabela 4: Resultado dos valores dos halos

| PRÓPOLIS      |              |       |              |       |               |       |               |
|---------------|--------------|-------|--------------|-------|---------------|-------|---------------|
| S. AUREUS     | REPETIÇÕES   |       |              |       |               |       | TOTAIS (SOMA) |
|               | Placa 1: 25% |       | Placa 2: 75% |       | Placa 3: 100% |       |               |
| TRATAMENTO    | A1           | A2    | A1           | A2    | A1            | A2    |               |
| Própolis 25%  | 10,5<br>9    | 10,59 | 12,29        | 11,34 | 10,31         | 10,31 | 65,43         |
| Própolis 75%  | 18           | 18    | 17           | 15    | 17            | 18    | 103           |
| Própolis 100% | 13           | 16    | 16           | 18    | 14            | 16    | 93,00         |

Fonte: Autor, 2024.

Os resultados do estudo indicam que as própolis exercem uma atividade antimicrobiana significativa contra cepas de *S. aureus*, variando conforme a concentração utilizada. Analisando os valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM), observa-se que o tratamento com 75% de própolis apresentou o maior valor de CIM (17,167 mm), destacando-se como a concentração mais eficaz em inibir o crescimento de *S. aureus*. Embora a concentração de 100% de própolis tenha demonstrado um CIM menor (15,5 mm) em comparação à de 75%, ainda exibiu uma forte atividade antimicrobiana. Em contrapartida, a concentração de 25% apresentou o menor CIM (10,905 mm), indicando uma eficácia antimicrobiana inferior em relação às concentrações mais elevadas.

A soma total dos diâmetros dos halos de inibição corrobora esses achados, com a concentração de 75% atingindo 103 mm, a maior entre todas as concentrações testadas. A concentração de 100% acumulou 93 mm, evidenciando uma atividade significativa, embora inferior à de 75%. A concentração de 25% somou 65,43 mm, reafirmando sua menor eficácia antimicrobiana.

Esses resultados sugerem que a eficácia da própolis como agente antimicrobiano contra *S. aureus* tende a aumentar com a concentração, até certo ponto, sendo a de 75% a mais eficaz no experimento. Esta observação é consistente com a literatura, onde NETO et al. (2017) reportam que as concentrações inibitórias de própolis contra cepas de *S. aureus* variam de 64 µg/mL a ≥1024 µg/mL. Assim, as diferentes concentrações de própolis testadas neste estudo, especialmente a de 75%, estão dentro do intervalo de eficácia reportado.

Além disso, a variação na eficácia entre as concentrações pode ser atribuída à composição química do própolis, que influencia sua atividade antimicrobiana. O própolis é uma mistura complexa de compostos, incluindo flavonoides, ácidos fenólicos e ésteres, conhecidos por suas propriedades antimicrobianas (RIPARI et al., 2023). Portanto, a concentração de 75% pode conter um balanço ótimo desses compostos, resultando em uma atividade antimicrobiana mais eficaz contra *Staphylococcus aureus*.

Em suma, o estudo confirma a potencialidade do própolis como um agente antimicrobiano eficaz contra *S. aureus*, particularmente em concentrações de 75%. A compreensão detalhada desses efeitos é crucial para o desenvolvimento de novos tratamentos baseados em própolis, potencialmente oferecendo uma alternativa viável no combate a infecções bacterianas causadas pela *S.aureus*

Os resultados da ANOVA indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos testados ( $F_{Calc} = 47,30$ ,  $F_{Tab} = 3,5$ ). Isso sugere que pelo menos um dos tratamentos teve um impacto significativamente diferente em relação aos demais na variável medida. A tabela a seguir resume os resultados da ANOVA:

Tabela 5: Resultado da ANOVA

| FONTE DE VARIAÇÕES | GRAU DE LIBERDADE | SOMA DE QUADRADO | QUADRADO MÉDIO | F <sub>Calc</sub> | F <sub>Tab 5%</sub> |
|--------------------|-------------------|------------------|----------------|-------------------|---------------------|
| TRATAMENT<br>O     | 2                 | 126,20           | 63,10          | 47,30             | 3,5                 |
| RESÍDUO            | 19                | 25,35            | 1,33           | -                 | -                   |
| TOTAL              | 17                | 151,55           | -              | -                 | -                   |

Fonte: Autor, 2024.

A variação dentro dos grupos (resíduo) foi relativamente baixa (Soma de Quadrado = 25,35), indicando que a maior parte da variação total observada nos dados pode ser atribuída às diferenças entre os tratamentos. Isso fortalece a confiança na análise, sugerindo que os resultados não são devidos apenas a flutuações aleatórias nos dados, mas sim às diferenças reais entre os tratamentos aplicados.

O Teste de Tukey foi realizado para comparar as médias dos diâmetros dos halos de inibição entre diferentes concentrações de própolis (25%, 75% e 100%). A seguir, os contrastes e suas significâncias são apresentados:

Tabela 6: Teste de Tukey

| Contraste [ Y ] |      |    |
|-----------------|------|----|
| P75% vs P100%   | 1,67 | ND |
| P75% vs P25%    | 6,26 | *  |
| P100% vs P25%   | 4,60 | *  |

Fonte: Autor, 2024.

Os resultados do Teste de Tukey e da ANOVA proporcionam uma compreensão clara da relação entre a concentração de própolis e sua eficácia antimicrobiana contra *S. aureus*. Concentrações de 75% e 100% são significativamente mais eficazes do que a concentração de 25%, mas não há um aumento significativo na eficácia entre as concentrações de 75% e 100%. Isso sugere que uma concentração de 75% é suficiente para maximizar a eficácia antimicrobiana de própolis, conforme corroborado pelos achados de MAIA-ARAÚJO et al. (2011).

## 5.2 *Escherichia coli*

Tabela 7: Resultado dos halos referente aos antibióticos.

| ANTIBIÓTICOS |            |       |       |       |       |       |               |
|--------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|---------------|
| E.COLI       | REPETIÇÕES |       |       |       |       |       | TOTAIS (SOMA) |
|              | P1         |       | P2    |       | P3    |       |               |
| TRATAMENTO   | A1         | A2    | A1    | A2    | A1    | A2    |               |
| Penicilina   | 11,05      | 9,23  | 17,02 | 11,74 | 18,21 | 12,8  | 80,05         |
| Cefotaxima   | 0          | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0             |
| Gentamicina  | 27,67      | 23,38 | 23,44 | 22,17 | 26,2  | 26,21 | 149,07        |

Fonte: Autor, 2024.

Os valores obtidos mostram diferenças marcantes na eficácia dos antibióticos testados contra *E. coli*. A gentamicina apresentou a maior atividade antimicrobiana, com um CIM de aproximadamente 24,85 mm, sugerindo ser a mais eficaz entre os antibióticos testados. A penicilina teve um CIM de aproximadamente 13,34 mm,

indicando uma eficácia moderada contra *E. coli*. Por outro lado, a cefotaxima não apresentou qualquer atividade antimicrobiana, com um CIM de 0 mm, sugerindo resistência total da bactéria a este antibiótico nas condições testadas.

No teste de antibiograma, amostras de *Escherichia coli* que apresentaram halos de inibição inferiores cefotaxima, foram consideradas suspeitas de produzirem Beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) que são enzimas que correspondem a resistência à antibióticos beta-lactâmicos, entre eles a cefotaxima (NCCLS, 2000). Os resultados reforçam a necessidade de monitoramento e controle do uso de antibióticos, destacando a eficácia superior da gentamicina e a preocupação com a resistência observada na cefotaxima.

Tabela 8: Resultado da ANOVA.

| <b>FONTE DE VARIAÇÕES</b> | <b>GRAU DE LIBERDAD E</b> | <b>SOMA DE QUADRADO</b> | <b>QUADRADO MÉDIO</b> | <b>F<sub>Calc</sub></b> | <b>F<sub>Tab 5%</sub></b> |
|---------------------------|---------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------------|
| TRATAMENTO                | 2                         | 1.855,20                | 927,60                | 206,85                  | 3,5                       |
| RESÍDUO                   | 19                        | 85,20                   | 4,48                  | -                       | -                         |
| TOTAL                     | 17                        | 1.940,40                | -                     | -                       | -                         |

Fonte: Autor, 2024.

F<sub>Calc</sub> = 206,85: O valor calculado de F é muito maior que o valor crítico de F (F<sub>Tab</sub>) de 3,5, Isso indica que há uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos. A soma de Quadrado para Tratamento = 1.855,20, a maior parte da variação total é atribuída às diferenças entre os tratamentos. Soma de Quadrado para Resíduo = 85,20 o que significa que a variação dentro dos grupos é relativamente baixa.

Esses resultados sugerem que pelo menos um dos tratamentos teve um impacto significativamente diferente em relação aos demais na inibição do crescimento de *E. coli*.

Os valores da ANOVA indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os antibióticos testados (Penicilina, Cefotaxima e Gentamicina) na inibição do crescimento de *E. coli*. Isso é evidenciado pelo valor de F calculado (F<sub>Calc</sub> = 206,85), que é muito superior ao valor crítico de F (F<sub>Tab</sub> = 3,5) para um nível de significância de 5%.

Tabela 9: Teste de Tukey

| Contraste   Y |       |   |
|---------------|-------|---|
| G vs P        | 11,50 | * |
| G vs C        | 24,85 | * |
| P vs C        | 13,34 | * |

Fonte: Autor, 2024.

Os resultados do Teste de Tukey indicam que todas as comparações entre os antibióticos testados são estatisticamente significativas. Isso mostra que as médias dos diâmetros dos halos de inibição diferem significativamente entre gentamicina, penicilina e cefotaxima. Esses achados são importantes porque demonstram que os tratamentos testados têm impactos distintos na inibição do crescimento de E. coli. No estudo apresentado por ESMERINO et al 2003 já demonstram que entre os antimicrobianos melhor que apresentam sensibilidade foi a gentamicina (96,6%), o que corrobora com os achados do presente estudo.

Tabela 10: Resultado dos Halos Própolis

| PRÓPOLIS      |            |       |        |       |         |       |               |
|---------------|------------|-------|--------|-------|---------|-------|---------------|
| E.COLI        | REPETIÇÕES |       |        |       |         |       | TOTAIS (SOMA) |
|               | P1 25%     |       | P2 75% |       | P3 100% |       |               |
| TRATAMEN TO   | A1         | A2    | A1     | A2    | A1      | A2    |               |
| Própolis 25%  | 0          | 0     | 0      | 0     | 0       | 0     | 0             |
| Própolis 75%  | 27         | 27    | 34,23  | 34,42 | 28,94   | 29,88 | 181,47        |
| Própolis 100% | 29,01      | 29,02 | 25,94  | 20,05 | 23,44   | 31    | 158,46        |

Fonte: Autor, 2024.

Própolis 75%: Com um CIM de aproximadamente 30,25 mm, esta concentração foi a mais eficaz em inibir o crescimento de E. coli. A soma total dos diâmetros dos halos de inibição foi de 181,47 mm. Própolis 100%: Apresentou um CIM de aproximadamente 26,41 mm, indicando uma forte atividade antimicrobiana, embora menor que a concentração de 75%. A soma total dos diâmetros dos halos de inibição foi de 158,46 mm. Própolis 25%: Não apresentou qualquer atividade

antimicrobiana, com um CIM de 0 mm e uma soma total dos diâmetros dos halos de inibição de 0 mm.

| FONTE DE VARIAÇÕES | GRAU DE LIBERDADE | SOMA DE QUADRADO | QUADRADO MÉDIO | F <sub>Calc</sub> | F <sub>Tab 5%</sub> |
|--------------------|-------------------|------------------|----------------|-------------------|---------------------|
| TRATAMENTO         | 2                 | 3.253,91         | 1.626,96       | 220,27            | 3,5                 |
| RESÍDUO            | 19                | 140,34           | 7,39           | -                 | -                   |
| TOTAL              | 17                | 3.394,25         | -              | -                 | -                   |

Fonte: Autor, 2024.

Os resultados obtidos através da ANOVA mostram que  $F_{Calc} = 220,27$ : O valor calculado de F é muito maior que o valor crítico de F ( $F_{Tab}$ ) de 3,5. Isso indica que há uma diferença estatisticamente significativa entre as concentrações de própolis, Soma de Quadrado para Tratamento = 3.253,91: A maior parte da variação total é atribuída às diferenças entre os tratamentos e a Soma de Quadrado para Resíduo = 140,34: A variação dentro dos grupos é relativamente baixa.

Esses resultados sugerem que pelo menos uma das concentrações de própolis teve um impacto significativamente diferente em relação às demais na inibição do crescimento de *E. coli*.

Tabela 11: Teste de Tukey

| Contraste   Y |        |        |
|---------------|--------|--------|
| P75% vs P100% | 3,84   | N<br>D |
| P75% vs P25%  | 30,245 | *      |
| P100% vs P25% | 26,41  | *      |

Fonte: Autor, 2024.

XAVIER et al 2023 em seus resultados confirma a eficácia da própolis vermelha brasileira contra cepas multidroga-resistentes, destacando seu potencial como alvo terapêutico no tratamento adjuvante de infecções bacterianas resistentes a múltiplas drogas. Os resultados deste estudo corroboram esses achados, indicando que a concentração de 75% de própolis é a mais eficaz contra *E. coli*, seguida pela concentração de 100%. A concentração de 25%, por outro lado, não

apresentou atividade antimicrobiana significativa. A análise ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ( $F_{\text{Calc}} = 719,32$ ,  $F_{\text{Tab}} = 3,5$ ), enquanto o Teste de Tukey indicou que as diferenças observadas entre as concentrações são significativas, exceto entre as concentrações de 75% e 100%, que não diferem significativamente.

Esses dados reforçam a eficácia do extrato de própolis vermelha como um potente agente antimicrobiano contra *E. coli*, especialmente em concentrações de 75% e 100%, e apoiam seu uso potencial no tratamento de infecções bacterianas resistentes, alinhando-se com as descobertas de estudos anteriores sobre a eficácia da própolis vermelha.

### 5.3 *Enterococcus faecalis*

Tabela 12: Resultado dos Halos

| ANTIBIÓTICOS       |            |       |       |       |       |       |                  |
|--------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|------------------|
| <i>E. FAECALIS</i> | REPETIÇÕES |       |       |       |       |       | TOTALS<br>(SOMA) |
|                    | P1         |       | P2    |       | P3    |       |                  |
| TRATAMENTO         | A1         | A2    | A1    | A2    | A1    | A2    |                  |
| Penicilina         | 24,25      | 24,26 | 25,21 | 24,24 | 25,23 | 25,2  | 148,39           |
| Cefotaxima         | 35,18      | 35,12 | 32,53 | 32,54 | 39,38 | 39,38 | 214,13           |
| Gentamicina        | 24         | 21,5  | 25,82 | 23    | 20,19 | 23,52 | 138,03           |

Fonte: Autor, 2024

PINTO et al., 2011 verificou em seu estudo relação ao antibiograma, que apenas os antimicrobianos vancomicina e gentamicina 120 foram eficazes em todas as amostras de *E. faecalis*. A gentamicina 10, clindamicina, cefalotina e ciprofloxacina não demonstraram eficácia em nenhuma das amostras testadas. Na presente pesquisa, a penicilina apresenta uma média dos diâmetros dos halos de inibição de 24,73 mm, indicando uma eficácia moderada contra *E. faecalis*. A cefotaxima, por sua vez, mostrou uma média dos diâmetros dos halos de inibição de 35,69 mm, evidenciando a maior eficácia antimicrobiana entre os antibióticos testados. Em contrapartida, a gentamicina apresentou uma média dos diâmetros dos halos de inibição de 23,00 mm, indicando a menor eficácia antimicrobiana entre os três antibióticos avaliados.

Esses resultados reforçam a importância de selecionar adequadamente os antimicrobianos no tratamento de infecções causadas por *E. faecalis*. A alta eficácia da cefotaxima destaca seu potencial como uma opção preferencial de tratamento, enquanto a eficácia moderada da penicilina e a baixa eficácia da gentamicina sugerem a necessidade de considerar alternativas ou combinações terapêuticas para maximizar os resultados clínicos.

Tabela 13: Resultado da ANOVA

| <b>FONTE DE VARIÁVEIS</b> | <b>GRAU DE LIBERDADE</b> | <b>SOMA DE QUADRADO</b> | <b>QUADRADO MÉDIO</b> | <b>F<sub>Calc</sub></b> | <b>F<sub>Tab 5%</sub></b> |
|---------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------------|
| TRATAMENTO                | 2                        | 567,79                  | 283,90                | 78,76                   | 3,5                       |
| RESÍDUO                   | 19                       | 68,49                   | 3,60                  | -                       | -                         |
| TOTAL                     | 17                       | 636,28                  | -                     | -                       | -                         |

Fonte: Autor, 2024

Os resultados da ANOVA mostram uma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos testados ( $F_{Calc} = 78,76$ ,  $F_{Tab} = 3,5$ ), indicando que pelo menos um dos tratamentos teve um impacto significativamente diferente em relação aos demais na inibição do crescimento de *E. faecalis*.

Tabela 14: Teste de Tukey

| <b>Contraste [ Y ]</b> |      |    |
|------------------------|------|----|
| C vs P                 | 11   | *  |
| C vs G                 | 13   | *  |
| P vs G                 | 1,73 | ND |

Fonte: Autor, 2024

Os valores obtidos através do Teste de Tukey indicam que as comparações entre Cefotaxima e Penicilina (C vs P) e entre Cefotaxima e Gentamicina (C vs G) são estatisticamente significativas, sugerindo que a Cefotaxima é mais eficaz que os outros dois antibióticos testados. No entanto, a diferença entre Penicilina e Gentamicina (P vs G) não é estatisticamente significativa (ND), indicando que suas eficácias são semelhantes, atestando assim as informações da ANOVA.

Tabela 15: Resultados dos Halos

| PRÓPOLIS         |            |       |        |       |         |       |                  |
|------------------|------------|-------|--------|-------|---------|-------|------------------|
| E.<br>FAECALIS   | REPETIÇÕES |       |        |       |         |       | TOTAIS<br>(SOMA) |
|                  | P1 25%     |       | P2 75% |       | P3 100% |       |                  |
| TRATAMEN<br>TO   | A1         | A2    | A1     | A2    | A1      | A2    |                  |
| Própolis 25%     | 0          | 0     | 0      | 0     | 0       | 0     | 0                |
| Própolis 75%     | 23,03      | 20,72 | 20,56  | 20,56 | 20      | 20    | 124,87           |
| Própolis<br>100% | 24,75      | 22,32 | 26,88  | 26,88 | 23,07   | 22,76 | 146,66           |

Fonte: Autor, 2024.

Os resultados indicam que a eficácia antimicrobiana do própolis contra *E. faecalis* aumenta com a concentração; A Própolis 25% Não apresentou atividade antimicrobiana detectável, Própolis 75% mostrou uma média de 20,81 mm dos halos de inibição, indicando uma boa eficácia antimicrobiana, Própolis 100% apresentou uma média de 24,44 mm dos halos de inibição, sugerindo uma eficácia antimicrobiana superior às demais. O extrato hidroalcoólico de própolis vermelha foi avaliado quanto à ação antimicrobiana frente ao microrganismo *Enterococcus faecalis* – ATCC 29212. Os resultados das médias dos halos de inibição apresentados por SIQUEIRA et al. (2014) variaram entre 12 e 16 mm, dependendo da concentração do extrato seco de própolis vermelha. Estes resultados indicam a eficácia antimicrobiana do própolis contra o microorganismo.

Comparando com o estudo de PINTO et al. (2011), que avaliou a eficácia de diferentes antimicrobianos contra *E. faecalis*, verificou-se que a cefotaxima apresentou a maior eficácia antimicrobiana, com média de 35,69 mm dos halos de inibição, seguida pela penicilina com 24,73 mm e pela gentamicina com 23,00 mm. Esses resultados sugerem que, embora a própolis vermelha a 100% tenha mostrado uma eficácia antimicrobiana significativa, ela ainda não atinge a eficácia dos antibióticos tradicionais, como a cefotaxima.

Tabela 16: Resultado ANOVA

| <b>FONTE DE VARIÁVEIS</b> | <b>GRAU DE LIBERDADE</b> | <b>SOMA DE QUADRADO</b> | <b>QUADRADO MÉDIO</b> | <b>F<sub>Calc</sub></b> | <b>F<sub>Tab 5%</sub></b> |
|---------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------------|
| TRATAMENTO                | 2                        | 2.087,58                | 1.043,79              | 719,32                  | 3,5                       |
| RESÍDUO                   | 19                       | 27,57                   | 1,45                  | -                       | -                         |
| TOTAL                     | 17                       | 2.115,15                | -                     | -                       | -                         |

Fonte: Autor, 2024.

A ANOVA demonstra claramente que as diferentes concentrações de própolis têm efeitos significativamente distintos na inibição do crescimento de *E. faecalis*. A elevada significância estatística ( $F_{Calc} = 719,32$ , muito superior a  $F_{Tab} = 3,5$ ) indica que a eficácia dos tratamentos não é devido ao acaso, mas sim às propriedades inerentes das diferentes concentrações de própolis. Esses resultados são fundamentais para direcionar o uso de própolis como um agente antimicrobiano, sugerindo que concentrações mais altas podem ser mais eficazes na inibição de *E. faecalis*.

Tabela 17: Teste de Tukey

| <b>Contraste [ Y ]</b> |       |   |
|------------------------|-------|---|
| P100% vs P75%          | 3,63  | * |
| P100% vs P25%          | 24,44 | * |
| P75% vs P25%           | 20,81 | * |

Fonte: Autor, 2024.

Os resultados do Teste de Tukey indicam que todas as comparações entre as concentrações de própolis são estatisticamente significativas, destacando a eficácia variável das diferentes concentrações. A concentração de própolis a 100% demonstrou ser a mais eficaz, seguida pela concentração a 75%, com a concentração a 25% sendo a menos eficaz.

## **6. CONCLUSÃO:**

A pesquisa conclui que a própolis vermelha, especialmente nas concentrações de 75% e 100%, apresenta uma atividade antimicrobiana significativa contra *E. coli*, *S. aureus*, e *E. faecalis*. A concentração de 75% de própolis foi consistentemente eficaz, indicando seu potencial como agente antimicrobiano. No entanto, quando comparada com antibióticos convencionais como a cefotaxima, a própolis ainda mostra uma eficácia inferior, particularmente contra *E. faecalis*. Portanto, embora a própolis vermelha seja promissora, mais estudos são necessários para confirmar sua aplicação clínica, possivelmente como um tratamento adjuvante para infecções bacterianas multidroga-resistentes.

Esses achados destacam a importância da pesquisa contínua para explorar e validar o uso da própolis vermelha como um potencial agente antimicrobiano, especialmente em um contexto onde a resistência aos antibióticos é uma preocupação crescente.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, O.; ESMAT, A.; ALI, M. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 98, p. 469-483, 2018.
- ALGHAMDI, F.; SHAKIR, M. The Influence of *Enterococcus faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus*, v. 12, n. 3, p. e7257, 2020. DOI: 10.7759/cureus.7257. PMID: 32292671; PMCID: PMC7152576.
- ANDRADE, J.K.S.; DENADAI, M.; OLIVEIRA, C.S.; NUNES, M.L.; NARAIN, N. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. *Food Research International*, v. 101, p. 129-138, 2017.
- ARIAS, Cesar A.; MURRAY, Barbara E. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century—a clinical super-challenge. *New England Journal of Medicine*, v. 360, n. 5, p. 439-443, 2009.
- ASLAM, B.; WANG, W.; ARSHAD, M. I.; KHURSHID, M.; MUZAMMIL, S.; RASOOL, M. H.; NISAR, M. A.; ALVI, R. F.; ASLAM, M. A.; QAMAR, M. U.; SALAMAT, M. K. F.; BALOCH, Z. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *\*DR*, v. 11, p. 1645-1658, 2018. DOI: 10.2147/IDR.S173867.
- BASTOS, Esther Margarida A. F., et al. In vitro study of the antimicrobial activity of Brazilian propolis against *Paenibacillus larvae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 97, n. 3, p. 273-281, 2008. DOI: 10.1016/j.jip.2007.10.007.
- BEGANOVIC, Maya; LUTHER, Megan K.; RICE, Louis B.; ARIAS, Cesar A.; RYBAK, Michael J.; LAPLANTE, Kerry L. A review of combination antimicrobial therapy for *Enterococcus faecalis* bloodstream infections and infective endocarditis. *Clinical Infectious Diseases*, v. 67, n. 2, p. 303-309, 2018. DOI: 10.1093/cid/ciy064.
- BOLOCAN, A. S.; UPADRASTA, A.; DE ALMEIDA BETTIO, P. H.; CLOONEY, A. G.; DRAPER, L. A.; ROSS, R. P.; HILL, C. Evaluation of phage therapy in the context of *Enterococcus faecalis* and its associated diseases. *Viruses*, v. 11, n. 4, p. 366, 2019. DOI: 10.3390/v11040366.
- BOONYASIRI, A.; TANGKOSKUL, T.; SEENAMA, C.; SAIYARIN, J.; TIENGRIM, S.; THAMLIKITKUL, V. Prevalence of antibiotic-resistant bacteria in healthy adults, foods, food animals, and the environment in selected areas in Thailand. *Pathogens and Global Health*, v. 108, n. 5, p. 235-245, 2014. DOI: 10.1179/2047773214Y.000000014825146935.
- BOURRILLON, A., et al. Antibiothérapie et pullulation microbienne intestinale et risque infectieux chez l'enfant. *Archives Francaises de Pédiatrie*, v. 35, n. 10 Supl., p. 23-37, 1978.
- BRANDL, K.; PLITAS, G.; MIHU, C. N.; et al. Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits. *Nature*, v. 455, n. 7214, p. 804, 2008. DOI: 10.1038/nature0727018724361.

BRAZ, Vânia Santos; MELCHIOR, Karine; MOREIRA, Cristiano Gallina. Escherichia coli as a multifaceted pathogenic and versatile bacterium. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 10, p. 548492, 2020.

BUENO-SILVA, B.; DIONE KAWAMOTO, D.; ANDO-SUGUIMOTO, E.S.; CASARIN, R.C.V.; ALENCAR, S.M.; ROSALEN, P.L.; MAYER, M.P.A. Brazilian red propolis effects on peritoneal macrophage activity: Nitric oxide, cell viability, pro-inflammatory cytokines and gene expression. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 207, p. 100-107, 2017.

CASTALDO, S.; CAPASSO, F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, v. 73, Supl. 1, p. S1-S6, nov. 2002. DOI: 10.1016/s0367-326x(02)00185-5.

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S.; OTTO, M. Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus. *Microbiology Journal*, p. 547-569, 2021. Received on Sep 12, 2020. Accepted on Jan 15, 2021. Published online on Jan 31, 2021.

DE MENDONÇA, I.C.G.; et al. Brazilian red propolis: phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 15, p. 357, 2015.

DENAMUR, E., et al. The population genetics of pathogenic Escherichia coli. *Nature Reviews Microbiology*, 2020. DOI: 10.1038/s41579-020-0416-x.

DEVEQUI-NUNES, D.; MACHADO, B. A. S.; BARRETO, G. D. A.; REBOUÇAS SILVA, J.; DA SILVA, D. F.; DA ROCHA, J. L. C.; et al. Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. *PLoS One*, v. 13, n. 12, e0207676, 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0207676.

EJRNÆS, K. Bacterial characteristics of importance for recurrent urinary tract infections caused by Escherichia coli. *Danish Medical Bulletin*, v. 58, n. 4, p. B4187, 2011. PMID: 21466767.

ERDEM, Hakan, et al. \*\* War and infection in the pre-antibiotic era: the Third Ottoman Army in 1915. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, v. 43, n. 9, p. 690-695, 2011.

ESMERINO, Luís Antônio; GONÇALVES, Lilian Garcia; SCHELESKY, Meri Elen. Perfil de sensibilidade antimicrobiana de cepas Escherichia coli isoladas de infecções urinárias comunitárias (Antimicrobial Sensitivity Profile of Escherichia coli Strains Isolated from Community Urinary Infections). Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG, 2003.

FIORE, Elizabeth; VAN TYNE, Daria; GILMORE, Michael S. Pathogenicity of enterococci. *Microbiology Spectrum*, v. 7, n. 4, p. 7.4.9, 2019.

GARCÍA-SOLACHE, Mónica; RICE, Louis B. The Enterococcus: a model of adaptability to its environment. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 32, n. 2, p. 10.1128/cmr.00058-18, 2019.

GARDETE, Susana, et al. Mechanisms of vancomycin resistance in Staphylococcus aureus. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 124, n. 7, p. 2836-2840, 2014.

GUO, Y., et al. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in Staphylococcus aureus. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 10, p. 107, 2020. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.00107/full>>.

HARADA, D.; et al. Change in genotype of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) affects the antibiogram of hospital-acquired MRSA. *Journal of Infection and Chemotherapy*, p. 1-7, 2018.

HASHEMI, B.; ABDOLLAHI, M.; RAFIEI, A.; PORMOHAMMAD, A.; AHANJAN, M.; MOGHADASZADEH, M.; RASHIDIAN, S. The comparison of MAMA PCR and SSCP PCR to study chromosomal resistance against Ciprofloxacin and Nalidixic acid in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. *\*Microbial Pathogenesis\**, v. 120, p. 181-186, 2018.

HO, C.; LAU, A.; CIMON, K.; FARRAH, K.; GARDAM, M. Screening, isolation, and decolonization strategies for vancomycin-resistant enterococci or extended spectrum beta-lactamase-producing organisms: a systematic review of the clinical evidence and health services impact. *CADTH Technology Overviews*, v. 3, n. 1, 2013.

HUMPHREYS, H. Staphylococcus aureus: The enduring pathogen in surgery. *The Surgeon*, v. 10, n. 6, p. 357-360, 2012. DOI: 10.1016/j.surge.2012.05.003.

JONES, R. N.; SADER, H. S.; FRITSCH, T. R.; POTTUMARTHY, S. Comparisons of parenteral broad-spectrum cephalosporins tested against bacterial isolates from pediatric patients: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1998-2004). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 57, p. 109-116, 2007. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2006.06.011.

KAO, Patrick Hsien Neng; KLINE, Kimberly A. Dr. Jekyll and Mr. Hide: how Enterococcus faecalis subverts the host immune response to cause infection. *Journal of Molecular Biology*, v. 431, n. 16, p. 2932-2945, 2019.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. Pathogenic Escherichia coli. *\*Nature Reviews Microbiology\**, v. 2, n. 2, p. 123-140, 2004. DOI: 10.1038/nrmicro818. PMID: 15040260.

KIMBERLIN, D. W.; BRADY, M. T.; JACKSON, M. A. Group A Streptococcal Infections. *American Academy of Pediatrics\**, Itasca, IL, USA, 2015. pp. 732-744.

KLEIN, E. Y., et al. Trends in methicillin-resistant Staphylococcus aureus hospitalizations in the United States, 2010–2014. *Clinical Infectious Diseases*, v. 65, p. 1921-1923, 2017. DOI: 10.1093/cid/cix640.

KRAWCZYK, B.; WITYK, P.; GAŁĘCKA, M.; MICHALIK, M. The many faces of Enterococcus spp. -- Commensal, probiotic and opportunistic pathogen. *Microorganisms*, v. 9, n. 9, p. 1900, 2021.

KUROPATNICKI, A. K.; SZLISZKA, E.; KROL, W. Historical Aspects of Propolis Research in Modern Times. abr. 2013. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/964149/#abstract>>. Acesso em: 5 dez. 2023.

LEBRETON, F.; VAN SCHAİK, W.; MANSON MCGUIRE, A.; et al. Emergence of epidemic multidrug-resistant *Enterococcus faecium* from animal and commensal strains. *mBio*, v. 4, n. 4, p. e00534-13, 2013.

LIU, Y-Y., et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *\*The Lancet Infectious Diseases\**, v. 16, p. 161-168, 2016.

LÓPEZ, B. G. C.; SCHMIDT, E. M.; EBERLIN, M. N.; SAWAYA, A. C. H. F. Phytochemical markers of different types of red propolis. *Food Chemistry*, v. 146, p. 174-180, 2014.

LUSTOSA, Sarah R., et al. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. *Revista Brasileira de Farmacognosia [online]*, v. 18, n. 3, p. 447-454, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000300020>>. Acesso em: 9 jun. 2022.

MACCALLUM, William G.; HASTINGS, Thomas W. A case of acute endocarditis caused by *Micrococcus zymogenes* (nov. spec.), with a description of the microorganism. *The Journal of Experimental Medicine*, v. 4, n. 5-6, p. 521-534, 1899.

MACHADO, B. A. S.; SILVA, R. P. D.; BARRETO, G. A.; COSTA, S. S.; SILVA, D. F.; BRANDÃO, H. F.; ROCHA, J. L. C.; DELLAGOSTIN, O. A.; HENRIQUES, J. A. P.; UMSZAGUEZ, M. A.; et al. Chemical composition and biological activity of extracts obtained by supercritical extraction and ethanolic extraction of brown, green and red propolis derived from different geographic regions in Brazil. *PLoS One*, v. 11, e145954, 2016.

MAIA-ARAÚJO, Y.L.F.; MENDONÇA, L.S.; ORELLANA, S.C.; ARAUJO, E.D. Comparação entre duas técnicas utilizadas no teste de sensibilidade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. *Scientia Plena*, v. 7, n. 4, p. 046201-1, 2011.

MARTINOTTI, S.; RANZATO, E. Propolis: A new frontier for wound healing? *International Journal of Burns and Trauma*, v. 3, p. 9, 2015.

NAKAMURA, R.; WATANABE, K.; OKA, K.; OHTA, S.; MISHIMA, S.; TESHIMA, R. Effects of propolis from different areas on mast cell degranulation and identification of the effective components in propolis. *International Immunopharmacology*, v. 10, p. 1107-1112, 2010.

NASCIMENTO, T.G.; ARRUDA, R.E.S.; ALMEIDA, E.T.C.; OLIVEIRA, J.M.S.; BASÍLIO-JUNIOR, I.D.; PORTO, I.C.C.M.; SABINO, A.R.; TONHOLO, J.; GRAY, A.; EBEL, R.E. Comprehensive multivariate correlations between climatic effect, metabolite-profile, antioxidant capacity and antibacterial activity of Brazilian red propolis metabolites during seasonal study. *Scientific Reports*, v. 9, p. 1-16, 2019.

NASCIMENTO, T.G.; SILVA, A.S.; CONSTANT, P.B.L.; SILVA, S.A.S.; MOURA, M.A.B.F.; ALMEIDA, C.P.; SILVA, V.C.; WANDERLEY, A.B.; BASÍLIO-JUNIOR, I.D.; ESCODRO, P.B. Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of some commercial extracts of propolis. *Journal of Apicultural Research*, v. 57, p. 246-254, 2018.

NCCLS (NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twelfth informational supplement. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2000.

PACKER, Janaina F.; LUZ, Marisa M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. *Revista Brasileira de Farmacognosia [online]*, v. 17, n. 1, p. 102-107, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000300020>>. Acesso em: 9 jun. 2022.

PENG, Z.; WANG, X.; HUANG, J.; LI, B. Pathogenic *Escherichia coli*. Disponível online em 24 de novembro de 2023, versão do registro em 24 de novembro de 2023. DOI: 10.1016/B978-0-12-818619-0.00069-1.

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

PICOLOTTO, A.; PERGHER, D.; PEREIRA, G. P.; MACHADO, K. G.; DA SILVA BARUD, H.; ROESCH-ELY, M.; MOURA, S. Bacterial cellulose membrane associated with red propolis as phytomodulator: Improved healing effects in experimental models of diabetes mellitus. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 112, p. 108640, 2019.

PINTO, W. A.; FILHO, E. P.; PARREIRA, M. L. J.; CHAVASCO, J. K. Ocorrência de *Enterococcus faecalis* em infecções pulpares e avaliação da sensibilidade a antimicrobianos. *Scientia Plena*, v. 7, n. 4, p. 1-5, 2011. Disponível em: <[www.scientiaplena.org.br](http://www.scientiaplena.org.br)>.

REGUEIRA NETO, M.S.; TINTINO, S.R.; DA SILVA, A.R.P.; COSTA, M.S.; BOLIGON, A.A.; MATIAS, E.F.F.; BALBINO, V.Q.; MENEZES, I.R.A.; COUTINHO, H.D.C. Seasonal variation of Brazilian red propolis: Antibacterial activity, synergistic effect and phytochemical screening. *Food and Chemical Toxicology*, v. 107, p. 572-580, 2017.

REGUEIRA-NETO, M. da S.; TINTINO, S. R.; ROLÓN, M.; CORONAL, C.; VEGA, M. C.; DE QUEIROZ BALBINO, V.; et al. Antitrypanosomal, antileishmanial and cytotoxic activities of Brazilian red propolis and plant resin of *Dalbergia ecastaphyllum* (L) Taub. *Food and Chemical Toxicology*, v. 118, p. 462-468, 2018. DOI: 10.1016/j.fct.2018.01.041. PMID: 29665415.

RIPARI, N.; et al. Brazilian red propolis in combination with  $\beta$ -lactams exerts an efficient antibacterial action over methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains. *Journal of Applied Microbiology*, v. 134, n. 2, p. 1xac080, 2023.

RUFATTO, L. C.; DOS SANTOS, D. A.; MARINHO, F.; HENRIQUES, J. A. P.; ROESCH ELY, M.; MOURA, S.\*\* Red propolis: chemical composition and pharmacological activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 7, p. 591-598, 2017.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F. Brazilian red propolis: legitimate name of the plant resin source. *MOJ Food Process Technology*, v. 6, p. 1-10, 2018.

SANTOS, André Luis dos, et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial [online]*, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1676-24442007000600005>>. Acesso em: 9 jun. 2022.

SILVA, R. P. D.; MACHADO, B. A. S.; DE BARRETO, G. A.; COSTA, S. S.; ANDRADE, L. N.; AMARAL, R. G.; et al. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. *\*PLoS One\**, v. 12, e0172585, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0172585. PMID: 28358806.

SIQUEIRA, A. L., et al. Estudo da ação antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha sobre *Enterococcus faecalis*. *Revista de Odontologia da UNESP*, v. 43, n. 6, p. 359–366, nov. 2014.

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

WERNERSSON, S.; PEJLER, G. Mast cell secretory granules: Armed for battle. *Nature Reviews Immunology*, v. 14, p. 478-494, 2014.

WU, D.; DING, Y.; YAO, K.; GAO, W.; WANG, Y. Antimicrobial resistance analysis of clinical *Escherichia coli* isolates in neonatal wards. *Frontiers in Pediatrics*, v. 9, p. 670470, 2021.

XAVIER, A.L.; SILVA, N.C.O.; SOARES, R.R.; ABREU, S.; DE ARAÚJO, E.A.; OLIVEIRA JÚNIOR, J.B.; SIQUEIRA, A.B.S. Atividade antibacteriana do extrato etanólico da própolis vermelha brasileira contra bactérias produtoras de  $\beta$ -lactamase e carbapenemase de espectro estendido multidroga-resistentes. *Scientia Plena*, v. 19, n. 4, 2023. DOI: 10.14808/sci.plena.2023.044501. Disponível em: <https://www.scientiaplenu.org.br/sp/article/view/6902>. Acesso em: 17 mai. 2024.

YANG, D.; PARK, S. Y.; PARK, Y. S.; EUN, H.; LEE, S. Y. Metabolic Engineering of *Escherichia coli* for Natural Product Biosynthesis. *Trends in Biotechnology*, v. 38, n. 7, p. 745-765, 2020. DOI: 10.1016/j.tibtech.2019.11.007. Epub 2020 Jan 7. PMID: 31924345.

ZINNER, S.H.; et al. Predicting antibiotic combination effects on the selection of resistant *Staphylococcus aureus*: in vitro model studies with linezolid and gentamicin. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 52, n. 6, p. 854-860, 2018.