

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONÓIDES E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO ETANÓLICO DA CERA DE *Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*

Josivânia Teixeira de Sousa¹, Zildene de Sousa Silveira², Cristina Rodrigues dos Santos Barbosa³, Antonio Henrique Bezerra⁴, Thaís Ferreira da Silva⁵, Tania Maria Sarmento da Silva⁶, Amanda Lins Bispo Monteiro⁷, Gabriel Gonçalves Alencar⁸, Francisco Assis Bezerra da Cunha⁹

Resumo: A resistência bacteriana é um sério problema de saúde pública, que levou a buscar novas alternativas com potencial antibacteriano, como a cera da abelha *Scaptotrigona depilis*, que tem propriedades antimicrobianas. O objetivo deste trabalho foi determinar o conteúdo de fenóis e flavonoides, bem como avaliar a atividade antibacteriana do extrato etanólico da cera de *S. depilis* (EECSd), e seu efeito associado a antibióticos. Os fenólicos foram quantificados com o reagente Folin-Ciocalteu, expressos em mgEAG/g. Os flavonoides foram medidos com cloreto de alumínio e comparados a uma curva de quercetina, em mgEQ/g. A concentração inibitória mínima e a atividade modificadora dos antibióticos foram avaliadas por microdiluição em caldo. O EECSd apresentou teores de fenólicos e flavonoides de 16,825 EAG/g e 4,647 EQ/g, respectivamente. Os resultados demonstraram que não houve atividade antibacteriana direta contra cepas multirresistentes. No entanto, o EECSd apresentou atividade antibacteriana sobre as cepas *S. aureus* (ATCC 25923) e *E. coli* (ATCC 25922). Assim como uma redução significativa direta da CIM *S. aureus* quando o EECSd foi associado a norfloxacin.

Palavras-Chave: Abelhas sem ferrão. Terapia combinada. Compostos fenólicos.

1. Introdução

As abelhas sem ferrão pertencem a Tribo Meliponini e a família Apidae, sendo denominadas abelhas sem ferrão devido a atrofia do seu aparelho de picada (Teixeira *et al.*, 2020). Este grupo abrange mais de 600 espécies e 58 gêneros, distribuídos nas regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo (de Sousa Silveira *et al.*, 2024).

Essas abelhas exercem um papel crucial na polinização de uma grande diversidade de plantas nativas e espécies cultiváveis de valor econômico nos locais onde ocorrem (da Silva Gonçalves; Estolano; de Sousa Antunes, 2023).

1 Universidade Regional do Cariri, email: josivania.sousa@urca.br; zildene.sousa@urca.br; cristinase75@gmail.com; henriquebezerra.urca@gmail.com; thais.ferreira@urca.br; gabriel.goncalves101@urca.br; cunha.urca@gmail.com

2 Universidade Federal Rural do Pernambuco, email: tania.sarmento@ufrpe.br; amanda.bispo@ufrpe.br

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

Dentre as mais de 250 espécies descritas no Brasil, está *Scaptotrigona depilis*, comumente conhecida como "abelha-canudo" (Piccinini *et al.*, 2021).

Essa espécie é amplamente utilizada na meliponicultura devido sua alta produtividade de mel, própolis, geoprópolis, cerúmen e cera, sendo esse último um material multicomponente utilizado na confecção do potes que protege a ninhada ao longo do seu desenvolvimento, no armazenamento de alimentos, apresentando também propriedades termorreguladoras (Buchwald; Breed; Greenberg, 2008).

Os bioprodutos de *S. depilis* possuem propriedades biológicas, como atividades antibacteriana, antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, antitumoral e antifúngica, tornando-os valiosos para meliponicultura e aplicações terapêuticas, com potencial para a saúde humana e animal (de Sousa Silveira *et al.*, 2024).

Embora estudos anteriores já tenham avaliado a atividade antibacteriana dos produtos de *S. depilis*, há uma lacuna específica sobre a cera. Este estudo visa avaliar sua atividade, considerando a relevância dos produtos naturais como adjuvantes no combate à resistência bacteriana (Oliveira *et al.*, 2024).

2. Objetivo

Avaliar o teor de fenólicos e flavonoides do extrato etanólico da cera de *S. depilis*, bem como, atividade antibacteriana e sua capacidade modificadora da resistência bacteriana sobre cepas padrão e multirresistentes de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*.

3. Metodologia

3.1 Coleta e Preparação dos extratos

A amostra da cera de *S. depilis* foi coletada em agosto de 2022 no município de Crato, Ceará, Brasil. A amostra foi triturada manualmente e submersa em etanol a 99,5° por 72 horas. Após a filtração, o solvente foi destilado em um evaporador rotativo a vácuo, e o extrato bruto resultante foi concentrado em banho-maria para remoção do excesso de solvente. Este estudo foi registrado e autorizado pelo Sistema de Informação e Autorização da Biodiversidade (SISBio), sob o número 85029. O extrato etanólico da cera de *S. depilis* foi denominado EECSd.

3.1.2 Determinação do Teor Fenólicos Totais dos extratos de *Scaptotrigona depilis*

Para quantificar fenólicos totais, usou-se uma metodologia de Slinkard e Singleton, (1977). Amostras foram solubilizadas em etanol (5 mg/mL) e misturadas com reagente Folin-Ciocalteu, água destilada e solução de Na₂CO₃. Após 2 horas, a absorbância foi medida a 760 nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos como mg equivalente a ácido gálico (EAG)/g da amostra, comparando com uma curva de calibração.

3.1.3 Determinação do teor de flavonoides dos extratos de *S. depilis*

Para determinar o teor de flavonoides, foi utilizada uma metodologia de Woisky e Salatino (1998) com quercetina como padrão. Amostras (50 µL a 5 mg/mL) foram misturadas com metanol e cloreto de alumínio, deixadas na luz por 30 minutos, e a absorbância foi medida a 425 nm. Os resultados foram

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

expressos como mg equivalente a quercetina por grama de extrato (mg EQ/g), utilizando uma curva de calibração.

3.3 Avaliação da atividade antibacteriana

3.3.1 Estirpes bacterianas, Meios de Cultura e Substâncias

Foram utilizadas cepas padrão de *S. aureus* (ATCC 25923), *P. aeruginosa* (ATCC 9027) e *E. coli* (ATCC 25922) e cepas multirresistentes de *S. aureus* 10, *P. aeruginosa* 24 e *E. coli* 06. Os testes microbiológicos foram realizados utilizando BHI ágar e BHI caldo, preparados conforme as instruções do fabricante.

Os antibióticos gentamicina, norfloxacin e ampicilina, bem como o EECSd (10 mg) foram dissolvidos em 0,5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) e água destilada esterilizada até atingir a concentração de 1024 µg/mL.

3.2.2. Avaliação da Atividade de Modificação do Efeito dos Antibióticos

A determinação da CIM (Concentração Inibitória Mínima) do extrato foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, adaptado de Javadpour *et al.*, (1996). As cepas padrão e multirresistentes foram semeadas 24 horas antes dos experimentos. O inóculo bacteriano foi ajustado para 0,5 na escala de McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Os microtubos foram preenchidos com BHI (900 µL) e inóculo (100 µL), e as placas foram preenchidas com a solução final em diluições seriadas nas concentrações de 512 µg/mL a 8 µg/mL. Para o controle negativo utilizou-se apenas meio de cultura e inóculo bacteriano. Após 24 horas de incubação, 20 µL de resazurina foram adicionados para leitura. A CIM foi definida como a menor concentração sem crescimento observado (Andrews, 2001). Os testes foram realizados em triplicata.

O aumento da atividade antibiótica do extrato foi avaliado pela modificação das CIMs de gentamicina, norfloxacin e ampicilina contra cepas multirresistentes de *P. aeruginosa* 24, *E. coli* 06 e *S. aureus* 10. Os antibióticos foram combinados com extrato etanólico da cera de *S. depilis* (EECSd) em concentração subinibitória (CIM/8) (Coutinho *et al.*, 2008).

4 Resultados

As análises para o teor de fenólicos e flavonoides demonstraram que o EECSd apresentou valores de 16,825 EAG/g da amostra e 4,647 mg EQ/g da amostra, respectivamente. Entretanto, Koru *et al.*, (2024), encontrou um valor inferior de teor fenólico para o extrato etanólico da própolis, de 8,59 EAG/g.

A partir da avaliação da atividade antibacteriana intrínseca do EECSd obteve-se um valor de CIM de ≥ 1024 µg/mL para todas as cepas multirresistentes avaliadas e para a cepa padrão de *P. aeruginosa*, demonstrando que não houve atividade antibacteriana direta para essas cepas. Já para as cepas padrões de *S. aureus* (ATCC 25923) e *E. coli* (ATCC 25922) observou-se valores de CIM de 406,37 e 32 µg/mL, respectivamente.

Já os resultados da associação do EECSd com os antibióticos demonstraram que para *S. aureus* houve uma redução da CIM de 256 para 128 µg/mL quando o EECSd foi combinado a norfloxacin. Enquanto para a gentamicina houve um aumento da CIM de 8,87 para 17,95 µg/mL e para a ampicilina os dados não

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

diferiram do controle do antibiótico. Para a cepa *P. aeruginosa* os resultados não diferiram do controle de nenhum dos antibióticos testados. Já os dados para *E. coli* indicaram um aumento da CIM dos antibióticos norfloxacin e gentamicina quando em associação com o EECSd. Entretanto, para a ampicilina os resultados não diferiram do controle.

Embora não tenham sido verificados estudos na literatura que avaliaram a CIM e a atividade de associação antibiótica do extrato da cera de *S. depilis* sobre cepas padrão e multirresistentes. Alguns trabalhos avaliaram outros produtos derivados dessas abelhas, como o estudo conduzido por Costa dos Santos *et al.*, (2023), onde foi verificado que o extrato de acetato de etila da geoprópolis de *S. depilis*, apresentou uma CIM de $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ para as mesmas cepas padrão e multirresistentes de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli* avaliadas nesse estudo. Além disso, o extrato de acetato de etila da geoprópolis também potencializou o efeito da ampicilina sobre *S. aureus*, da Norfloxacin sobre *E. coli* e da gentamicina sobre *P. aeruginosa*.

Já o estudo realizado por Campos *et al.*, (2023), mostrou que o extrato etanólico da própolis de *S. depilis* obtiveram valores de CIM de 1,67; 3,50 e 6,83 $\mu\text{g/mL}$ em cepas padrões de *S. aureus* (ATCC 6538), *E. coli* (ATCC 29998) e *P. aeruginosa* (ATCC 15442).

5 Conclusão

O presente estudo demonstrou que o extrato etanólico da cera de *S. depilis* (EECSd) apresentou teores de compostos fenólicos e flavonoides de 16,825 EAG/g e 4,647 EQ/g, respectivamente. Já os resultados da atividade antibacteriana, demonstraram que não houve atividade antibacteriana direta contra cepas multirresistentes avaliadas. No entanto, o EECSd apresentou atividade antibacteriana direta sobre *S. aureus* (ATCC 6538), *E. coli* (ATCC 29998). Além disso, uma redução significativa foi observada quando o EECSd foi associado a norfloxacin sobre *S. aureus*.

6 Agradecimentos

Agradecemos o apoio concedido ao projeto PDJ 2023 - Chamada CNPq Nº 32/2023 - Pós-Doutorado Júnior, processo 172358/2023-0 e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico BP5-0197-00174.01.00/22 EDITAL/CHAMADA: BOLSA DE PRODUTIVIDADE EM PESQUISA, ESTÍMULO À INTERIORIZAÇÃO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA – BPI 04/2022.

7 Referências

ANDREWS, Jennifer M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [s. l.], v. 48, n. suppl_1, p. 5–16, 2001. Disponível em: https://academic.oup.com/jac/article/48/suppl_1/5/2473513.

BONAMIGO, Thaliny *et al.* Antioxidant, Cytotoxic, and Toxic Activities of Propolis from Two Native Bees in Brazil: *Scaptotrigona depilis* and *Melipona quadrfasciata* anthidioides. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2017, 2017.

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

BUCHWALD, Robert; BREED, Michael D.; GREENBERG, Alan R. The thermal properties of beeswaxes: Unexpected findings. **Journal of Experimental Biology**, [s. l.], v. 211, n. 1, p. 121–127, 2008.

CAMPOS, Jaqueline Ferreira *et al.* Antimicrobial Activity of Propolis from the Brazilian Stingless Bees *Melipona quadrifasciata* anthidioides and *Scaptotrigona depilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **Microorganisms**, [s. l.], v. 11, n. 1, 2023.

COSTA DOS SANTOS, Danilo *et al.* Antibacterial and Toxic Activity of Geopropolis Extracts from *Melipona subnitida* (Ducke, 1910) (Hymenoptera: Apidae) and *Scaptotrigona depilis* (Moure, 1942) (Hymenoptera: Apidae). **Chemistry & Biodiversity**, [s. l.], v. 20, n. 11, p. 1–9, 2023. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cbdv.202300931>.

COUTINHO, Henrique D.M. *et al.* Enhancement of the Antibiotic Activity against a Multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and Chlorpromazine. **Chemotherapy**, [s. l.], v. 54, n. 4, p. 328–330, 2008. Disponível em: <https://karger.com/CHE/article/doi/10.1159/000151267>.

DA SILVA GONÇALVES, João Felipe; ESTOLANO, Lilian Couto Cordeiro; DE SOUSA ANTUNES, Luiz Fernando. A Importância da Meliponicultura nos Centros Urbanos como Ferramenta para a Educação Ambiental. **Fronteiras**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 191–201, 2023.

DE SOUSA SILVEIRA, Zildene *et al.* Chemical Profile and Biological Potential of *Scaptotrigona* Bee Products (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): An Review. **Chemistry and Biodiversity**, [s. l.], v. 21, n. 4, 2024.

JAVADPOUR, Maryam M. *et al.* De Novo Antimicrobial Peptides with Low Mammalian Cell Toxicity. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 39, n. 16, p. 3107–3113, 1996. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691520305810>.

KORU, Özgür *et al.* Evaluation of antimicrobial efficacy and phenolic compound profiles in geopropolis samples from bolivia and venezuela. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 215–222, 2024.

LOPES, Alberto Jorge Oliveira *et al.* Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity of Pollen Extract Collected by *Scaptotrigona affinis postica*: in silico, in vitro, and in vivo Studies. **Antioxidants**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 103, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/2/103>.

OLIVEIRA, Francinete Sousa de *et al.* AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA “IN VITRO” DE EXTRATOS VEGETAIS DE BRIÓFITAS CONTRA MICRORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 5–5, 2024.

PICCININI, Alexandre *et al.* Bioactive compounds and antiradical activity of propolis from *Scaptotrigona bipunctata* and *Scaptotrigona depilis*. **Brazilian Journal of Health Review**, [s. l.], p. 28084–28092, 2021.

SLINKARD, Karen; SINGLETON, Vernon L. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. **American Journal of Enology and Viticulture**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 49–55, 1977. Disponível em:

TEIXEIRA, Érica Weinstein *et al.* European Foulbrood in stingless bees (Apidae: Meliponini) in Brazil: Old disease, renewed threat. **Journal of Invertebrate Pathology**, [s. l.], v. 172, n. March, 2020.

WOISKY, Ricardo G; SALATINO, Antonio. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 99–105, 1998.