

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DA PRÓPOLIS PRODUZIDA NO ESTADO DO TOCANTINS

Débora Rosa Portilho¹, Iangla Araújo de Melo², Ricardo Consiglierio Guerra³,
Hebert Lima Batista⁴, Cláudio Henrique Clemente Fernandes⁵

A própolis é uma resina coletada de várias espécies vegetais e que sofre adição de secreções de abelhas da espécie *Apis mellifera*. As características físicas e composição desta resina são intensamente influenciadas pelas variações ambientais. Os objetivos do trabalho foram analisar a produtividade da própolis pelo sistema de Coleta de Própolis Inteligente (CPI); avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica da própolis produzida no estado do Tocantins (TO) e comparar os resultados com antibióticos e antifúngicos de uso comum. A produção de própolis sem uso de CPI foi em média foi de 20.315g (CV:55.53%) e a com uso de CPI - 50.567g(CV:89.87%). A própolis produzida no TO possui atividade antibacteriana principalmente para as bactérias gram-negativas (*Salmonella* e *E.coli*) e das bactérias gram-positivas, *S. epidermidis* apresentou melhor atividade que a *S. aureus*. Na análise de ANOVA ($P < 0,05$ e I.C.:95%) as própolis de Aragominas para *S. epidermidis* e de Entre Rios para *Salmonella* spp., obtiveram maiores halos de inibição, sendo mais efetivos estatisticamente. A atividade antifúngica foi mais significativa para *C. tropicalis* quando comparada a *C. albicans*. Estes resultados divergem-se, em alguns pontos, das pesquisas realizadas com própolis produzidas em outros estados, que podem ser justificados pelo fato do TO encontrar-se em uma área de transição entre o Cerrado e a Floresta Amazônica. Apesar do sistema de CPI melhorar a produtividade da própolis, tal característica não interferiu nos resultados da atividade antimicrobiana.

Palavras-Chave: Antibacteriana. Antifúngica B. Própolis.

Propolis is a resin collected from various plant species and which undergoes addition of secretions bee species *Apis mellifera*. The composition and physical characteristics of this resin are greatly influenced by environmental changes. The objectives were to analyze the productivity of the system Propolis Smart Collection (CPI); evaluate the antibacterial and antifungal activity of propolis produced in the state of Tocantins (TO) and compare the results with antibiotics and antifungals in common use. The propolis without using CPI was on average was 20.315g (CV: 55.53%) and with the use of CPI - 50.567g (CV: 89.87%). Propolis produced in TO has antibacterial activity especially for gram-negative bacteria (*E. coli* and *Salmonella*) and gram-positive bacteria, *S. epidermidis* showed better activity than the *S. aureus*. In the analysis of ANOVA ($P < 0.05$ and CI: 95%) of propolis Aragominas for *S. epidermidis* and Entre Rios for *Salmonella* spp., had greater inhibition zones, being statistically more effective. The antifungal activity was more significant for *C. tropicalis* when compared to *C. albicans*. These results diverge up in some spots, the research conducted with propolis produced in other states, which can be justified by the fact that TO finds itself in a transition area between the Cerrado and the Amazon rainforest. Although the system CPI improve productivity of propolis, this characteristic does not affect the results of antimicrobial activity.

Keywords: Antibacterial. Antifungal B. Propolis.

¹ Acadêmica do Curso de Medicina e bolsista do PROBIC do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos - ITPAC; Av. Filadélfia, 568; Setor Oeste; CEP: 77.816-540; Araguaína - TO. Email: deboraportilho418@hotmail.com.

² Acadêmica do Curso de Farmácia e voluntária do PROBIC do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos e bolsista do CNPQ. Av. Filadélfia, 568; Setor Oeste; CEP: 77.816-540; Araguaína - TO. Email: iangla@hotmail.com.

³ Doutor em Microbiologia Aplicada pela UNESP, professor do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos - ITPAC; Av. Filadélfia, 568; Setor Oeste; CEP: 77.816-540; Araguaína - TO. Email: guerra.ricardo@gmail.com.

⁴ Mestre em Farmacologia Clínica pela UFC, professor do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos - ITPAC; Av. Filadélfia, 568; Setor Oeste; CEP: 77.816-540; Araguaína - TO. Email: batistahebert@gmail.com.

⁵ Doutor, Professor do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos - ITPAC; Av. Filadélfia, 568; Setor Oeste; CEP: 77.816-540; Araguaína - TO. E-mail: claudiohcvet@hotmail.com.

1. INTRODUÇÃO

A própolis é uma resina produzida pelas abelhas da espécie *Apis mellifera* coletada a partir de várias partes da planta como brotos e botões florais, as abelhas utilizam a resina para proteção e assepsia da colmeia (CASTRO *et al.*, 2007; CABRAL *et al.*, 2009; NUNES *et al.*, 2009; FERNANDES *et al.*, 2007). De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) “A própolis é um produto natural, de características físicas resinosas e composição variável, coletada de várias espécies vegetais e que sofre adição de secreções da abelha, sendo classificada como opoterápico” (BRASIL, 2005). Opoterápico é o medicamento obtido a partir de: glândulas, órgãos, tecidos e secreções de animais, no caso da própolis, secreções salivares da abelha (BRASIL, 2007).

A própolis é coletada pelo apicultor através da raspagem da colmeia, logo se podem encontrar sujidades como lascas de madeira, terra, entre outras. Outras técnicas vêm sendo criadas para melhorar a qualidade e a produtividade da própolis como uso de telas coletoras abaixo da tampa e Coletor de Própolis Inteligente - CPI (INOUE, *et al.*, 2007).

A composição da própolis é intensamente influenciada pelas variações ambientais, tais como: fauna, flora, clima, temperatura, época da colheita entre outros (NUNES *et al.*, 2009; LINS *et al.*, 2010). Os componentes fenólicos, entre eles os flavonóides são os compostos isolados com mais frequência e boa parte das propriedades terapêuticas dependem da associação destes com outros constituintes menos comuns, como os derivados do ácido cinâmico e os diterpenos. (NUNES *et al.*, 2009; LINS *et al.*, 2010).

Estudos já relataram atividade antibacteriana, antifúngica, antiinflamatória, cicatrizante e antitumoral de alguns tipos de própolis. (CASTRO *et al.*, 2007; CABRAL *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2006; VICTORINO *et al.*, 2009). A atividade antimicrobiana da própolis já foi evidenciada em vários trabalhos frente a bactérias gram-positivas (ORSI *et al.*, 2005; FERNANDES JUNIOR *et al.*, 2006; LUSTOSA *et al.*, 2008) e gram-negativas (BASTOS *et al.*, 2011; ORSI *et al.*, 2005; VICTORINO *et al.*, 2009; SAWAYA *et al.*, 2004). E o extrato da própolis em associação com

outras plantas ou produtos é utilizado no tratamento de infecções respiratórias (PACKER, 2007) e enxaguatórios bucais (SIMÕES, 2008).

No Brasil, são descritas propriedades biológicas e composições químicas distintas para diferentes amostras coletadas em diferentes partes do país. Essa variação é facilmente explicada pela grande biodiversidade brasileira (CASTRO *et al.*, 2007; FERNANDES *et al.*, 2005, 2006; AZEVEDO *et al.*, 1999; CABRAL *et al.*, 2009; PEREIRA; SEIXAS; AQUINO NETO, 2002; CUNHA *et al.*, 2004; RAMOS; MIRANDA, 2007).

Os objetivos do trabalho foram analisar se a metodologia de Coleta de Própolis Inteligente (CPI) tem influência na produção da própolis e na atividade antimicrobiana da mesma; avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica da própolis produzida no estado do Tocantins (TO), por meio do teste de antibiograma utilizando a técnica de difusão em disco; comparar os resultados com antibióticos e antifúngicos de uso comum; e verificar se a atividade da própolis é distinta das demais regiões, visto que o Estado do Tocantins encontra-se em uma área de transição entre o Cerrado e a Floresta Amazônica.

2. METODOLOGIA

As amostras de própolis foram coletadas de algumas regiões produtoras do TO, durante o período de fevereiro a agosto de 2012, pelos apicultores vinculados ao projeto “APICULTURA COMO INSTRUMENTO DE TRANSFORMAÇÃO DA AGRICULTURA FAMILIAR DO ESTADO DO TOCANTINS” coordenado pelo professor Dr. Claudio Henrique Clemente Fernandes, aprovado e financiado pelo CNPq. As coletas foram realizadas respeitando as condições de higiene necessárias para evitar a contaminação do produto e encaminhadas para os laboratórios de Botânica e Microbiologia do Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos (ITPAC). As amostras de diferentes regiões foram pesadas em balança eletrônica, enumeradas de 1 a 11 e armazenadas sob refrigeração até a preparação do extrato, sendo que 7 foram obtidas por meio de Coleta de Própolis Inteligente (CPI) - modelo de coleta implantada pelo projeto - e 4 amostras eram coletas tradicionais, ou seja, não CPI.

Os extratos da própolis foram obtidos pela técnica de maceração (etanol 83,8 % na proporção 1:3 [p/v] durante 20 dias sob agitação frequente). Os discos foram produzidos com papel de filtro (7 mm de diâmetro), esterilizados, embebidos nos extratos e secados por 15 minutos em fluxo laminar.

Para os testes da atividade antibacteriana, foram utilizadas as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), e *Escherichia coli* (ATCC 25922). Os fungos *Candida albicans* (ATCC 10231) e *Candida tropicalis* (ATCC 28707), foram os escolhidos para testar a atividade antifúngica.

Os inóculos contendo as bactérias e fungos selecionados foram preparados de acordo com as recomendações das normas M27-A2 e M7-A6 da ANVISA (CLSI, 2002; CLSI, 2003).

Foram adicionados 100µl do inóculo de bactérias previamente preparados às placas de Petri de 15 cm de diâmetro, contendo meio de cultura Ágar Muller-Hinton pela técnica de espalhamento superficial; em seguida os discos embebidos nos extratos de própolis foram colocados sobre o meio sólido e as placas incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, por 24 a 48 horas, todos os testes foram realizados em triplicata. Os resultados foram obtidos pela medição do halo de inibição apresentado por cada amostra de própolis e a seguir, eles foram comparados com antibióticos (Ciprofloxacino, Sulfametazol/Trimetopim, Eritromicina, Penicilina, Clindamicina, Vancomicina, Gentamicina, Amoxicilina e Trimetoprima)

Para o teste da atividade antifúngica, o procedimento foi o mesmo utilizado para atividade antibacteriana, sendo que aqui o meio de cultura utilizado foi o Ágar Sabouraud Dextrose, utilizando como padrão de comparação o antifúngico Clotrimazol.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de cada localidade em quantidade em gramas produzida no período de análise foi pesada e classificada de acordo com a tabela 1 e figura 1. A produção de própolis doada para análise foi maior quando utilizado o coletor

de própolis inteligente, mesmo de maneira experimental e em momento de introdução de nova tecnologia para os apicultores. Os resultados corroboram com os dados de outros estudos como de INOUE *et al.* (2007); BRIGHENTI *et al.* (2007); DA SILVA *et al.* (2010).

Tabela 1. Descrição dos locais e número de amostra correspondente

Local	Amostra	Produção em gramas - g.
Entre Rios *	1	18.5
Entre Rios (CPI)	2	23.1
Pov. Caju Manso *	3	8.3
Pov. Caju Manso (CPI)	4	84.3
Miracema *	5	35.55
Miracema (CPI)	6	9.54
PA Ventura *	7	18.91
PA Ventura (CPI)	8	84.83
Nova Olinda (CPI)	9	121.21
Aragominas (CPI)	10	5.69
Palmas (CPI)	11	25.3

* Não Coleta de Própolis Inteligente (CPI)

** PA= Projeto de Assentamento

Os locais de maior tempo de experiência de produção e manejo das abelhas foram que mais facilmente se adaptaram a produção com CPI e obtiveram maior produção, pois não se limitaram a realizar algumas atividades apresentadas como necessárias para obter maior rendimento. Assim, proporcionou uma grande variância em valores das produções, pois a padronização não foi seguida por todos os apicultores. Portanto, aqueles que aproveitaram as capacitações proporcionam maior produção, mas aos que não aplicaram o aprendizado os valores não foram tão satisfatório.

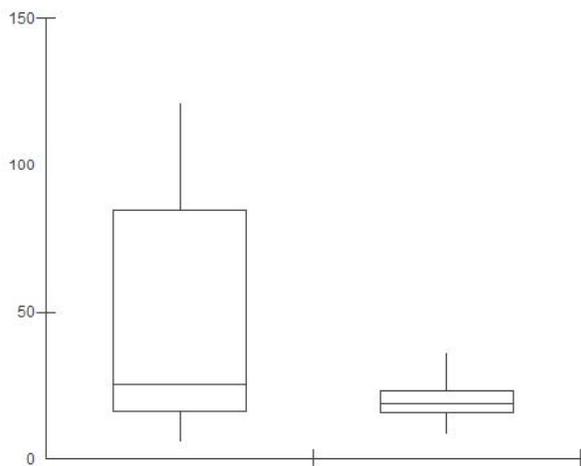


Figura 1. Gráfico da Média produzida fornecida pelos apicultores com uso ou não de coletores de Própolis Inteligente.

* Média da Produção sem uso de CPI - 20.315g (CV:55.53%)

** Média da Produção com uso de CPI - 50.567g (CV:89.87%).

3.1 Atividade Antibacteriana

A atividade antibacteriana da própolis pode ser observada na tabela 2, detalhada por local de produção e microrganismos testados. Os valores são expressos em diâmetro medido em mm do halo de inibição formado ao redor do disco. Valores superiores a 10 mm de inibição são considerados eficazes na inibição.

Das amostras testadas, observa-se uma predileção para inibição das bactérias *S. epidermidis*, *Salmonella spp.* e *E. coli*, enquanto a *S. aureus* não houve grande capacidade de inibição. Não foi possível observar preferência sobre a formatação da parede celular bacteriana, pois não tivemos maior destaque de produção de inibição ou ausência total de um modelo bacteriano, seja ele gram-positivo ou gram-negativo.

Tabela 2. Diâmetros dos halos inibitórios das amostras de própolis para as bactérias em mm

Amostras	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>E. coli</i>
1	-	12 ^{Aa}	-	10 ^{Aa}
2	-	12 ^{Aa}	16 ^{Bb}	12 ^{Aa}
3	-	13 ^{Aa}	15 ^{Ab}	11 ^{Aa}
4	-	14 ^{Aa}	12 ^{Aa}	-
5	-	11 ^{Aa}	11 ^{Aa}	-
6	-	14 ^{Aa}	12 ^{Aa}	-
7	-	13 ^{Aa}	13 ^{Aa}	10 ^{Aa}
8	10 ^{Aa}	13 ^{Aa}	11 ^{Aa}	13 ^{Aa}
9	-	12 ^{Ab}	15 ^{Ab}	11 ^{Aa}
10	11 ^{Aa}	17 ^{Bb}	14 ^{Aa}	11 ^{Aa}
11	10 ^{Aa}	14 ^{Aa}	10 ^{Aa}	-

Análise estatística por ANOVA (análise de variância) usando teste não paramétrico de "Kruskal-Wallis test" ($P < 0,05$ e I.C.:95%) e para comparação entre cada uma das colunas e linhas usou-se teste de "Dunn's Multiple Comparison Test" com $P < 0,05$. Orientação para leitura da tabela é de letras maiúsculas iguais em colunas e letras minúsculas iguais nas linhas representam médias consideradas estatisticamente idênticas, Letras diferentes maiúsculas e minúsculas em colunas e linhas respectivamente representam médias consideradas estatisticamente diferentes.

Destaca-se nesta análise de ANOVA que as própolis 10 (Aragominas) para *S. epidermidis* e 2 (Localidade de Entre Rios) para *Salmonella sp.*, obtiveram maiores halos de inibição, sendo mais efetivos estatisticamente. Posteriormente, os extratos 3 (NPA-Caju Manso) e 9 (Nova Olinda) são mais efetivos para *Salmonella sp.*

Enquanto, todos os outros extratos provenientes dos demais locais que obtiveram valores de inibição, independente de qual a bactéria, foram estatisticamente idênticos sua efetividade para inibirem o crescimento "in vitro" destes microrganismos.

Estes valores são expressivos, pois Fernandes Junior *et al.* (2007) em seu estudo avaliou a atividade antibacteriana da própolis produzida em três regiões diferentes do Brasil (SP, RN e SC) utilizando *S. aureus*, *Enterococcus spp.*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e constatou que a atividade antibacteriana é maior para bactérias gram-positivas.

No estudo em questão foram obtidos resultados contrários, ou seja, melhores para *E. coli*

e *Salmonella* do que para *S. aureus*. Um estudo de Sawaya (2004) avaliou a atividade antibacteriana da própolis de Tuiuti (SP) contra bactérias gram-positivas, no qual a concentração inibitória mínima (CIM) do extrato de própolis com álcool cereais para *S. aureus* foi menor que para *S. epidermidis*, significando maior atividade antibacteriana para *S. aureus*. Na própolis produzida no TO, utilizando a técnica de difusão em disco, a atividade contra *S. epidermidis* foi superior à *S. aureus*. Este apresentando halo inibitório em apenas três regiões, enquanto aquele demonstrando atividade antimicrobiana em todas as regiões, com destaque para a própolis produzida em Aragominas, com diâmetro do halo de 17 mm. A hipótese para estes resultados divergentes seria a diferença na composição que a própolis poderia vir a ter devido a fatores climáticos, ambientais e sazonais (PACKER, 2007).

Os resultados acima podem ser confrontados com os valores encontrados para os antibióticos utilizados como padrão comparativo da atividade antibacteriana.

Tabela 3. Resultados das Médias dos Diâmetros dos halos inibitórios dos antibióticos em mm

Antibióticos	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>Salmonella</i>	<i>E. coli</i>
Ciprofloxacino	40	31	33	34
Sulfametazol/ Trimetropim	30	-	25	23
Eritromicina	10	25	15	-
Penicilina	15	10	13	-
Gentamicina	12	20	23	20
Amoxicilina	25	12	12	17
Trimetoprima	20	-	20	22

Os antibióticos que apresentaram halo inibitório semelhante à própolis foram Eritromicina e Gentamicina para *S. aureus* e Penicilina, Amoxicilina e Gentamicina para *S. epidermidis*.

A própolis produzida no TO apresentou atividade contra *Salmonella typhimurium* em 10 das

11 amostras testadas, com destaque no extrato da própolis de Entre Rios (CPI), com halo de 16 mm. Tal resultado assemelha-se a atividade do antibiótico Eritromicina, Penicilina e Amoxicilina. Um estudo realizado por Orsi *et al.* (2005) comparou a atividade antibacteriana da própolis de duas regiões do Brasil (SC e RN) contra *Salmonella*; verificou-se que a própolis do nordeste do Brasil é mais eficiente que a do Sul, concluindo que a atividade contra bactérias gram-negativas pode variar de acordo com a região geográfica de coleta da própolis. Outro estudo realizado pelo mesmo autor em 2006 mostrou um efeito sinérgico da própolis produzida no Brasil com a Amoxicilina.

De acordo Silva (2006), a própolis produzida em Teresina (PI) apresentou atividade contra *E. coli* (ATCC 25922), com halo de inibição de 11 mm. Victorino *et al.* (2009) também encontrou halo inibitório (13 mm) para *E. coli* de duas amostras de própolis coletadas no nordeste do Paraná. No presente estudo o resultado foi semelhante para a própolis produzida no TO, com destaque pra a própolis produzida no PA Ventura (com CPI), com halo de inibição de 13 mm.

3.2 Atividade Antifúngica

Já foi comprovada a atividade antifúngica da própolis contra *C. albicans*. (PACKER, 2007). Segundo D'Auria *et al.* (2003) *apud* Packer (2007), a própolis inibe a atividade da enzima extracelular fosfolipase e prejudica a adesão das células fúngicas as células epiteliais. Outro estudo relatou sensibilidade semelhante para *C. albicans* e *C. tropicalis* a uma mesma concentração de extrato de própolis da região de Ribeirão Preto (SP).

Tabela 4. Resultados das Médias dos Diâmetros dos halos inibitórios das amostras de própolis para as espécies de *Candida* e para o antifúngico Clotrimazol em mm.

Amostras	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>
1	12 ^a	11 ^a
2	11 ^a	11 ^a
3	11 ^a	12 ^a
4	11 ^a	12 ^a
5	13 ^a	13 ^a
6	12 ^a	12 ^a
7	11 ^a	10 ^a
8	13 ^a	13 ^a
9	15 ^a	12 ^a
10	11 ^a	12 ^a
11	11 ^a	16 ^a
Clotrimazol	-	-

- Letras iguais em colunas e linhas representam médias consideradas estatisticamente idênticas, A - Letras diferentes em colunas e linhas configuram médias consideradas estatisticamente diferentes.

A atividade da própolis produzida no Tocantins, no geral, possui maior atividade antifúngica para a *C. tropicalis*, com uma média de 12 mm de diâmetro de halo de inibição e com destaque para a própolis de Palmas-CPI (16 mm). E uma atividade um pouco menor para *C. albicans*, média de 11 mm diâmetro, com o melhor resultado correspondendo à própolis de Nova Olinda-CPI (15 mm). O clotrimazol é geralmente utilizado como terapia inicial da candidíase oral, mas um estudo realizado por White *et al* (2002) mostrou uma certa resistência da *C. albicans* a esse antifúngico. O resultado negativo dos testes poderia ser explicado por esse fato.

Assim, é recomendável a realização de outros estudos para que sejam definidos quais os compostos químicos predominantes na própolis produzida no Estado do Tocantins que poderia explicar as variações da atividade antibacteriana e antifúngica desta própolis quando comparada com a própolis produzida em outras regiões. E também a realização de outros desenhos que permitem identificar a Concentração inibitória mínima (CIM) da própolis produzida em nossa região para estes tipos de microrganismos.

4. CONCLUSÕES

A produção de própolis durante a análise foi maior quando utilizada a metodologia de CPI, mesmo de maneira experimental e em momento de introdução de nova tecnologia para os apicultores. A própolis produzida no estado do TO possui atividade antibacteriana principalmente para as bactérias gram-negativas (*Salmonella* e *E.coli*) e das bactérias gram-positivas testadas (*S. aureus* e *S. epidermidis*), *S. epidermidis* apresentou melhor atividade. A atividade antifúngica foi mais bem observada para *C. tropicalis* quando comparada a outra espécie testada (*C. albicans*). Estes resultados divergem-se, em alguns pontos, das pesquisas realizadas com a própolis produzida em outros estados, mostrando que realmente o ambiente pode influenciar na composição química da própolis e que o fato do TO encontrar-se em uma área de transição entre o Cerrado e a Floresta Amazônica pode justificar a diferença na atividade contra alguns microrganismos. Quanto ao fato das amostras serem ou não provenientes da CPI, apesar desse sistema melhorar a produtividade da própolis, tal característica não interferiu nos resultados da atividade antimicrobiana.

5. AGRADECIMENTOS

Agradeço a CoPPEX pelo apoio científico e financeiro.

6. REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, R. V. P. *et al.* *Candida* sp in the oral cavity with and without lesions: maximal inhibitory dilution of Propolis and Periogard. Rev. Microbiologia, Ribeirão Preto, vol. 30, n. 4, p. 335-341, 1999.
- BASTOS, E. M. A. F. *et al* . Indicadores físico-químicos e atividade antibacteriana de própolis marrom frente à *Escherichia coli*. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., Belo Horizonte, v. 63, n. 5, p.1255-1259, 2011
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. GMEFH/GGMED. Prêmio Inovação na Gestão Pública Federal, de 28 de setembro de 2009. Medicamentos fitoterápicos: Parte I - Registro e

- políticas, Brasília, 2007. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/medicamentos_fitoterapicos.pdf >. Acesso em: 2. dez. 2011.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. In: CATEF: Câmara Técnica de Medicamentos Fitoterápicos. Nota Técnica sobre o Registro de Produtos Contendo Própolis. Brasília, 2005. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/catef/index.htm> >. Acesso em: 2. dez. 2011.
- BRIGHENTI, Deodoro Magno; SANTOS, Francisco Chaves dos; BRIGHENTI, Carla Regina Guimarães. Método para intensificar a produção de própolis: o quadro coletor "tira e põe". Artigo APACAME. 2007. Disponível em < <http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/85/artigo.htm> > Acesso em: 2. dez. 2011.
- CABRAL, I. S. R. et al. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. Química Nova, Piracicaba, vol.32, n.6, p. 1523-1527, 2009.
- CASTRO, M. L. et al. Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. Química Nova, Piracicaba, vol.30, n.7, p. 1512-1516, 2007.
- CUNHA, I. B. S. et al. Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. J. Braz. Chem. Soc., São Paulo, v. 15, n. 6, 2004
- CLSI. M27-A2. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras: Norma Aprovada – Segunda Edição. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, 2002
- CLSI. M7-A6. Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada – Sexta Edição. Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, 2003.
- DA SILVA, A. C. S. et al. Produção de própolis por três diferentes métodos. XXII Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2010, Botucatu. Resumos dos trabalhos do Evento.
- D'AURIA, F.D. et al. Effect of propolis on virulence factors of *Candida albicans*. J Chemother. vol. 15, p. 454-460, 2003.
- FERNANDES JUNIOR, A. et al. Atividade antimicrobiana de própolis de *Apis mellifera* obtidas em três regiões do Brasil. Cienc. Rural, Santa Maria, v. 36, n. 1, 2006.
- FERNANDES JUNIOR, A. et al. Propolis: anti-*Staphylococcus aureus* activity and synergism with antimicrobial drugs. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Botucatu, vol.100, n.5, p. 563-566, 2005.
- FERNANDES, F. F. et al. The "in vitro" antifungal activity evaluation of propolis G12 ethanol extract on *Cryptococcus neoformans*. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, Alfenas, vol. 49, n.2, p. 93-95, 2007.
- INOUE, H. T. et al. Produção de própolis por diferentes métodos de coleta. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal (Arch. Latinoam. Prod. Anim.) ISSN 1022-1301. Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Vol 15, número 2: 65-69. 2007. Disponível em: < <http://www.alpa.org.ve/PDF/Arch%2015-2/htiemiinoue.pdf> > Acesso em: 2. dez. 2012.
- LINS, A. S. et al. Implantação das análises físico-químicas da própolis no laboratório da Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola. Rev. Eletrônica Multidisciplinar Pindorama, Salvador, n. 1, vol.1, p. 1-20, ago, 2010. Disponível em: < http://www.revistapindorama.ifba.edu.br/ed_atual.php > Acessos em: 2 dez. 2012.
- LUSTOSA, S. R. et al. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. Rev. bras. Farmacognosia, Recife, vol. 18, n.3, p. 447-454, 2008
- NUNES, L. C. C. et al. Variabilidade sazonal dos constituintes da própolis vermelha e bioatividade em *Artemia salina*. Rev. bras. farmacogn, João Pessoa, vol.19, n.2b, p. 524-529, 2009.
- ORSI, R. O. et al. Susceptibility profile of *Salmonella* against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil. J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis., Botucatu, vol. 11, n. 2, p. 109-116, 2005

PACKER, J. F; LUZ, M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. *Rev. bras. Farmacognosia*, Curitiba, vol. 17, n. 1, p. 102-107, 2007.

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

RAMOS, A. F. N; MIRANDA, J. L. Propolis: a review of its anti-inflammatory and healing actions. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis, Botucatu*, v. 13, n. 4, 2007.

SAWAYA, A. C. H. F. *et al* . Analysis of the composition of Brazilian propolis extracts by chromatography and evaluation of their in vitro activity against gram-positive bacteria. *Braz. J. Microbiol.*, São Paulo, v. 35, n. 1-2, p.104-109, 2004.

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

SIMÕES, C. C; ARAUJO, D. B; ARAUJO, R. P. C. Estudo *in vitro* e *ex vivo* da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos. *Rev. bras. Farmacognosia*, Salvador, vol.18, n.1, p. 84-89, 2008

VICTORINO, F. R. *et al*. Antibacterial activity of propolis-based toothpastes for endodontic treatment. *Braz. J. Pharm. Sci.*, Bauru, vol. 45, n.4, p. 795-800, 2009.

WHITE, T. C. *et al*. Resistance Mechanisms in Clinical Isolates of *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, v. 46, n. 6, p. 1704-1713, 2002.