

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES MÉIS DE ABELHA SEM FERRÃO

Angélica Frigo¹, Luana Rampazzo¹, Dinael Simão Bitner², Thaisa Francielle Topolski Pavan Batiston³, Maiara Cristiane Brisola⁴, Regiane Boaretto Crecencio⁴, Denise Nunes Araújo⁵, Lenita Moura Stefani⁶.

¹ Acadêmica (o) do Curso de Zootecnia – UDESC-Oeste. Bolsista PIBIC/CNPq

² Acadêmica (o) do Curso de Zootecnia – UDESC-Oeste

³ Mestranda do Programa de Pós-graduação em Zootecnia - UDESC-Oeste. Bolsista CAPES

⁴ Mestranda do Programa de Pós-graduação em Zootecnia - UDESC-Oeste. Bolsista FAPESC

⁵ Professora adjunta. Departamento de Zootecnia – UDESC-Oeste

⁶ Orientadora. Depto de Zootecnia – UDESC-Oeste. borruca@hotmail.com. Bolsista PQ/CNPq

Palavras-chave: Resistência bacteriana. Mel. *Salmonella* Heidelberg.

O uso demasiado de antimicrobianos tem ocasionado um aumento gradativo na emergência de microrganismos patogênicos multirresistentes. Diante disso, meios alternativos têm sido estudados a fim de minimizar esse problema, sendo o mel uma promissora possibilidade. Já a *Salmonella* Heidelberg tem sido isolada no meio avícola apresentando um grande desafio para a avicultura atual. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes méis de abelhas sem ferrão em conjunto com antimicrobianos, contra a bactéria *Salmonella* Heidelberg. Para o estudo foram utilizados sete tipos de méis de abelhas sem ferrão, obtidos de meliponicultores de diferentes municípios do estado de Santa Catarina. Para a coleta foi utilizado bomba a vácuo e recipiente estéril protegido da luz, armazenados posteriormente em gelo para o transporte. Após o transporte, as amostras foram armazenadas sob refrigeração a 10°C. As análises da atividade antimicrobiana ocorreram no laboratório de Biologia Molecular, Imunologia e Microbiologia (LABMIM) localizado na UDESC-Oeste, no município de Chapecó (SC). Para classificar a cepa em resistente, intermediária ou sensível, a técnica empregada foi o método de disco difusão descrito por CLSI (2015). O inóculo bacteriano foi preparado a partir de três a cinco colônias isoladas de *Salmonella* Heidelberg, tocando-se o topo da colônia com uma alça de platina e transferindo-as para tubos contendo Caldo Brain Heart Infusion (BHI). As amostras foram então incubadas a 36°C por 18 horas; após o período de incubação, realizou-se o ajuste de turbidez de modo a obter uma turbidez óptica comparável à da solução padrão McFarland de 0,5, resultando em uma suspensão contendo aproximadamente 1×10^8 UFC/mL de *S. Heidelberg*. A atividade antimicrobiana do mel foi determinada através do teste de disco-difusão em ágar, segundo a metodologia proposta pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), modificada. O ágar Muller Hinton (MH) foi preparado de acordo com as especificações do fabricante, autoclavado a 120°C por 15 min e resfriado em banho-maria a 45-50°C. Adicionou-se então o mel de cada uma das espécies, ajustando-se para um volume final de 5% em relação ao volume total (124,54 mg/mL de mel no meio). A mistura mel + ágar MH foi dispensada em placas de Petri até se obter uma camada de 3 a 5 mm de espessura. Utilizando-se um suabe estéril umedecido na suspensão bacteriana padronizada, a amostra foi semeada de forma suave em todas as direções da placa de petri. Foram colocados os discos de antibiótico com o auxílio de uma pinça flambada e resfriada. Os antibióticos utilizados foram: Amoxicilina/Ácido clavulânico,

Ceftadizina, Gentamicina, Tetraciclina e Ciprofloxacina. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C durante 24 horas. A atividade antimicrobiana foi mensurada através de régua milimetrada, pelo diâmetro dos halos, a partir da zona de inibição formada ao redor dos discos. Os resultados obtidos estão descritos na tabela 1, sendo que para a análise dos dados as médias dos halos de inibição foram agrupadas por espécie e apresentadas com o seu respectivo desvio padrão. No teste de sensibilidade, a *S. Heidelberg* foi considerada resistente para os antimicrobianos Amoxicilina/Ácido clavulânico, Ceftadizima e Tetraciclina e sensível para os demais antimicrobianos. Quando avaliada a Amoxicilina/Ácido clavulânico *versus* os méis de *Melipona marginata* e *Tetragona clavipes*, observou-se alteração no perfil de susceptibilidade onde as cepas anteriormente resistentes tornaram-se sensíveis ao antimicrobiano. O mesmo ocorreu com a bactéria na presença do mel de *Melipona mondury* com a Ceftadizima, alterando de resistente para sensível. Com relação a Tetraciclina, apesar de não haver alteração no perfil de resistência, o aumento dos halos sugere uma possível sinergia, sendo necessário avaliar maiores concentrações de mel diluído no ágar. Diante disso, é possível concluir que alguns dos méis avaliados possuem atividade antimicrobiana contra a bactéria *S. Heidelberg in vitro*, com potencial para uso *in vivo*. Entretanto, outros estudos precisam ser realizados para que haja um melhor entendimento sobre o mecanismo de ação do mel e qual a influência de seus componentes contra diferentes microrganismos.

Fig. 1 Resultados da classificação da sensibilidade das cepas e a avaliação do efeito da atividade antimicrobiana entre os antibióticos e os diferentes méis de abelhas sem ferrão contra à cepa *Salmonella Heidelberg*, através da medida do diâmetro dos halos (mm).

		Halo de inibição (mm) **							
Antibiótico * (CLSI, 2005)		Melipona mondury	Melipona bicolor	Tetragonisca angustula	Melipona marginata	Melipona quadrifasciata	Scaptotrigona bipunctata	Tetragona clavipes	
<i>Salmonella Heidelberg</i>	AMC (30 µg)	7 R	7 R	9,5(±0,6)R	10,5(±1,8)R	18 S	11,83(±3,8)R	6 R	27 S
	CAZ (30 µg)	11R	18 S	11,75(±0,5)R	12(±0,9)R	12 R	12,5(±0,5)R	16I	12 R
	GEN (10 µg)	19 S	19 S	17,75(±0,5)S	18,16(±1,0)S	13I	16(±1,9)S	17 S	17 S
	TET (30 µg)	0 R	7 R	9(±0,8)R	9(±2,0)R	8 R	9,83(±1,9)R	10 R	10 R
	CIP (5 µg)	22 S	29 S	19(±2,0)I	20,33(±1,9)I	18I	19(±1,8)I	29 S	18I

*AMC - Amoxicilina / Ácido clavulânico (AMC 20µg + 10 µg); CAZ - Ceftadizima (CAZ 30 µg); GEN - Gentamicina (GEN 10 µg); TET – Tetraciclina (TET 30 µg); CIP - Ciprofloxacina (CIP 5 µg).

** R – Resistente; I – Intermediário; S – Sensível.