

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

ELUSCA HELENA MUNIZ

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN VITRO* E DE
PARÂMETROS ENVOLVIDOS NO REPARO DE LESÕES *IN VIVO* DO MEL DE
JATAÍ (*Tetragonisca angustula*)**

UBERLÂNDIA

2023

ELUSCA HELENA MUNIZ

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN VITRO* E DE
PARÂMETROS ENVOLVIDOS NO REPARO DE LESÕES *IN VIVO* DO MEL DE
JATAÍ (*Tetragonisca angustula*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Aplicadas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Biologia Celular.

Orientadora:

Profa. Dra. Tatiana Carla Tomiosso

Coorientadora:

Profa. Dra. Francielle Borges Rosa de Moura

UBERLÂNDIA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

M966a
2023 Muniz, Elusca Helena, 1985-
Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* e de parâmetros envolvidos no reparo de lesões *in vivo* do mel de Jataí (*Tetragonisca angustula*) [recurso eletrônico] / Elusca Helena Muniz. - 2023.

Orientadora: Tatiana Carla Tomiosso.

Coorientadora: Francielle Borges Rosa de Moura.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.7146>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Biologia. I. Tomiosso, Tatiana Carla, 1978-, (Orient.). II. Moura, Francielle Borges Rosa de, 1990-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas. IV. Título.

CDU: 573

Glória Aparecida

Bibliotecária Documentalista - CRB-6/2047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas
 Rua Piauí, Bloco 2B, Sala 2B218 - Bairro Umarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: 34 3225-8484 - ppgbc@icbim.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Biologia Celular e Estrutural Aplicadas				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, número 02/2023, do PPGBC				
Data:	21 de Março de 2023	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	16:30
Matrícula do Discente:	12012BCE003				
Nome do Discente:	Elusca Helena Muniz				
Título do Trabalho:	Avaliação da atividade antibacteriana <i>in vitro</i> e de parâmetros envolvidos no reparo de lesões <i>in vivo</i> do mel de jataí (<i>Tetragonisca angustula</i>)				
Área de concentração:	Biologia Celular				
Linha de pesquisa:	Mecanismos de Reparo Plasticidade Tecidual				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Reparo e cicatrização				

Reuniu-se, por Videoconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural Aplicadas, assim composta: Professores Doutores: **Manuel Garcia Florez** - USCO; **Gláucia Maria Tech dos Santos** – Centro Universitário da Fundação Hermínio Ometto; e **Tatiana Carla Tomiosso** - UFU, orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dra. **Tatiana Carla Tomiosso**, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente **Elusca Helena Muniz** a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir a senhora presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir a candidata. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando a candidata:

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Tatiana Carla Tomiosso, Professor(a) do Magistério Superior**, em 21/03/2023, às 16:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gláucia Maria Tech dos Santos, Usuário Externo**, em 21/03/2023, às 16:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Manuel Garcia Florez, Usuário Externo**, em 21/03/2023, às 17:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4350346** e o código CRC **A937B61C**.

Agradecimentos

Com satisfação, encerro este trabalho, marcado pelo esforço e dedicação investidos. Ao enfrentarmos diversos desafios, especialmente durante a pandemia de COVID-19, absorvi preciosas lições, tanto no aspecto profissional quanto pessoal. Expresso profunda gratidão a todos que estiveram ao meu lado, ofereceram apoio e contribuíram para essa conquista. Reconheço que não teria alcançado esse resultado de forma isolada.

Dedico meu carinho a todos que compartilharam essa jornada, em especial:

Aos meus filhos Helamã e Rebeca, meus grandes amores, por serem a força que me impulsiona a me tornar uma pessoa melhor e por compreenderem meus momentos de ausência.

Aos meus pais Sebastião e Tereza, pelo amor sem limites, apoio e incentivo que serviram como alicerce para as minhas realizações.

Ao pai dos meus filhos, Héverton, que dividiu comigo essa jornada, apoiando-me em momentos cruciais para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos meus irmãos Loredana, Stfana, Cristian e Lorrán, pelo suporte e, especialmente, por acreditarem na minha capacidade.

Aos meus sobrinhos Stéfany, Shelyta, Mayra, Layssa, Myrella, Lorenzo e Cristian Filho, pelo carinho, atenção e incentivo. E a todos os outros membros da minha família pelo apoio contínuo ao longo de toda a minha vida.

À minha orientadora, Prof.^a Dra. Tatiana Carla Tomiosso, pela orientação, carinho, amizade e pelas valiosas contribuições dadas durante todo o processo.

À minha coorientadora, Prof.^a Dra. Francielle Borges Rosa de Moura, por se dedicar, mesmo com o tempo escasso, para me apoiar indicando a direção correta que o trabalho deveria tomar.

Aos meus parceiros de laboratório, Maria Luiza (Malu) e Bruno, pelas trocas de ideias e ajuda mútua. Juntos conseguimos avançar e superar todos os obstáculos. Malu, agradeço pelos momentos de risada que tornaram os experimentos mais agradáveis. Aos professores Drs. Fernanda de Assis Araújo, Daniele Lisboa Ribeiro, Fernanda Helena Nogueira-Ferreira, Carlos Henrique Gomes Martins, Foued Salmen Espindola e as discentes Camila de Paula Siqueira e Ana Luiza Silva Borges, por terem auxiliado no desenvolvimento desse trabalho. A todos os meus colegas de curso, destaco o Luiz Felipe, pela oportunidade do convívio e pela cooperação mútua durante o mestrado.

Ao meu amigo José Augusto (Zé) por trazer leveza para minha vida ouvindo todos meus desabafos hehehe.

Ao Instituto de Ciências Biomédicas e a Universidade Federal de Uberlândia (UFU) pela oportunidade de realizar este trabalho. E aos docentes do Programa de Pós-graduação em Biologia Celular Estrutural e Aplicadas por demonstrarem comprometimento com a qualidade e excelência do ensino.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) (código financeiro 001) pela concessão da bolsa que foi de extrema importância.

A Deus, por ter mantido minha saúde e determinação durante o desenvolvimento dessa pesquisa

A todos que colaboraram com este trabalho, meus sinceros agradecimentos!

“Liberta a tua mente pra ela não desandar
Lembra que é valente como as águas do mar
Que é tapete de serpente que dão pra nós pisar
Andai com passo firme que é pra não bambear
Quem eles pensam que são pra te apontar?
Não sabem da tua luta, não entendem seu linguajar
Que haja flor no seu caminho e no meu caminhar
Que a felicidade possa estar num olhar ”
(MC THA, 2018)

RESUMO

O mel de abelhas tem sido usado ao longo da história como um produto natural com propriedades antibacterianas e capacidade de cura de lesões. A abelha *Tetragonisca angustula*, conhecida como abelha jataí, produz um mel que não apenas exibe atividade antibacteriana, mas também possui propriedades hidratantes que contribuem para a cicatrização. Este estudo focou no mel de jataí coletado em Corumbáiba, Goiás, Brasil, investigando sua atividade antibacteriana, propriedades anti-inflamatórias, biossíntese de colágeno e capacidade de fechamento de lesões em camundongos BALB/c. A avaliação da atividade antibacteriana foi conduzida *in vitro* usando a técnica de disco-difusão, com o mel de jataí testado em três concentrações: 100%, 75% e 50%. As cepas bacterianas testadas incluíram *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Os resultados foram apresentados como a média e desvio padrão dos halos de inibição. A *análise in vivo* foi realizada em camundongos após 3 e 7 dias da indução da lesão, totalizando 48 animais. Os camundongos foram divididos em três grupos: controle negativo (CO-) com lesões não tratadas, controle positivo (CO+) com lesões tratadas com sulfadiazina de prata 1%, e o grupo mel (MEL) com lesões tratadas com mel de jataí. O mel de jataí foi comparado com ambos os controles. Apesar de estudos anteriores indicarem atividade antibacteriana contra as cepas testadas, neste estudo não foi observada inibição bacteriana. Isso pode ser atribuído à aquisição de cepas diferentes ou às variações nas propriedades antimicrobianas de méis de diferentes origens geográficas. No entanto, o tratamento com mel de jataí demonstrou redução de neutrófilos em comparação com o controle positivo, além de aumento de macrófagos, mastócitos, angiogênese, deposição de colágeno e menor tempo necessário para o fechamento da lesão em comparação com lesões não tratadas. Esses resultados sugerem que o mel de jataí pode ser uma alternativa terapêutica promissora para a cicatrização.

Palavras-chave: cicatrização, inflamação, mel, abelhas sem ferrão, bactérias.

ABSTRACT

*Bee honey has been used throughout history as a natural product with antibacterial properties and the ability to heal wounds. The bee *Tetragonisca angustula*, commonly known as the jataí bee, produces honey that not only exhibits antibacterial activity but also has moisturizing properties that contribute to healing. This study focused on jataí honey collected in Corumbaíba, Goiás, Brazil, investigating its antibacterial activity, anti-inflammatory properties, collagen biosynthesis, and its ability to close wounds in BALB/c mice. The evaluation of antibacterial activity was conducted in vitro using the disc-diffusion technique, with jataí honey tested at three concentrations: 100%, 75%, and 50%. The tested bacterial strains included *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*. Results were presented as the mean and standard deviation of the inhibition halos. In vivo analysis was performed on mice after 3 and 7 days of lesion induction, totaling 48 animals. Mice were divided into three groups: negative control (CO-) with untreated lesions, positive control (CO+) with lesions treated with 1% silver sulfadiazine, and the honey group (MEL) with lesions treated with jataí honey. Jataí honey was compared with both controls. Despite previous studies indicating antibacterial activity against the tested strains, this study did not observe bacterial inhibition. This discrepancy may be attributed to the acquisition of different strains or variations in the antimicrobial properties of honey from different geographical origins. However, treatment with jataí honey demonstrated a reduction in neutrophils compared to the positive control, along with an increase in macrophages, mast cells, angiogenesis, collagen deposition, and a shorter time required for lesion closure compared to untreated lesions. These results suggest that jataí honey could be a promising therapeutic alternative for wound healing.*

Keywords: *wound healing, inflammation, honey, stingless bees, bacter*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Fotografias de <i>Tetragonisca angustula</i> , abelha jataí.....	18
Figura 2. Histologia da epiderme e derme da pele.....	23
Figura 3. Etapas da cicatrização de lesões.....	25
Figura 4. Imagens de etapas do ensaio disco-difusão.....	31
Figura 5. Lesões induzidas sem tratamento e com tratamento de sulfadiazina de prata e mel de jataí.....	32
Figura 6 . Inclusão em parafina e corte histológico.....	34
Figura 7. O mel de jataí não apresenta atividade antibacteriana em <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Escherichia coli</i>	36
Figura 8. Fechamento de lesões tratadas com mel de jataí após 3 e 7 dias.....	37
Figura 9. Atividade indireta de neutrófilos e macrófagos em lesões tratadas com mel de jataí após 3 e 7 dias.....	38
Figura 10. Infiltrado de mastócitos em lesões tratadas com mel de jataí após 3 e 7 dias.....	40
Figura 11. Angiogênese em lesões tratadas com mel de jataí após 3 e 7 dias.....	41
Figura 12. Deposição de colágeno total em lesões tratadas com mel de abelhas jataí após 3 e 7 dias.....	42
Figura 13. Deposição de colágeno do tipo I e tipo III em lesões tratadas com mel de jataí após 3 e 7 dias.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados obtidos por antibiograma pelo teste de disco-difusão com mel de jataí nas concentrações de 100%, 75% e 25%.....	36
---	----

LISTA DE ABREVIACÕES

Ang-1 angiopoietina-1

ATCC *American Type Culture Collection*

bFGF fator de crescimento fibroblástico básico

CIM concentração inibitória mínima

CO- Grupo controle negativo

CO+ grupo controle positivo

CT controle de gentamicina – 0,1 mg/mL

EGF fator de crescimento epidérmico

EROs espécies reativas de oxigênio

H₂O₂ peróxido de hidrogênio

H₂SO₄ ácido sulfúrico

HE hematoxilina e eosina

HTAB brometo de hexadeciltrimetilamônio

IL-10 interleucina-10

IL-4 interleucina-4

IL-8 interleucina-8

LEA Laboratório de Ensaio Antibacterianos

LECA Laboratório de Ecologia e Comportamento de Abelhas

M1 macrófagos ativado classicamente

M2 macrófagos alternativamente ativado

MCs mastócitos

MEC matriz extracelular

MEL grupo mel de jataí

MGO metilglioxal

MMP9 metaloproteinase-9 de matriz

MMPs metaloproteinases da matriz

MPO Mieloperoxidase

NAG N-Acetyl-β-D-Glycosaminidase

PDGF fator de crescimento derivado de plaquetas

PNPIC Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

REBIR-UFU Rede de Biotério e Roedores da UFU

T3 Tempo 3 dias

T7 Tempo 7 dias

TABDF-1 fator de destruição de biofilme *Tetragonisca angustula* um

TABDF-2 fator de destruição de biofilme *Tetragonisca angustula* dois

TABDFs fatores de destruição de biofilme *Tetragonisca angustula*

TGF- α fator de crescimento transformante alfa

TGF- α fator de crescimento transformante alfa

TGF- β fator de crescimento transformante beta

TMB 3,3', 5,5' - tetrametilbenzidina

TNF- α fator de necrose tumoral alfa

TSB Triptona de Soja

UFU Universidade Federal de Uberlândia

VEGF fator de crescimento endotelial

ZOI zonas de inibição

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 Mel de abelhas.....	17
2.2 <i>Tetragonisca angustula</i> Latreille.....	18
2.3 Bactérias e antibióticos.....	20
2.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	21
2.3.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
2.3.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	22
2.3.4 <i>Escherichia coli</i>	22
2.4 Histologia da pele.....	23
2.5 Cicatrização de lesões.....	25
2.5.1 Hemostasia.....	26
2.5.2 Inflamação.....	26
2.5.3 Proliferativa.....	27
2.5.4 Remodelamento.....	27
2.6 Sulfadiazina de prata como cicatrizante.....	28
3 OBJETIVOS.....	29
3.1 Objetivo geral.....	29
3.2 Objetivos específicos.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 Obtenção do mel de <i>T. angustula</i> Latreille.....	30
4.2 Avaliação da atividade antibacteriana do mel de <i>T. angustula</i> Latreille.....	30
4.2.1 Cepas bacterianas.....	30
4.2.2 Avaliação da atividade antimicrobiana pelo teste de disco-difusão.....	30
4.3 Obtenção dos animais e distribuição dos grupos de tratamento.....	31
4.4 Indução e avaliação do fechamento de lesões.....	32
4.5 Avaliação histoquímica.....	32
4.6 Atividade de mieloperoxidase (MPO).....	34
4.7 Atividade N-Acetyl- β -D-Glycosaminidase (NAG).....	34
4.8 Análises estatísticas.....	35
5. RESULTADOS.....	35
5.1 O mel de jataí não apresentou efeito antibacteriano sobre as cepas avaliadas	35

5.2 O mel de jataí acelera o fechamento de lesões após 7 dias de tratamento.....	37
5.3 O mel de jataí aumenta a atividade de NAG, marcador para macrófagos, em lesões após 3 e 7 dias de tratamento.....	38
5.4 O mel de jataí apresenta maior quantidade de mastócitos em lesões após 3 e 7 dias de tratamento.....	39
5.5 O mel de jataí do aumenta a angiogênese em lesões após 3 dias de tratamento.....	40
5.6 O mel de jataí intensifica a deposição de fibras colágeno em lesões após 7 dias de tratamento	41
5.7 O mel de jataí intensifica a deposição de fibras colágeno tipo I e III em lesões após 3 dias de tratamento.....	43
6. DISCUSSÃO.....	45
7. CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS.....	49
ANEXOS.....	60
Aprovação CEUA	6

1.INTRODUÇÃO

Tetragonisca angustula Latreille, 1811, é uma espécie de abelha nativa sem ferrão popularmente conhecida como jataí. Sua distribuição ocorre na região neotropical, abrangendo desde a Argentina até o México, sendo amplamente encontrada no Brasil (PRATO, 2010; URQUIZO *et al.*, 2022). Além de seu papel crucial como polinizadora, cada espécie de abelha desempenha um papel econômico significativo, contribuindo para a produção de alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010; SILVA; LIMA; COSTA, 2020). Além disso, há relatos populares sobre o uso do mel de jataí no tratamento de distúrbios estomacais, catarata, infecções respiratórias, além de seu emprego na cicatrização de lesões e queimaduras (VIT; MEDINA; ENRÍQUEZ, 2004; ZAMORA *et al.*, 2017).

Para otimizar o processo de cicatrização de lesões, o mel é um dos compostos naturais mais antigos e amplamente utilizados para esse fim, precedendo a introdução dos antibióticos (BIONDO-SIMÕES *et al.*, 2019; SHARP, 2009; SILVA; LIMA; COSTA, 2020). Inicialmente, o mel era empregado no tratamento de diversas enfermidades, mas somente com o avanço científico é que as propriedades específicas dos méis foram esclarecidas (ISRAILI, 2014). Para entender o uso clínico do mel de abelhas na medicina moderna, pesquisas foram conduzidas para avaliar seu potencial na cura de lesões e compreender os mecanismos antibacterianos envolvidos (BURLANDO; CORNARA, 2013; MANDAL; MANDAL, 2011). Embora as investigações sobre o uso terapêutico do mel de jataí sejam limitadas, já foi demonstrada sua atividade antimicrobiana, e análises físico-químicas estão sendo realizadas para explorar futuras aplicações na cicatrização de lesões (BOBANY *et al.*, 2010; COSTA; MALAGÓ, 2000; GABRIEL *et al.*, 2015).

Méis de diversas espécies de abelhas apresentam propriedades antibacterianas *in vitro* contra bactérias resistentes a antibióticos, embora haja variações na eficácia contra diferentes patógenos, influenciadas pelas diferenças na localização geográfica das fontes de néctar (MANDAL; MANDAL, 2011). O mel de jataí, por exemplo, demonstrou atividade antibacteriana contra cepas gram-positivas como *Staphylococcus aureus* e gram-negativas, incluindo *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* (GABRIEL *et al.*, 2015; GAMBOA ABRIL; FIGUEROA RAMIREZ, 2009; MIORIN *et al.*, 2003; RODRÍGUEZ-MALAVAR *et al.*, 2009). Os componentes com alta atividade biológica são considerados os principais responsáveis pela capacidade antibacteriana dos méis de abelhas

(KWAKMAN *et al.*, 2010; PINHEIRO *et al.*, 2018). Além disso, a propriedade cicatrizante dos méis de abelhas está associada à sua ação antibacteriana. A manutenção de um ambiente úmido na lesão e a viscosidade do mel proporcionam uma barreira protetora que ajuda a prevenir infecções (MANDAL; MANDAL, 2011).

O exsudato desempenha um papel crucial na cicatrização de lesões devido ao seu alto teor proteico e à presença de componentes inflamatórios (CUTTING, 2003; HARRIES; BOSANQUET; HARDING, 2016; NUUTILA; ERIKSSON, 2021). Optar por terapias cicatrizantes que gerenciam os níveis de exsudato é fundamental para manter o equilíbrio adequado da umidade no tecido lesionado (HARRIES; BOSANQUET; HARDING, 2016). Um ambiente úmido equilibrado durante a cicatrização ativa a síntese de colágeno, promove a migração celular e cria circulação efetiva de oxigênio, proporcionando condições ideais para mediadores e fatores de crescimento (ABD JALIL; KASMURI; HADI, 2017; NUUTILA; ERIKSSON, 2021).

Os méis de abelhas sem ferrão possuem propriedades hidratantes devido à presença de grupos hidroxilas. Quando utilizados como curativos, evitam a desidratação da lesão, repondo os fluidos gradualmente por osmose. A alta osmolaridade do mel de abelhas sem ferrão pode contribuir para a manutenção do ambiente úmido e acelerar o processo de cicatrização (ABD JALIL; KASMURI; HADI, 2017). Assim, este estudo avaliou a atividade antibacteriana e os parâmetros envolvidos na cicatrização de lesões do mel de jataí, proveniente de Corumbáiba, Goiás, Brasil.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Mel de abelhas

O mel de abelhas é uma substância viscosa e aromática, composta por aminoácidos, carboidratos, açúcares, água, proteínas, vitaminas, enzimas, ácidos orgânicos, flavonoides e minerais (CAMARGO; PEREIRA; LOPES, 2002; HOOPER, 1981; LEAL; CARVALHO, 2014; LEAL *et al.*, 2022). Originando-se principalmente do néctar das flores e/ou exsudatos sacarínicos das abelhas melíferas, pode conter pequenas proporções de orvalho secretado por algumas plantas e substâncias doces variadas, como frutas (CAMARGO; PEREIRA; LOPES, 2002; EL SOHAIMY; MASRY; SHEHATA, 2015). Durante o transporte do néctar para a colmeia, as abelhas realizam alterações em sua concentração e composição química, com a

participação de secreções de várias glândulas, incluindo as hipofaríngeas. Enzimas como invertase, diástase, glicose oxidase, catalase e fosfatase são introduzidas, e ao chegar na colmeia, o néctar é regurgitado nos alvéolos do favo, onde ocorre a maturação do mel (CAMARGO; PEREIRA; LOPES, 2002; CRANE, 1980).

Além de seu consumo como alimento, o mel tem sido utilizado como alternativa terapêutica desde os primórdios da humanidade, com registros em medicinas tradicionais como a *Ayurveda*, nos escritos egípcios *Papyrus Ebers*, nas tábuas de argila dos sumérios e na medicina popular (ISRAILI, 2014; KOTIAN *et al.*, 2018; RAO *et al.*, 2016; SILVA; LIMA; COSTA, 2020). A apiterapia, que utiliza produtos derivados de abelhas, está atualmente integrada à Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Brasil (BRASIL, 2018). Assim, pesquisas são desenvolvidas para compreender melhor os efeitos terapêuticos dos méis de abelhas (ISRAILI, 2014). As propriedades medicinais dos méis dependem da origem botânica do néctar e da espécie de abelha que o produziu, sendo a composição do mel relacionada à diversidade botânica e à variação climática do local de coleta (CAMARGO; PEREIRA; LOPES, 2002).

O mel de *T. angustula* tem ganhado destaque entre os pesquisadores, embora haja poucas investigações sobre suas propriedades etnofarmacológicas, principalmente observou-se atividade antibacteriana (BARBOSA *et al.*, 2022; MIORIN *et al.*, 2003). Em ensaios de concentração inibitória mínima (CIM), o mel de jataí demonstrou ação antimicrobiana contra cepas adquiridas do repositório American Type Culture Collection (ATCC), como *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 31617 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (GAMBOA ABRIL; FIGUEROA RAMIREZ, 2009; MIORIN *et al.*, 2003; RODRÍGUEZ-MALAVÉ *et al.*, 2009). Também apresentou atividade contra cepas de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de pacientes hospitalares do National Children's Hospital da Costa Rica (GABRIEL *et al.*, 2015).

Apesar de evidências sugerirem que a atividade antibacteriana de diversos méis de abelhas está relacionada a componentes com alta atividade biológica, como açúcar, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), ácidos fenólicos, flavonoides, metilglioxal (MGO) e defensina-1 de abelha (KWAKMAN *et al.*, 2010; PINHEIRO *et al.*, 2018), esses ensaios não evidenciaram correlação entre a atividade microbiana do mel de jataí e a presença de componentes bioativos (GABRIEL *et al.*, 2015; GAMBOA ABRIL; FIGUEROA RAMIREZ, 2009; MIORIN *et al.*, 2003; RODRÍGUEZ-MALAVÉ *et al.*, 2009). No entanto, foi relatado que a atividade antibacteriana apresenta diferentes resultados com base na origem geográfica, sendo que a diversidade polínica, localização e clima exercem influência significativa em suas propriedades

terapêuticas (CAMARGO; PEREIRA; LOPES, 2002; GAMBOA ABRIL; FIGUEROA RAMIREZ, 2009; MIORIN *et al.*, 2003). Com destaque para os compostos fenólicos e flavonoides, o mel de jataí apresenta uma marcante capacidade antioxidante, cuja distribuição desses compostos é influenciada pela origem floral específica do mel analisado (LIMA *et al.*, 2022). Entre os compostos bioativos identificados no mel de jataí, destaca-se a rutina, um composto fenólico conhecido por suas múltiplas aplicabilidades terapêuticas devido às propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (BRAGHINI *et al.*, 2021; YANG; GUO; YUAN, 2008). Adicionalmente, o ácido ferúlico emerge em abundância no mel de jataí (LIMA *et al.*, 2022). Em estudos envolvendo lesões induzidas em animais diabéticos, verificou-se que o ácido ferúlico acelerou significativamente o processo de cicatrização (GHAISAS; KSHIRSAGAR; SAHANE, 2014).

A presença desses antioxidantes nos méis de abelhas desempenha um papel crucial no processo de cicatrização de lesões, associando-se a uma redução na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e no dano tecidual (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007). Assim, a incorporação de antioxidantes em formulações cicatrizantes destaca-se como uma estratégia promissora para otimizar a eficiência no tratamento de lesões cutâneas (ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2016).

2.2 *Tetragonisca angustula* Latreille

A *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae), ilustrada na Figura 1, é comumente reconhecida pelos nomes populares de abelha jataí, jataí-verdadeira e jataí-amarela (ARANDA; BENETTI; OLIVEIRA, 2022; MOURE; URBAN; MELO, 2013). Ela é sinônima de *Trigona angustula* (Latreille, 1811), *Tetragonisca jaty* (Smith, 1863) e *Trigona jaty* (Smith, 1863) (GBIF, 2022). Esta espécie pertence à subfamília Meliponinae da tribo Meliponini, caracterizada por abelhas com agulhão atrofiado, razão pela qual são conhecidas como abelhas sem ferrão (BRAGHINI *et al.*, 2021; REBOUÇAS *et al.*, 2022).



Figura 1. Fotografias de *Tetragonisca angustula*, abelha jataí. Fonte: RAPOSO (2021).

A prática de criar abelhas sem ferrão é conhecida como meliponicultura, uma tradição originária de povos ancestrais que atualmente ganha relevância diante da crise ecológica global enfrentada pelos polinizadores (ARANDA; BENETTI; OLIVEIRA, 2022). A polinização desempenhada por abelhas sem ferrão é fundamental para aumentar e aprimorar a qualidade da produção agrícola (VENTURIERI, 2008). Além disso, o mel produzido por essas abelhas contribui significativamente para a economia, mesmo apresentando um valor mais elevado para os consumidores em comparação com o mel da *Apis mellífera*. Isso se deve à alta demanda no mercado, impulsionada pelo sabor e aroma incomparáveis do mel de abelhas sem ferrão (CARVALHO *et al.*, 2005). Entre as diversas espécies de abelhas sem ferrão, a *T. angustula* destaca-se como a mais popular e cultivada por meliponicultores brasileiros (ARANDA; BENETTI; OLIVEIRA, 2022; BASTOS; LIMA; DÓREA, 2020).

2.3 Bactérias e antibióticos

As bactérias são microrganismos unicelulares procariontes, apresentando formas básicas como esféricas, em bastão e espirais (CARVALHO, 2010). Protegidas por um envelope, são classificadas como bactérias gram-negativas ou gram-positivas. As gram-negativas possuem uma fina parede celular de peptidoglicano e uma membrana externa contendo lipopolissacarídeo, enquanto as gram-positivas não têm membrana externa, mas possuem camadas de peptidoglicano mais espessas (SILHAVY; KAHNE; WALKER, 2010). Encontradas em diversos habitats, desde o ambiente até organismos, as bactérias têm importância médica por serem causadoras de doenças infecciosas (CARVALHO, 2010; GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Os antibióticos, compostos de origem natural ou sintética, são empregados para tratar infecções bacterianas. Podem ser classificados como bactericidas, capazes de eliminar bactérias, ou bacteriostáticos, quando inibem o crescimento microbiano (NEMETH; OESCH; KUSTER, 2015). A penicilina G, descrita em 1929, marcou o início da era dos antimicrobianos terapêuticos, com seu desenvolvimento e industrialização crescendo significativamente a partir da década de 1940. Entre as décadas de 1960 e 1980, foram introduzidos os antibióticos de origem semissintética, seguidos pela busca genômica de antibióticos entre 1980 e 2000 (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). Contudo, o uso indiscriminado de antibióticos levou a um aumento da resistência bacteriana, sendo um dos mecanismos a aquisição celular de elementos genéticos, transferindo resistência e virulência de outras cepas bacterianas (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010; ONDUSKO; NOLT, 2018). Após os anos 2000, a

descoberta de antibióticos entrou em declínio, com apenas um medicamento sintético introduzido no mercado em 2001, reacendendo o interesse na busca por terapêuticos antimicrobianos de origem natural (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito do mel de *T. angustula* em cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*.

2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus Rosenbach 1884 é uma bactéria esférica, gram-positiva, anaeróbica facultativa e não móvel. Podem ocorrer isoladas ou aglomeradas e morfologicamente parecem um cacho de uvas (CHAPAVAL *et al.*, 2009; PARTE *et al.*, 2020). O habitat natural de *Staphylococcus aureus* em humanos é a pele e a nasofaringe, pode causar infecções mais simples como espinhas, furúnculos e celulites, e infecções mais graves como meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico e septicemia (FOSTER, 2002; SANTOS *et al.*, 2007). Também sendo a bactéria mais comum encontrada em lesões crônicas, dentre elas associados a lesões causadas em pés diabéticos (LIMA *et al.*, 2011; XU *et al.*, 2021). São resistentes à meticilina e à clindamicina, contudo, estão suscetíveis a gentamicina que é utilizada como controle positivo em investigações que mensuram halos de inibição bacterianas (ONDUSKO; NOLT, 2018; TAM *et al.*, 2006). O mel de *T. angustula* apresentou atividade antimicrobiana contra as cepas de *Staphylococcus aureus* (GAMBOA ABRIL; FIGUEROA RAMIREZ, 2009; MIORIN *et al.*, 2003; RODRÍGUEZ-MALAVAR *et al.*, 2009).

2.3.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa (Schroeter 1872) Migula 1900, é uma bactéria gram-negativa, não fermentadora, aeróbia e móvel (FIGUEREDO *et al.*, 2021; PARTE *et al.*, 2020; WU *et al.*, 2011). Por ser um microrganismo gram-negativo, possui uma membrana citoplasmática com uma bicamada fosfolipídica, o que confere resistência através da barreira de permeabilidade (FERNÁNDEZ; HANCOCK, 2012). As infecções causadas por *P. aeruginosa* variam de infecções cutâneas a doenças sistêmicas. As manifestações da bactéria na pele podem ser superficiais ou profundas, no qual em indivíduos imunocomprometidos a morbidade e mortalidade é maior (WU *et al.*, 2011). Dentre as mais comuns portas de entrada para o organismo estão as queimaduras e as dermatites (MIELKO *et al.*, 2019). Apesar de sua

resistência a antibióticos, *P. aeruginosa* apresentou suscetibilidade microbiana a gentamicina (NOGUEIRA *et al.*, 2009; PAVIANI; STADNIK; HEINEK, 2004). Além disso, o mel de *T. angustula* demonstrou eficácia antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa* (GABRIEL *et al.*, 2015)

2.3.3 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae (Schroeter 1886) Trevisan 1887, é uma bactéria gram-negativa, encapsulada, anaeróbia facultativa em forma de bastonete (GASINK *et al.*, 2009; KONEMAN; ALLEN, 2008; PARTE *et al.*, 2020). Pode ser encontrada na microbiota da pele normal, na orofaringe e nas fezes de indivíduos saudáveis, além de estar relacionada com pneumonias, infecções de lesões e do trato urinário (AHN *et al.*, 2016; KONEMAN; ALLEN, 2008). As infecções hospitalares por *K. pneumoniae* levam a internações prolongadas e óbito de pacientes. São bactérias oportunistas e resistentes, não sendo susceptíveis a penicilina e ao ciprofloxacino que são antibióticos comumente prescritos para infecções bacterianas, contudo, apresenta sensibilidade a gentamicina (AFONSO *et al.*, 2019; CERQUEIRA *et al.*, 2011; SANTOS FILHO; FIUZA, 2020; WYRES; LAM; HOLT, 2020). Estudos demonstram o efeito antibacteriana do mel de *T. angustula* em cepas de *Klebsiella pneumoniae* (GAMBOA ABRIL; FIGUEROA RAMIREZ, 2009).

2.3.4 *Escherichia coli*

Escherichia coli (Migula 1895) Castellani e Chalmers 1919, é uma bactéria Gram-negativa anaeróbia facultativa, fermentadora, em forma de bastão e podem ser móveis ou imóveis (KONEMAN; ALLEN, 2008; PARTE *et al.*, 2020; SANTOS FILHO; FIUZA, 2020). A *E. coli* habita principalmente o trato intestinal inferior de aves e mamíferos, sendo frequentemente encontrada no ambiente devido descarte inadequado de fezes, contudo existem relatos de sobrevivência prolongada locais extraintestinais (JANG *et al.*, 2017). É uma bactéria causadora de infecções de pele, no trato urinário, meningite em recém-nascidos, além de estar comumente envolvidas em septicemias (KONEMAN; ALLEN, 2008; RANJAN *et al.*, 2017; SANTOS FILHO; FIUZA, 2020). Apresenta níveis significativos de resistência a antimicrobianos, contudo, é suscetível a gentamicina além de o mel de jataí ter demonstrado atividade antibacteriana (CUEVAS *et al.*, 2009; GAMBOA ABRIL; FIGUEROA RAMIREZ, 2009; PIRES *et al.*, 2007; RODRÍGUEZ-MALAVAR *et al.*, 2009).

2.4 Histologia da pele

A pele é um órgão vital que funciona como barreira aos agentes externos, sendo uma de suas funções a proteção (OPNEJA; KAPOOR; STAVROU, 2019). É histologicamente composta por suas camadas, a epiderme e derme (MITTAG *et al.*, 2017). A epiderme é um tecido epitelial de revestimento estratificado, pavimentoso e queratinizado, sendo primariamente constituída por queratinócitos que mantêm a função de barreira (ROSS; PAWLINA, 2016; SANGIOVANNI *et al.*, 2019). A derme é a camada da pele subjacente a epiderme, possui elementos de sustentação de origem conjuntiva, sendo dividida estruturalmente em camada papilar e camada reticular conforme representado na **Figura 2** (ROSS; PAWLINA, 2016).

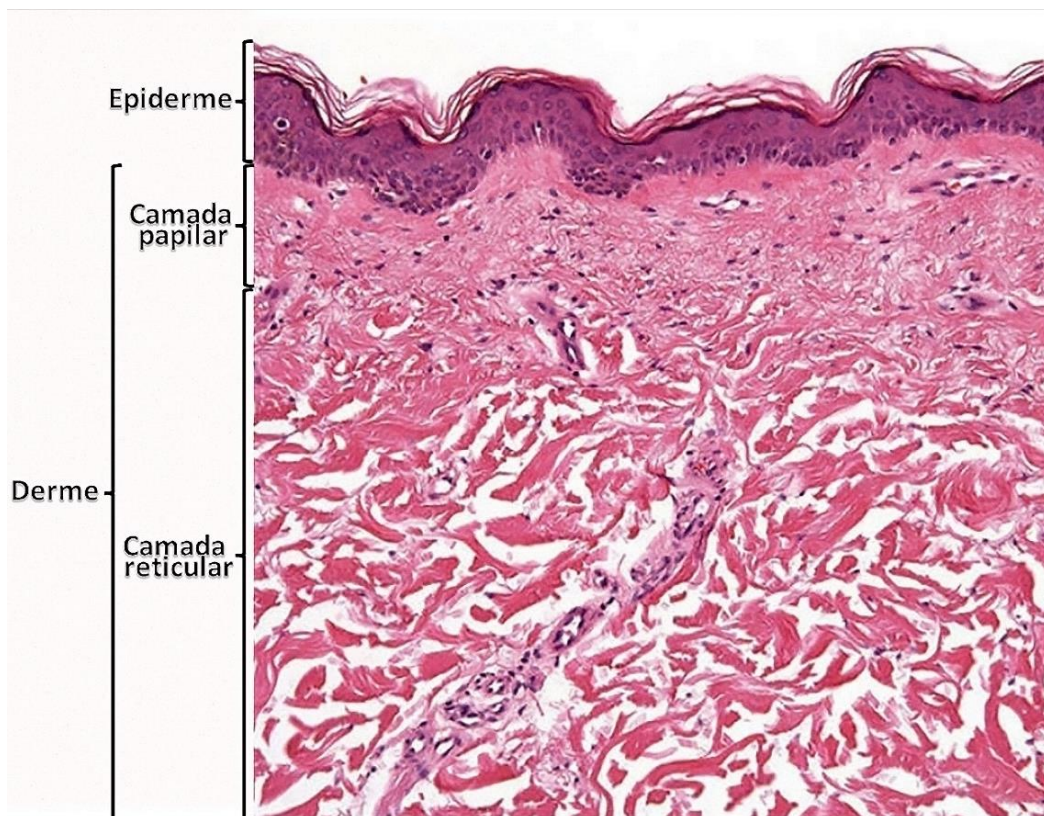


Figura 2. Histologia da epiderme e derme da pele. Fotomicrografia da pele saudável corada em hematoxilina e eosina (HE). A epiderme e as camadas papilar e reticular da derme estão demarcadas na imagem.

Fonte: Adaptado de ELDER *et al.*, (2011 p. 96).

Os queratinócitos da epiderme são organizados em quatro camadas: estrato basal, estrato espinhoso, estrato granuloso e estrato córneo (ELDER *et al.*, 2011). O estrato basal é geralmente formado por uma camada de células, com o núcleo arredondado e possui alta atividade mitótica (ELDER *et al.*, 2011). A camada subjacente é o estrato espinhoso, as células são poliédricas,

sendo composta de 5 a 10 camadas de células que se tornam achatadas à medida que aproximam da superfície da pele (ELDER *et al.*, 2011). Posteriormente está o estrato granuloso, as células são achatadas e com citoplasma repleto de grânulos de querato-hialina. No estrato granuloso inicia-se a formação da barreira física, pois lipídios são secretados pelas células superficiais da camada (ELDER *et al.*, 2011; NARANGIFARD *et al.*, 2021). A quantidade de camadas é proporcional ao estrato córneo, sendo na pele fina de 1 a 3 camadas e na pele grossa podendo chegar a 10 camadas (ELDER *et al.*, 2011). O estrato córneo, camada mais superficial, é composto por remanescentes celulares anucleados e sua espessura é variável. Sendo esta camada responsável pela barreira física da pele devido a presença da queratina e dos lipídeos (ELDER *et al.*, 2011; NARANGIFARD *et al.*, 2021).

A derme é a camada mais espessa da pele, possuindo a maior proporção de matriz extracelular (MEC) (ELDER *et al.*, 2011; SANGIOVANNI *et al.*, 2019). Além de possuir células residentes que são os fibroblastos, macrófagos e mastócitos (ELDER *et al.*, 2011). Os fibroblastos, tipo celular mais abundante, sintetizam elementos da MEC, dentre eles o colágeno, e possuem a capacidade de se diferenciar em fibrócitos ou miofibroblastos (EMING; KRIEG; DAVIDSON, 2007; SARRAZY *et al.*, 2011). Os macrófagos são células precursoras dos monócitos e se localizam no espaço perivascular, contudo dependendo do estímulo podem ser encontrados em qualquer lugar da derme. Os mastócitos (MCs) são derivados de células da medula óssea vermelha, geralmente ficam localizados ao redor de vênulas pós-capilares (ELDER *et al.*, 2011). Os fibroblastos, macrófagos e MCs estão relacionados à cicatrização de lesões (NG, 2010; WOLF; MELVIN; GALLAGHER, 2021).

A camada papilar da derme consiste em um tecido conjuntivo frouxo, sendo composta de colágeno, principalmente do tipo III, no qual as fibras são delgadas formando uma rede irregular, contendo vasos sanguíneos de fino calibre e terminações nervosas (ELDER *et al.*, 2011; ROSS; PAWLINA, 2016). A camada reticular, posicionada subjacente a papilar, consiste em tecido conjuntivo denso não modelado, apresentando feixes de colágeno, principalmente do tipo I, fibras elásticas mais grossas e vasos sanguíneos calibrosos (KANITAKIS, 2002; ROSS; PAWLINA, 2016). Além disso, a camada reticular é responsável pela resistência à laceração da pele, devido a presença de feixes espessos de colágeno direcionados em diversos planos (ROSS; PAWLINA, 2016). Sendo a pele saudável composta de 80 a 90% de colágeno tipo I e 10 a 20% do tipo III (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006).

2.5 Cicatrização de lesões

A pele é a maior interação do organismo com o ambiente externo, podendo sofrer lesões (MACLEOD; HAVRAN, 2011). Uma lesão cutânea resulta na ruptura da sequência do tecido epitelial e do tecido conjuntivo subjacente da pele (OPNEJA; KAPOOR; STAVROU, 2019). A cicatrização é um processo de propriedade homeostática com a finalidade de restaurar a integridade do tecido após danos, dessa forma, assim dificultando a entrada de patógenos infecciosos (OPNEJA; KAPOOR; STAVROU, 2019). A cicatrização de lesões transcorre em quatro etapas denominadas de hemostasia, inflamatória, proliferativa e remodelamento, representadas na **Figura 3** (YUSSOF *et al.*, 2012). As etapas acontecem em sobreposição e os eventos de uma etapa propiciam condições para a próxima (ZINDER *et al.*, 2019). A descontinuação em qualquer etapa impossibilita a sequência da cicatrização, ocasionando o surgimento de lesões crônicas. Assim, uma resposta inflamatória prolongada e/ou exacerbada pode gerar um dano tecidual extenso ou favorecer a fibrose (DE MOURA *et al.*, 2019).

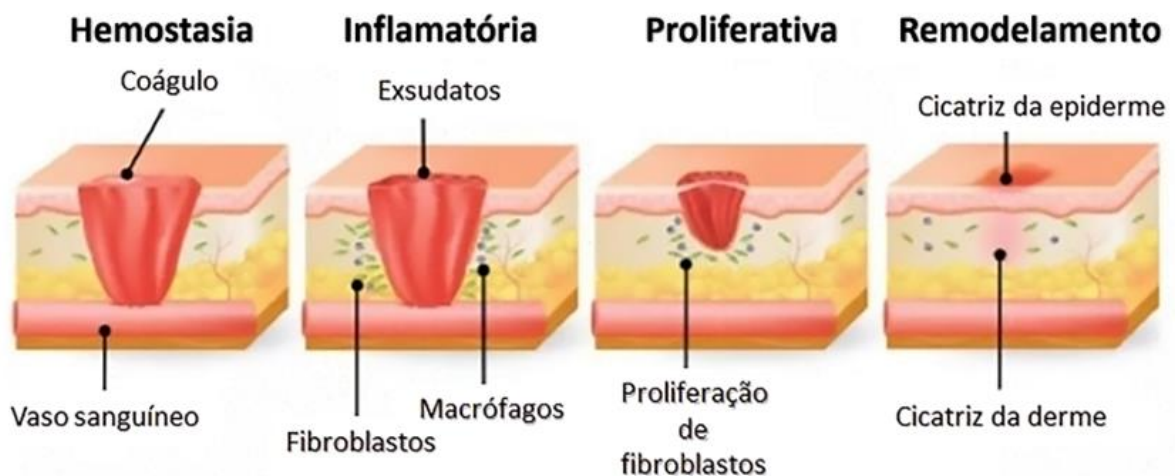


Figura 3. Etapas da cicatrização de lesões. Imagens representando a hemostasia, inflamatória, proliferativa e remodelamento. Elementos como coágulo, exsudatos, vasos sanguíneos, fibroblastos, macrófagos, a proliferação de fibroblastos e a cicatriz epidérmica e dérmica estão indicadas na figura.

Fonte: Adaptado de Inova News Room (2017).

2.5.1 Hemostasia

A hemostasia é a primeira etapa da cicatrização, iniciando imediatamente ao dano tecidual, formando uma matriz provisória, e sua resolução acontece após algumas horas (REINKE; SORG, 2012). Com a ruptura dos vasos sanguíneos, os componentes são extravasados, iniciando a cascata de coagulação que resulta na ativação plaquetária. Assim, elementos vasoativos, em resposta a degranulação de MCs residentes, promovem a vasoconstrição imediata, reduzindo a perda sanguínea (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; KUMAR *et al.*, 2015; YUSSOF *et al.*, 2012). A lacuna da lesão é preenchida pelo coágulo de sangue que contém fibrina, fibronectina, vitronectina, trombospondinas, sendo rico em citocinas e fatores de crescimento importantes para as próximas etapas da cicatrização (REINKE; SORG, 2012; YUSSOF *et al.*, 2012). Além disso, é nessa fase que a inflamação tem início, induzida por mediadores liberados pelas plaquetas como o fator de crescimento transformante beta (TGF- β) e o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; REINKE; SORG, 2012).

2.5.2 Inflamação

Na área circunvizinha da lesão, manifestam-se os sinais cardinais da inflamação, caracterizados por vermelhidão, inchaço, calor e dor (WALLACH; KANG; KOVALENKO, 2014). Durante o processo inflamatório, ocorre aumento da permeabilidade vascular devido à vasodilatação, facilitando a produção de exsudato e a migração de células inflamatórias (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; CHAMANGA, 2015; YUSSOF *et al.*, 2012). O exsudato, rico em proteínas, eletrólitos e componentes inflamatórios como leucócitos, fibrinogênio e fibrina, desempenha um papel crucial na criação de um ambiente úmido essencial para a cicatrização, evitando a dessecação do tecido conjuntivo previamente protegido pela epiderme (CHAMANGA, 2015; CUTTING, 2003; JANIS; HARRISON, 2014).

As plaquetas desempenham um papel vital na atração de neutrófilos e monócitos para o local da lesão, com plaquetas aderentes nos vasos sanguíneos capturando essas células (ZARBOCK; POLANOWSKA-GRABOWSKA; LEY, 2007). Por meio do mecanismo de diapedese, neutrófilos e monócitos atravessam o endotélio para alcançar o microambiente da lesão, onde os monócitos se diferenciam em macrófagos (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; BASTARRACHEA *et al.*, 2007). Os neutrófilos são os primeiros a chegar, seguidos pelos macrófagos, desempenhando ambos um papel crucial na assepsia da lesão e liberando

mediadores essenciais para as diversas fases da cicatrização. Nos estágios de resolução da inflamação, os macrófagos fagocitam detritos celulares, incluindo neutrófilos apoptóticos (WU *et al.*, 2011).

2.5.3 Proliferativa

A fase proliferativa desdobra-se em três estágios: fibroplasia, granulação e epitelização. Os macrófagos secretam mediadores químicos que induzem a migração e ativação de fibroblastos, um processo denominado fibroplasia (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005; ISAAC *et al.*, 2010; YUSSOF *et al.*, 2012). Os fibroblastos são responsáveis pela síntese de componentes da matriz extracelular (MEC), produzindo colágeno, elastina, fibronectina, glicosaminoglicanos e proteoglicanos (PAGNANO *et al.*, 2008). Tanto os fibroblastos quanto as células endoteliais dos vasos sanguíneos pré-existentes proliferam em direção à lesão para formar o tecido de granulação (SARRAZY *et al.*, 2011), que é composto por 30% de colágeno do tipo III (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006).

Concomitantemente, ocorre a migração e proliferação do endotélio, conhecida como angiogênese, que resulta na formação de uma nova rede capilar para intensificar a vascularização do tecido de granulação (FOLKMAN; SHING, 1992; LAUREANO; RODRIGUES, 2011). Macrófagos e plaquetas ativadas liberam fator de crescimento transformante alfa (TGF- α) e fator de crescimento epidérmico (EGF), estimulando a capacidade mitogênica e quimiotática dos queratinócitos, promovendo a reepitelização (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006; DE MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009).

2.5.4 Remodelamento

A fase de remodelamento, a mais longa do processo, pode se estender por até 12 meses ou mais (OLIVEIRA; DIAS, 2012). No tecido de granulação, ocorre a redução de glicosaminoglicanos, proteoglicanos e capilares, visto que são incorporados a vasos sanguíneos de maior calibre (DE MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009; DIEGELMANN; EVANS, 2004). O colágeno do tipo III diminui para restabelecer a proporção de 10% a 20% presente na pele saudável (DE MENDONÇA; COUTINHO-NETTO, 2009; ISAAC *et al.*, 2010). A reorganização do colágeno é gradual, inicialmente deposita-se o colágeno do tipo III, que é posteriormente substituído pelo colágeno do tipo I, conferindo resistência tênsil à cicatriz (DIEGELMANN; EVANS, 2004; ISAAC *et al.*, 2010).

As metaloproteinases de matriz (MMPs) são enzimas cruciais no processo de degradação e remodelação da matriz extracelular (MEC), uma complexa rede de proteínas que fornece suporte estrutural e regula diversas funções celulares (YOUNAN *et al.*, 2011). Essas enzimas desempenham um papel fundamental em processos fisiológicos, como o desenvolvimento embrionário, a cicatrização de feridas e a remodelação tecidual, além de estarem envolvidas em condições patológicas, como inflamação, câncer e doenças articulares. As MMPs são responsáveis pela degradação do colágeno durante o reparo de lesões (YOUNAN *et al.*, 2011). Os macrófagos (MCs) também desempenham uma função crucial ao expressar metaloproteinase-9 de matriz (MMP9) e enzimas que ativam as MMPs (LINDSTEDT; MÄYRÄNPÄÄ; KOVANEN, 2007; YOUNAN *et al.*, 2011). Após a conclusão dos eventos iniciais da inflamação, os fibroblastos que expressam a α -actina de músculo liso se diferenciam em miofibroblastos, responsáveis pela síntese de colágeno do tipo I (SARRAZY *et al.*, 2011). O fechamento da lesão é acelerado quando os miofibroblastos se ligam, alinhando-se a essas fibras de colágeno mais espessas (ISAAC *et al.*, 2010). Esses processos são essenciais para a reparação adequada do tecido lesionado.

2.5.5 Sulfadiazina de prata como cicatrizante

A pomada de sulfadiazina de prata a 1% é principalmente utilizada em cicatrização de queimaduras e em lesões infectadas, contudo a literatura demonstra sua utilização como controle positivo em lesões induzidas (COSTA *et al.*, 2018; GONÇALVES *et al.*, 2016; MIRNEZAMI *et al.*, 2018; SIA *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020). Análises demonstraram que a sulfadiazina de prata favorece a formação do tecido de granulação e promove a epitelização completa em lesões induzidas após 14 dias de tratamento (COELHO *et al.*, 2010; MIRNEZAMI *et al.*, 2018). Desse modo, o presente estudo visa avaliar o efeito do mel de *T. angustula* no processo de cicatrização em animais experimentais tendo a sulfadiazina de prata como controle positivo.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este estudo teve o propósito avaliar a atividade *in vitro* do mel de *Tetragonisca angustula* Latreille de Corumbáiba, Goiás, Brasil em cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. Assim como, avaliar parâmetros do processo de cicatrização do uso tópico do mel de *T. angustula* de Corumbáiba, Goiás, Brasil em lesões induzidas em camundongos.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar *in vitro* os halos de inibição do mel de jataí contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*;

- Mensurar *in vivo* o efeito do uso tópico de mel de jataí no fechamento de lesões induzidas;

- Avaliar micrografias coradas com Picrosirius Red, Tricômico de Gomori e Azul de Toluidina para quantificar, respectivamente deposição de colágeno, angiogênese e infiltrado de mastócitos;

- Quantificar indiretamente a atividade de neutrófilos e macrófagos pela atividade enzimática, respectivamente pela dosagem de Mieloperoxidase (MPO) e N-Acetyl- β -D-Glycosaminidase (NAG).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção do mel de *T. angustula* Latreille

O mel de abelhas jataí utilizado neste estudo, foi cedido por um meliponicultor familiar à Universidade Federal de Uberlândia (UFU). A coleta foi realizada da zona rural de

Corumbaba, Goiás, Brasil (17°58'30.0"S 48°28'09.2"W) por intermédio da professora doutora Fernanda Helena Nogueira Ferreira, coordenadora do Laboratório de Ecologia e Comportamento de Abelhas (LECA). O mel foi transportado em embalagem hermeticamente fechada e refrigerado a 12 °C, posteriormente foi armazenado nas mesmas condições para a realização dos experimentos.

4.2 Avaliação da atividade antibacteriana do mel de *T. angustula* Latreille

4.2.1 Cepas bacterianas

Na avaliação da atividade antibacteriana do mel de *T. angustula* foram obtidas cepas da American Type Culture Collection (ATCC), pois são estáveis geneticamente e padronizadas para os principais parâmetros no controle de qualidade do teste de disco-difusão (SEJAS *et al.*, 2003). As cepas ATCCs utilizadas foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 e *Escherichia coli* ATCC 25922, todas suscetíveis à gentamicina. Antes de serem utilizadas no estudo, todas as cepas foram armazenadas no Laboratório de Ensaio Antibacterianos (LEA) da UFU, em caldo Triptona de Soja (TSB) com acréscimo de glicerol (20%), numa temperatura de -20°C.

4.2.2 Avaliação da atividade antimicrobiana pelo teste de disco-difusão

Para avaliar a atividade antibacteriana do mel, foi utilizado o método Kirby-Bauer de disco-difusão (CLSI, 2021). Sendo coletado uma alçada de bactérias, posteriormente transferidas para tubos de ensaio contendo solução salina e homogeneizadas levemente em agitação. A padronização das soluções obtidas foi pela escala de MacFarland a 0,5. Os microrganismos foram semeados em placas de petri contendo ágar Müller-Hinton. Foi avaliado o mel de abelhas jataí em três concentrações, sendo o mel puro (100%) e diluído em água destilada com 50% e 75% (BATISTON, 2017). As amostras de mel de jataí podem ser observadas na **Figura 4A**. As cepas foram cultivadas em placas de petri como representado na **Figura 4B**. Após a semeadura nas placas, foram depositados discos contendo as concentrações de mel em 100%, 75% e 25% e o CT e incubadas a 33°C por 24 horas como demonstrado na **Figura 4C**. Depois deste período os halos inibitórios foram formados e mensurados com auxílio de uma régua. Os antibiogramas foram realizados em triplicatas e os tratamentos com o mel de jataí comparados com o controle de gentamicina – 0,1 mg/mL (CT).

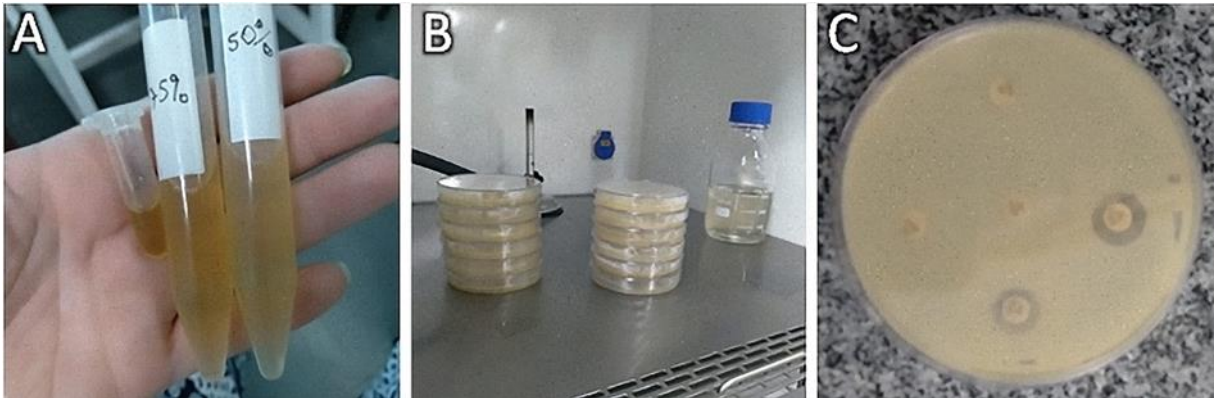


Figura 4. Imagens de etapas do ensaio disco-difusão. (A) Aliquotas no mel de jataí puro (100%) e o diluído em duas concentrações (75% e 50%). (B) Placas de petri com cepas semeadas. (C) Antibiograma após a incubação a 33°C por 24 horas, com discos depositados e com formação de halo. Fonte: O autor, 2023.

4.3 Obtenção dos animais e distribuição dos grupos de tratamento

Foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Uberlândia o ensaio experimental *in vivo* para a utilização de camundongos machos da linhagem BALB/c, sob registro 50/2020. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais na Rede de Biotério e Roedores da UFU (REBIR-UFU) em condições padrão de temperatura, umidade, iluminação, água e ração *ad libitum*. As lesões foram induzidas entre 8 e 9 semanas de vida dos animais. Os 48 animais foram divididos em três grupos com 8 animais cada e avaliados nos tempos 3 (T3) e 7 (T7) dias. Sendo o controle negativo (CO-), lesões não tratadas; o controle positivo (CO+), lesões tratadas com a sulfadiazina de prata 1%; e o grupo mel de jataí (MEL), lesões tratadas com mel puro de *T. angustula*, como representado na **Figura 5 A, B, C**. As lesões foram tratadas diariamente, conforme os grupos, sendo que para CO- e MEL foi utilizado uma seringa estéril para aplicar a quantidade suficiente para cobertura total do tecido lesionado, equivalente a aproximadamente 0,10 mL (10UI) dos tratamentos em cada lesão.



Figura 5. Lesões induzidas sem tratamento e com tratamento de sulfadiazina de prata e mel de jataí .
 (A) Animal com lesões induzidas e sem tratamento do grupo controle negativo(CO-). (B) Aplicação de sulfadiazina de prata (CO+) em lesões no dorso do animal, sendo realizado com auxílio de uma seringa (C) Animal tratado com mel de jataí (MEL) em lesões induzidas. Fonte: O autor, 2023.

4.4 Indução e avaliação do fechamento de lesões

Os animais foram anestesiados com 10mg/kg de xilazina e 100mg/kg de cetamina. A região dorsal foi tricotomizada, realizado assepsia da pele na região dorsal com álcool 70% e induzidas quatro lesões com um *punch* cirúrgico de 5 mm. A lesão foi medida usando um paquímetro digital (150 mm-Matriz) logo após a indução da lesão e medida após 3 e 7 dias de tratamento (DE MOURA *et al.*, 2022). Imagens das lesões nos dias 0, 3 e 7 foram obtidas com uma câmera (Sony Cybershot 14,1 DSC W320). A porcentagem de fechamento da lesão foi calculada usando as seguintes equações: área da lesão = (diâmetro menor/2) * (diâmetro maior/2) * π e medição da área (%) = % fechamento da lesão = $[1 - (Af)/(Af_0) \times 100]$, onde: Af é área da lesão no dia avaliado; Af₀ é a área inicial da lesão (DE MOURA *et al.*, 2022).

4.5 Avaliação histoquímica

Após os tratamentos, os animais foram eutanasiados por aprofundamento anestésico, com 100 mg/Kg de tiopental, via intraperitoneal, seguido de deslocamento cervical. As lesões foram coletadas utilizando um *punch* cirúrgico de 8mm e imediatamente fixadas em Metacarn (metanol, ácido acético e clorofórmio 6: 3: 1 v/v) por no mínimo 3 horas em resfriamento. Posteriormente as amostras foram incluídas em blocos de parafina e as lâminas histológicas obtidas por cortes das amostras na espessura de 5 μ m em microtômo rotativo (MICROM / HM-315), conforme representado na **Figura 6 A, B, C**.

A quantificação de MCs foi realizada em fotomicrografias coradas com Azul de Toluidina 0,25% pH 3.0 e para mensurar a quantidade de vasos sanguíneos, os cortes das amostras foram corados com Tricômico de Gomori (DE MOURA *et al.*, 2022). As imagens foram obtidas em um scanner de lâminas Aperio – ScanScopeAT -Turbo. A quantificação de MCs e vasos sanguíneos foi realizada em 10 campos no aumento de 40X utilizando o software Aperio Image Scope (v12.4.3.5008), pela ferramenta *conter tool*.

Para quantificar o colágeno da área das lesões, as lâminas foram coradas com Picrosirius red e as imagens de 10 campos foram capturadas no aumento de 20x pela câmera Nikon eclipse

Ti, câmera óptica sendo sem filtro de polarização para colágeno total e com filtro de polarização para colágeno tipo I e tipo III. As quantificações das intensidades de cores foram realizadas utilizando-se o software Image J (Rasband 2011) (DE MOURA *et al.*, 2022). Para a obtenção dos resultados do colágeno total e colágeno tipos I e III, o Image J foi previamente calibrado. Sendo que para o colágeno total, as imagens foram convertidas em 8 bits (escala cinza) e quantificadas com a delimitação da área de colágeno usando a ferramenta *threshold*. Para a quantificação dos colágenos tipos I e III, estes foram diferenciados e separados usando a ferramenta *split channels*. Em seguida, as intensidades das cores das fotomicrografias foram quantificadas através da ferramenta *threshold*. O colágeno tipo I é mostrado em intensidade de cor vermelho/laranja e tipo III em verde (DE MOURA *et al.*, 2022).

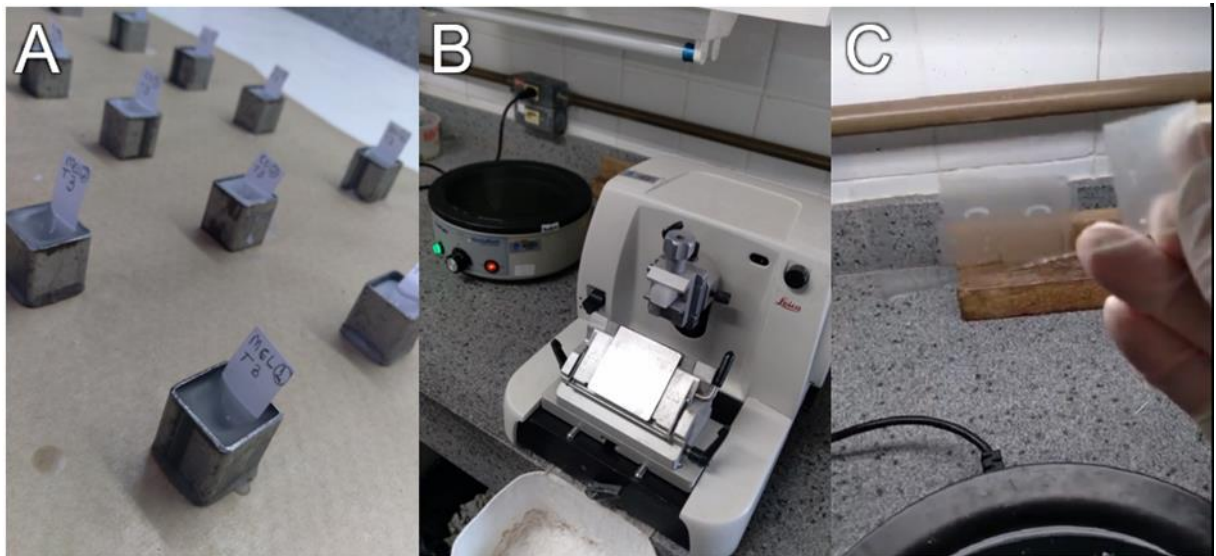


Figura 6. Inclusão em parafina e corte histológico . (A) Amostras incluídas em parafina histológica em moldes de metal e identificadas. (B) Microtômo rotativo para obtenção de cortes histológicos (C) Corte histológico da lesão fixado em lâmina de vidro.

Fonte: O autor, 2023.

4.6 Atividade de mieloperoxidase (MPO)

A atividade de neutrófilos foi obtida por avaliação indireta, feita pela atividade enzimática da Mieloperoxidase (MPO) utilizando a técnica de Bradley *et al.* (1982). Em resumo, uma amostra de lesão de cada grupo foi inicialmente pesada e homogeneizada em 2 mL de tampão de fosfato de sódio de 80 mM no pH 6.0. Posteriormente, 600 μ L de brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB) foram adicionados em um microtubo contendo 300 μ l do homogeneizado. As amostras foram sônicas e centrifugadas à 2.700 x g por 10 minutos a 4°

C. Foram adicionados simultaneamente ao sobrenadante, por 1 minuto, o peróxido de hidrogênio e 3,3', 5,5' - tetrametilbenzidina (TMB). A reação enzimática foi interrompida com ácido sulfúrico (H₂SO₄). Foram inseridas na placa de 96 poços 200 μ L das reações e a leitura foi realizada a 450 nm (E Max, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA). Os resultados de MPO foram expressos como absorvância em densidade óptica/g de peso úmido da lesão.

4.7 Atividade N-Acetyl- β -D-Glycosaminidase (NAG)

A atividade de macrófagos foi obtida por avaliação indireta, pela atividade enzimática da N-Acetyl- β -D-Glycosaminidase (NAG) e foi utilizada a técnica de Bailey (1988). Uma amostra de lesão de cada grupo foi previamente pesada e homogeneizada em 2,0 mL de soro fisiológico 0,9%, com Triton X-100 0,1%. O homogeneizado foi centrifugado 960 x g por 10 minutos a 4° C, e 150 μ L do sobrenadante foi coletado e adicionado em tampão citrato/fosfato (150 μ L). Esta mistura (100 μ L) foi aplicada na placa de 96 poços com 100 μ L de substrato (p-nitrofenil-n-acetil- β -Dglycosaminidase). As amostras foram incubadas a 37° C por 30 minutos. Posteriormente a reação foi interrompida nas amostras com adição de tampão de 0,2 M de glicina, pH 10,6 e na curva do p-nitrofenol. A absorvância foi medida em 400 nm (E Max, Molecular Devices). Os resultados das leituras foram expressos em nmol.mL⁻¹ /mg de peso úmido do implante.

4.8 Análises estatísticas

A avaliação dos halos de inibição bacteriana está demonstrada como média e desvio padrão. Os dados das avaliações das lesões induzidas são apresentados como média e erro padrão e foram testados para distribuição normal usando o teste de Kolmogorov-Smirnov. E posteriormente, foi utilizando ANOVA one-way e pós-teste Bonferroni comparando o tratamento MEL com CO- e CO+ considerando p<0,05. A avaliação estatística e os gráficos foram realizados no programa GraphPad Prism 8®.

5. RESULTADOS

5.1 O mel de jataí não apresentou efeito antibacteriano sobre as cepas avaliadas

As cepas testadas não apresentaram sensibilidade às concentrações de 100%, 75% e 25% de mel de *T. angustula* em resultados obtidos por antibiograma de difusão em disco, conforme representado na **Tabela 1**. Houve a formação de várias cepas satélites, bactérias dentro do halo, em testes em *S. aureus* das concentrações de 100% e 50% do mel de jataí, deste modo os valores das zonas de inibição (ZOI) são iguais a $0,00\pm 0,00$, pois demonstra a resistência dessas bactérias aos tratamentos anulando os valores de halos a serem mensurados (COSTA, 2012). Em *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *E. coli* não houve a formação de ZOI em nenhum dos tratamentos, também sendo indícios de resistência destes microrganismos ao mel de jataí. Os resultados estão demonstrados na **Figura 7**.

Tabela 1. Resultados obtidos por antibiograma pelo teste de disco-difusão com mel de jataí nas concentrações de 100%, 75% e 25%.

Resultados em milímetro (mm)							
Bactérias	Amostras						
	Mel puro(100%) Média±DP	Diluição 75% Média±DP	Diluição 50% Média±DP	Gentamicina – Controle Média DP			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	16,0	14,0	15,0	15,0±0,81
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	16,0	14,0	15,0	15,0±0,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	10,0	10,0	10,0	10±0,00
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	14,0	13,0	14,0	14,0±0,50

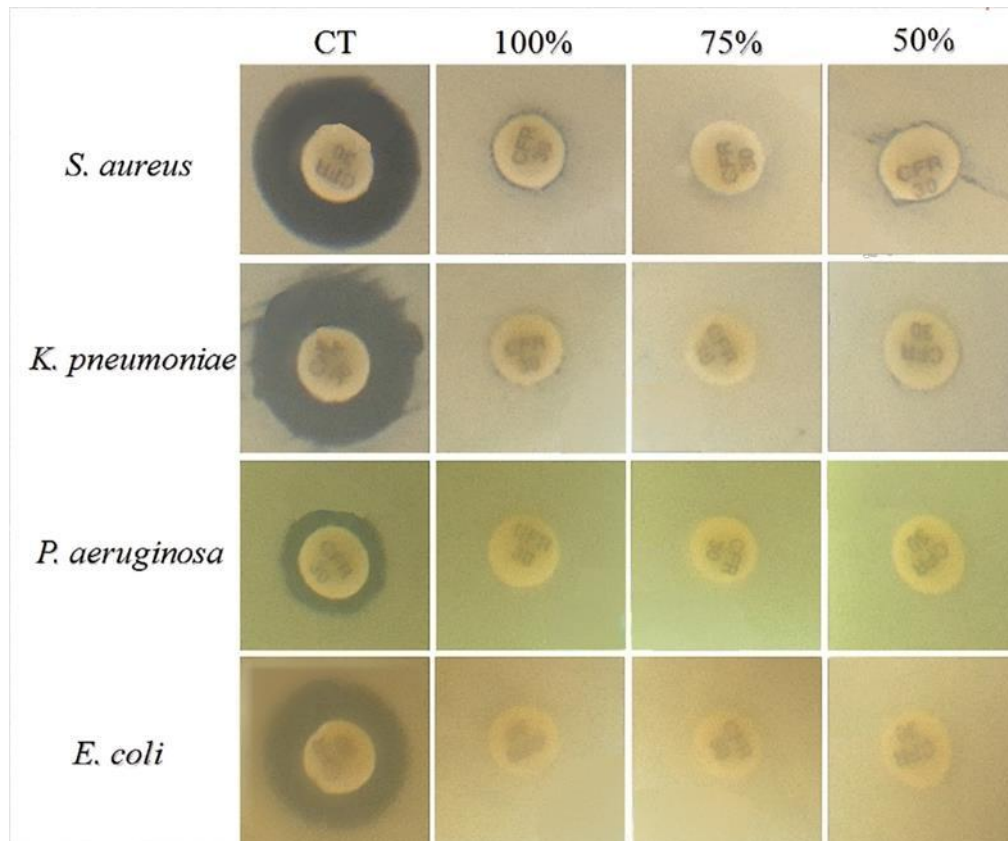


Figura. 7. O mel de jataí não apresenta atividade antibacteriana em *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Fotografias dos antibiogramas da técnica disco-difusão com cepas cultivadas de *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *E. coli*. Tendo como controle (CT) a gentamicina – 0,1 mg/mL e testados o mel de jataí puro (100%) e o diluído em duas concentrações (75% e 50%). Ampliação da imagem foi padronizada a 4,02 cm. Os valores dos halos foram obtidos por média e desvio padrão (Média±DP). Fonte: O autor, 2023.

5.2 O mel de jataí acelera o fechamento de lesões após 7 dias de tratamento

O fechamento da lesão após 3 e 7 dias de tratamento foi avaliado e os resultados demonstrados graficamente na **Figura 8 A**. E imagens macroscópicas das lesões foram obtidas e estão representadas na **Figura 8 B**. Após 3 dias o MEL ($21,02 \pm 1,5$) não apresentou diferença no fechamento de lesões em relação ao CO- ($23,68 \pm 0,8$). Contudo, CO+ ($15,34 \pm 2,1$) retardou o fechamento da lesão comparado com CO- ($23,68 \pm 0,8$). O MEL ($21,02 \pm 1,5$) obteve melhor fechamento que o CO+ ($15,34 \pm 2,1$). Após 7 dias, o MEL ($46,76 \pm 2,5$) acelerou o fechamento da lesão em relação ao CO- ($35,58 \pm 1,6$) e não houve diferença no grupo tratado com CO+ ($43,31 \pm 3,1$).

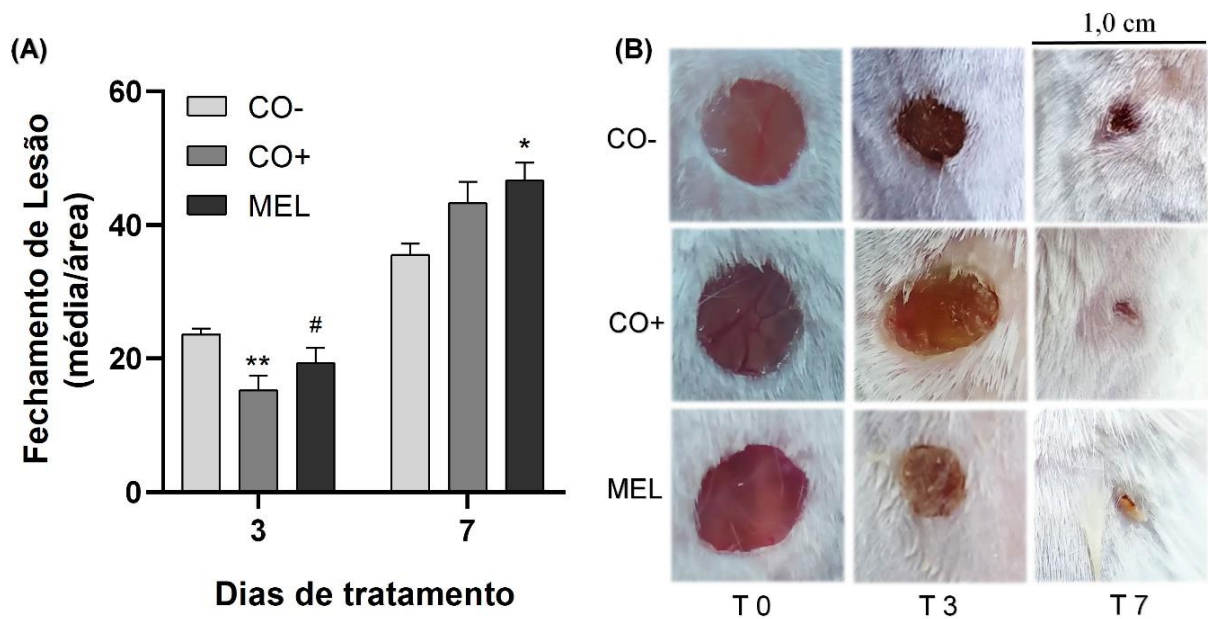


Figura 8. Fechamento de lesões tratadas com mel de jataí após 3 e 7 dias. (A) Fechamento de lesões em animais não tratados (CO-), tratados com sulfadiazina de prata (CO+) e tratados com mel de jataí (MEL) nos tempos 3 (T3) e 7 (T7) dias de tratamento. * indicam diferença considerando $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$, quando comparado com o grupo CO-. # indicam diferença considerando $p < 0,05$, quando comparado com o grupo CO+. Os valores são médias \pm SEM ($n = 8$) e avaliados estatisticamente por one-way ANOVA, e pós-teste Bonferroni. (B) Imagem macroscópica do fechamento da lesão, sendo lesões no dia da indução (T0) e após 3 (T3) e 7 (T3) dias, com ampliação padronizada a 1,0cm. Fonte: O autor, 2023.

5.3 O mel de jataí aumenta a atividade de NAG, marcador para macrófagos, em lesões após 3 e 7 dias de tratamento

A atividade de neutrófilos foi avaliada pela dosagem de MPO e os seus resultados estão representados na **Figura 9 A**. Após 3 dias de tratamento não houve diferença na atividade de neutrófilos entre o grupo MEL ($0,9432 \pm 0,1$) e o CO- ($0,7463 \pm 0,1$). Porém, em comparação com controle positivo (CO+) ($1,574 \pm 0,2$), no MEL houve a redução de atividade de neutrófilos. Após 7 dias de tratamento o MEL ($0,5039 \pm 0,1$) e o CO- ($0,6003 \pm 0,1$) não apresentaram diferença na atividade de neutrófilos, entretanto o CO- ($0,6003 \pm 0,1$) apresentou neutrófilos reduzido em relação ao CO+ ($0,2688 \pm 0,0$).

A atividade de macrófagos foi avaliada pela dosagem de NAG e os seus resultados estão representados na **Figura 9 B**. O MEL ($27,15 \pm 0,1$) após 3 dias de tratamento, apresentou aumento de atividade de macrófagos comparado ao CO- ($21,20 \pm 1,9$), contudo não houve

diferença quando comparado com CO+ (25,27±1,1). Após 7 dias de tratamento, MEL (27,96±3,4) e o CO+(25,97±1,8) apresentaram aumento de atividade de macrófagos comparado com o CO- (17,18±1,6), entretanto não houve diferença entre o MEL (27,96±3,4) e o CO+ (25,97±1,8).

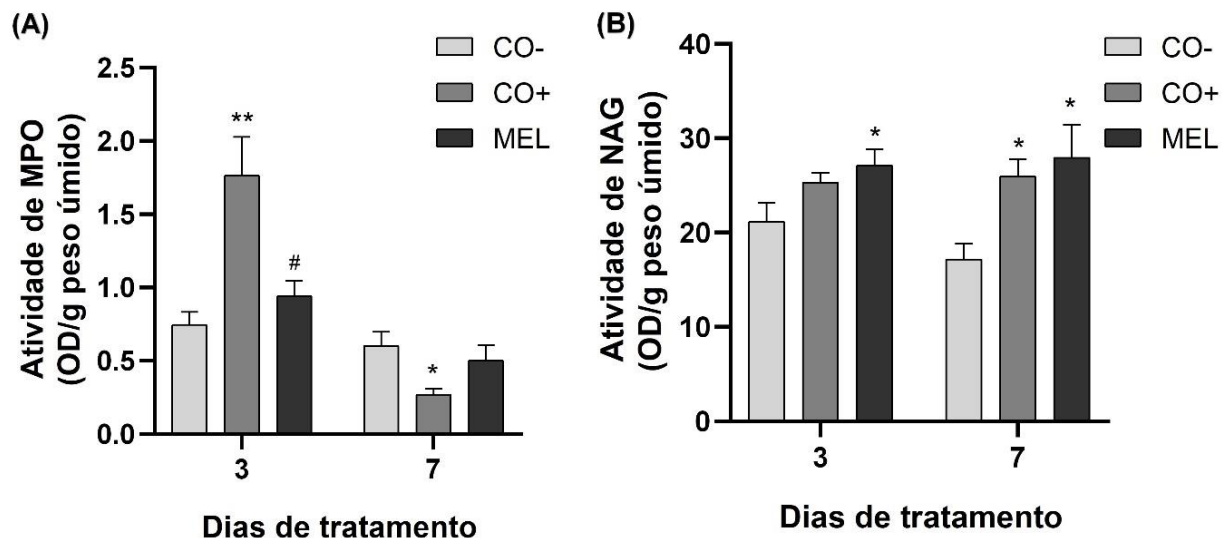


Figura 9. Atividade indireta de neutrófilos e macrófagos em lesões tratadas com mel de jataí após 3 e 7 dias. (A) Atividade de MPO (marcador de neutrófilos) e (B) NAG (marcador de macrófago) em lesões não tratadas (CO-), tratadas com sulfadiazina de prata (CO+) e lesões tratadas com mel de jataí (MEL). * indicam diferença considerando $p < 0,05$ ** $p < 0,01$, quando comparado com o grupo CO-. # indicam diferença quando comparado com o grupo CO+ considerando $p < 0,05$. Os valores são médias \pm SEM ($n = 8$) e avaliados estatisticamente por one-way ANOVA, e pós-teste Bonferroni. Fonte: O autor, 2023.

5.4 O mel de jataí apresenta maior quantidade de mastócitos em lesões após 3 e 7 dias de tratamento

Os MCs foram avaliados na área da lesão e os resultados representados na figura 10 A. As fotomicrografias estão representadas na Figura 10 C. E as áreas de lesões avaliadas, após 7 dias, estão demarcadas pelo retângulo na fotomicrografia da Figura 10 B. Após 3 dias de tratamento houve aumento no número de MCs no grupo tratado com MEL (1,000±0,1) em comparação com o CO- (0,140±0,06) e CO+ (0,400±0,05). Entre o grupo CO- e CO+ não houve diferença. Após 7 dias, a quantidade de MCs identificados no tratamento do MEL (1,600±0,1), foram maiores em comparação com o CO- (0,860±0,5), contudo não houve diferença em relação ao CO+ (1,400±0,1). O tratamento com CO+(1,450±0,1) apresentou aumento de MCs comparados com CO-.

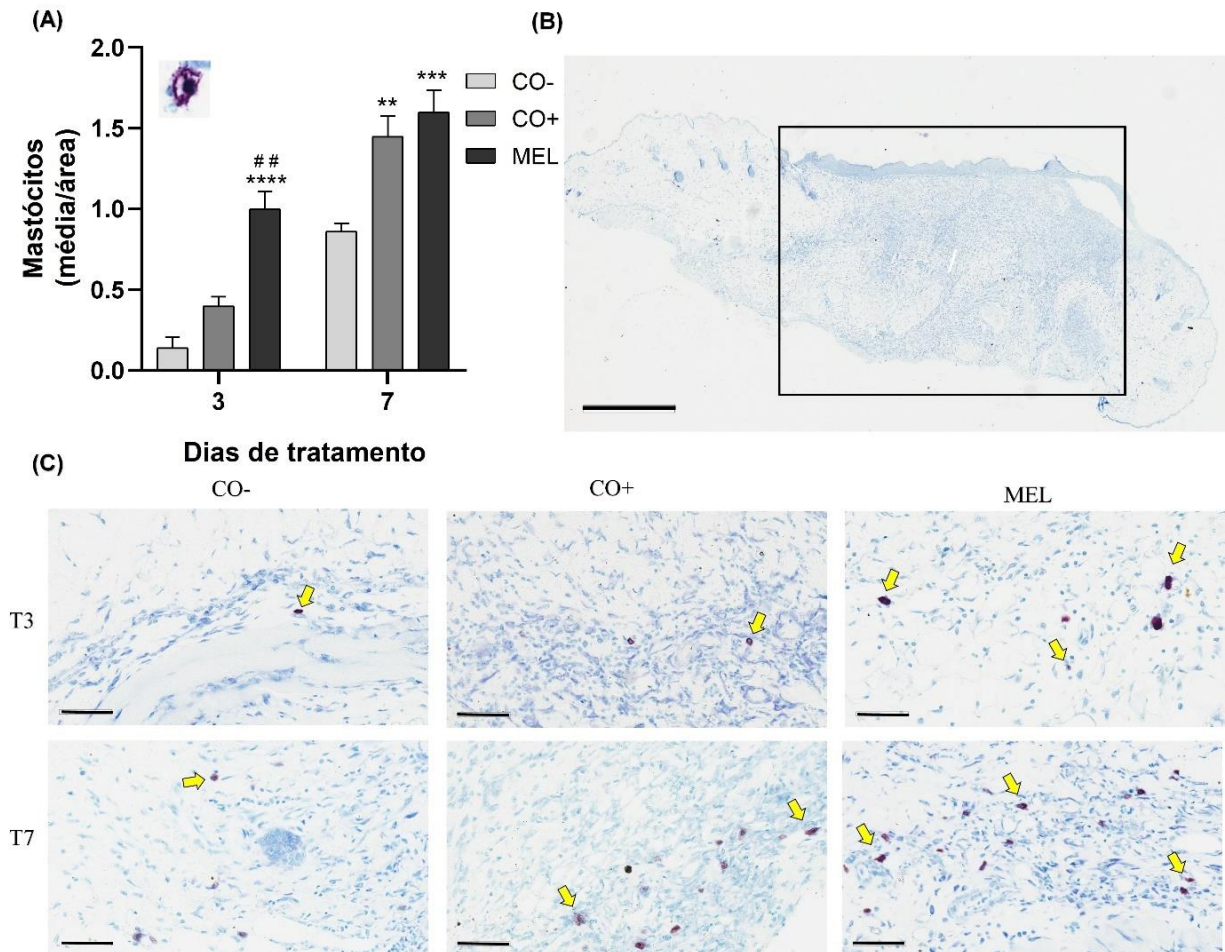


Figura 10. Infiltrado de mastócitos em lesões tratadas com mel de jataí após 3 e 7 dias. (A) Média de mastócitos por área em lesões não tratadas (CO-), lesões tratadas com sulfadiazina de prata (CO+) e mel de jataí (MEL). Os valores são médias \pm SEM ($n = 8$). ** indicam diferença quando comparado com o grupo CO- considerando $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$. ## indicam diferença quando comparado com o grupo CO+ considerando $p < 0,01$. Avaliados estatisticamente por one-way ANOVA, e pós-teste Bonferroni. (B) Fotomicrografia (aumento de 40 x e barra equivalente a 600 μ m) da área da lesão após 7 dias de tratamento corado com Azul de Toluidina. A delimitação por um retângulo representa a área em que a quantificação foi realizada. (C) Fotomicrografias (aumento de 400 x barra equivalente a 60 μ m) de lesões, coradas com Azul de Toluidina, após 3 (T3) e 7 (T7) dias de tratamento, mostrando mastócitos indicados por setas amarelas.

Fonte: O autor, 2023.

5.5 O mel de jataí do aumenta a angiogênese em lesões após 3 dias de tratamento

A angiogênese foi avaliada através da quantificação de vasos sanguíneos na área da lesão e os resultados estão representados graficamente na **Figura 11 A**. As fotomicrografias das lesões estão representadas na **Figura 11 C**. A área de lesão avaliada, após 7 dias, está demarcada pelo retângulo na fotomicrografia da **Figura 11 B**. Após 3 dias de tratamento houve o aumento de vasos sanguíneos nos tratamentos do MEL ($2,071 \pm 0,5$) e do CO+ ($2,383 \pm 0,5$) em relação ao CO- ($0,600 \pm 0,1$). E entre o MEL e o CO+ não houve diferença. Após 7 dias de tratamento não houve diferença entre nenhum grupo avaliando, sendo o MEL ($9,143 \pm 1,0$), CO+ ($8,383 \pm 0,8$) e CO- ($8,214 \pm 1,0$).

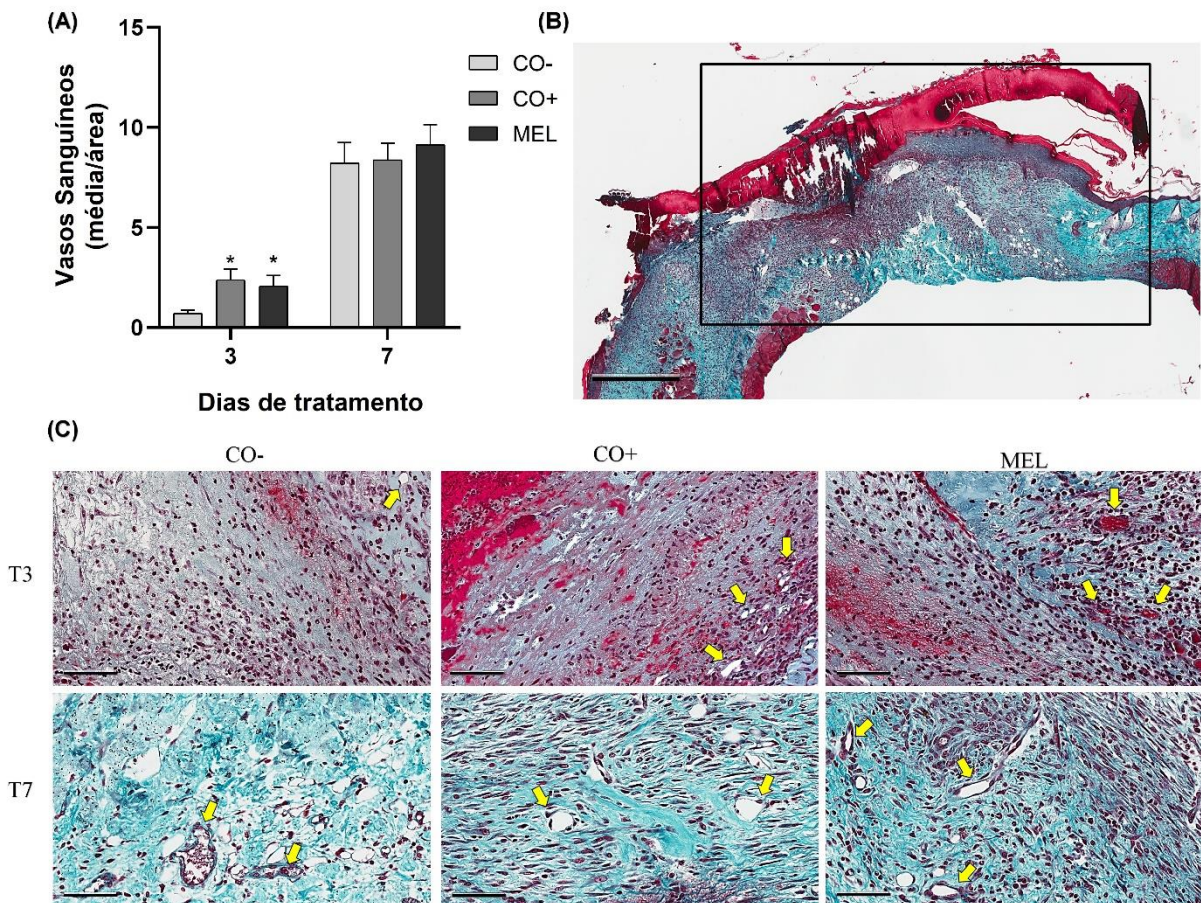


Figura 11. Angiogênese em lesões tratadas com mel de jataí após 3 e 7 dias (A) Média de vasos sanguíneos por área em lesões não tratadas (CO-), lesões tratadas com sulfadiazina de prata (CO+) e mel de jataí (MEL). Os valores são médias \pm SEM ($n = 8$). * indicam diferença quando comparado com o grupo CO- considerando $p < 0,05$. Avaliados estatisticamente por one-way ANOVA, e pós-teste Bonferroni. (B) Fotomicrografia (aumento de 40 x e barra equivalente a 600 μ m) da área da lesão após 7 dias de tratamento corado com Tricômico de Gomori. A delimitação por um retângulo representa a área em que a quantificação foi realizada. (C) Fotomicrografias (aumento de 400 x barra equivalente a 60 μ m) de lesões, coradas com Tricômico de Gomori, após 3 (T3) e 7 (T7) dias de tratamento, mostrando vasos sanguíneos indicados por setas amarelas.

Fonte: O autor, 2023.

5.6 O mel de jataí intensifica a deposição de fibras colágeno em lesões após 7 dias de tratamento

Os valores obtidos após a quantificação do colágeno total em fotomicrografias da área de lesões estão mostrados na **Figura 12 A**. A área da lesão avaliada, após 7 dias, está demarcada pelo retângulo na fotomicrografia na **Figura 12 B**. A representação das lesões quantificações para os diferentes grupos avaliados estão representados na **Figura 12 C**. Após 3 dias o MEL (19583 ± 41) e o CO- (18098 ± 81) aumentaram a deposição de colágeno total na lesão comparado com o CO+ (13943 ± 85). Após 7 dias houve aumento na deposição de colágeno total no grupo tratado com CO+ (22345 ± 88) e o MEL (21124 ± 13) em relação ao CO- (15658 ± 11) e não houve diferença entre CO+ e MEL.

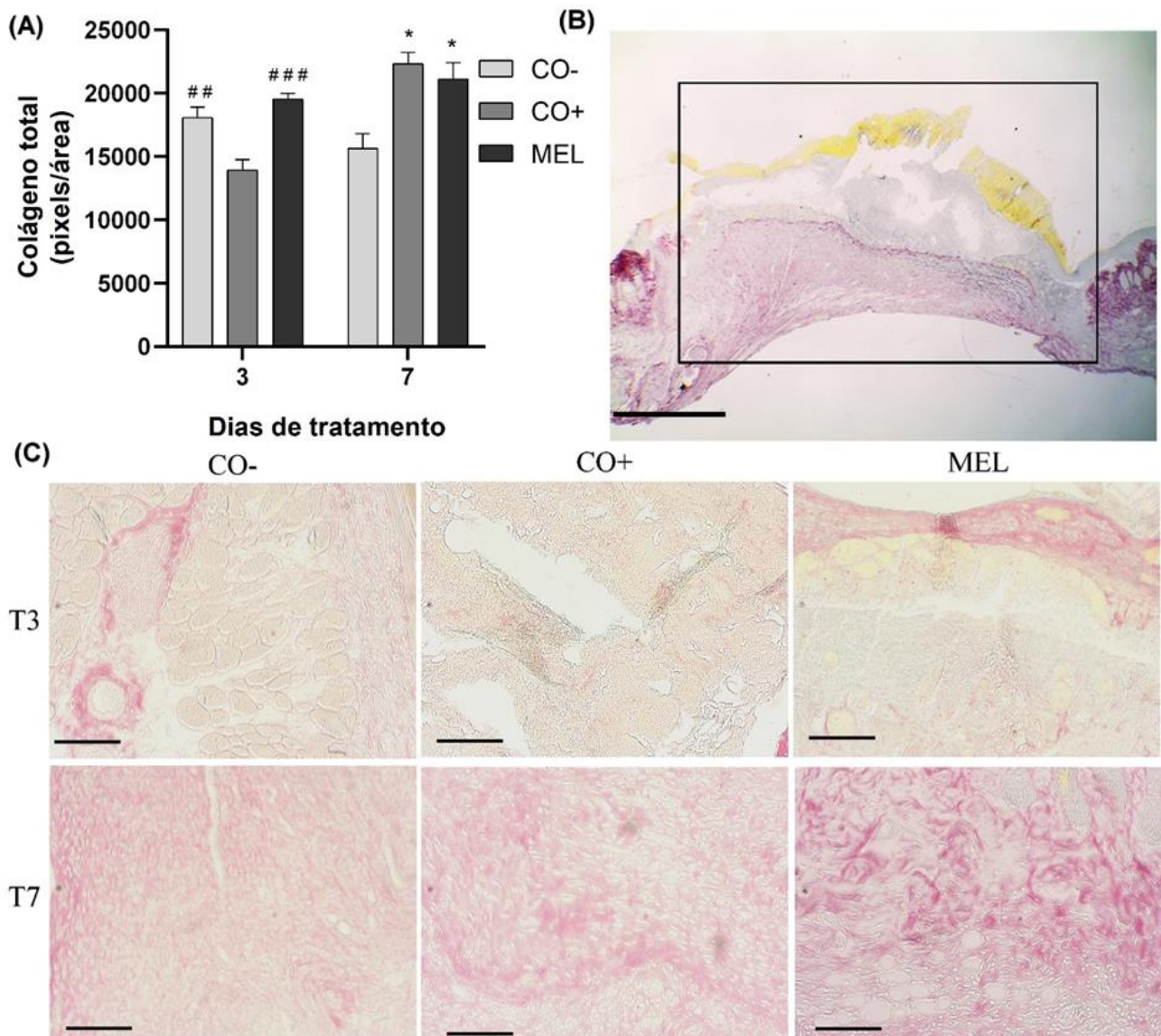


Figura 12. Deposição de colágeno total em lesões tratadas com mel de abelhas jataí após 3 e 7 dias. (A) Quantificações da intensidade de colágeno total de lesões não tratadas (CO-), tratadas com sulfadiazina de prata (CO+) e lesões tratadas com mel de jataí (MEL) após 3 e 7 dias de tratamento. * indicam diferença considerando $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ em relação ao grupo CO-. ## indicam diferença quando comparado com o grupo CO+ considerando $p < 0,01$ e ### $p < 0,001$. Os valores são médios \pm SEM ($n = 8$) e avaliados estatisticamente por one-way ANOVA, e pós-teste Bonferroni. (B) Fotomicrografia (aumento de 40x e barra equivalente a $600\mu\text{m}$) da área da lesão, corada com Picosírius red, após 7 dias de tratamento. A delimitação por um retângulo representa a área em que a quantificação foi realizada. (C) Fotomicrografias (aumento de 200x e barra equivalente a $30\mu\text{m}$) da coradas com Picosírius red mostrando a diferença de intensidade de colágeno total nas lesões avaliadas.
Fonte: O autor, 2023.

5.7 O mel de jataí intensifica a deposição de fibras colágeno tipo I e III em lesões após 3 dias de tratamento

Os valores obtidos após a quantificação do colágeno tipo I em fotomicrografias da área de são mostrados na **Figura 13 A**. A **Figura 13 C** mostra a fotomicrografia dessas quantificações para os diferentes grupos avaliados tanto de colágeno tipo I quanto tipo III. Após 3 dias de tratamento houve aumento na deposição de colágeno tipo I em lesões tratadas no grupo MEL (181430 ± 99) comparado com o CO- (111009 ± 79), contudo não apresentou diferença com CO+ (135682 ± 17). Após 7 dias de tratamento o grupo MEL (113954 ± 74) não demonstrou diferença na intensidade de deposição de colágeno tipo I em relação aos grupos CO- (977159 ± 73) e CO+ (129376 ± 78). Porém o grupo CO+ apresentou aumento de colágeno tipo I em relação ao CO-.

Os resultados obtidos após a quantificação do colágeno tipo III em fotomicrografias da área de lesões são mostrados no gráfico da **Figura 13 B**. A deposição de colágeno tipo III, após 3 dias de tratamento, foi aumentada em lesões tratadas no grupo MEL (109270 ± 11) e no CO+ (210022 ± 69) comparado com o CO- (914799 ± 86), contudo não apresentou diferença entre MEL e CO+. Após 7 não houve diferença entre o MEL (879329 ± 48), CO- (649635 ± 12) e CO+ (826749 ± 10).

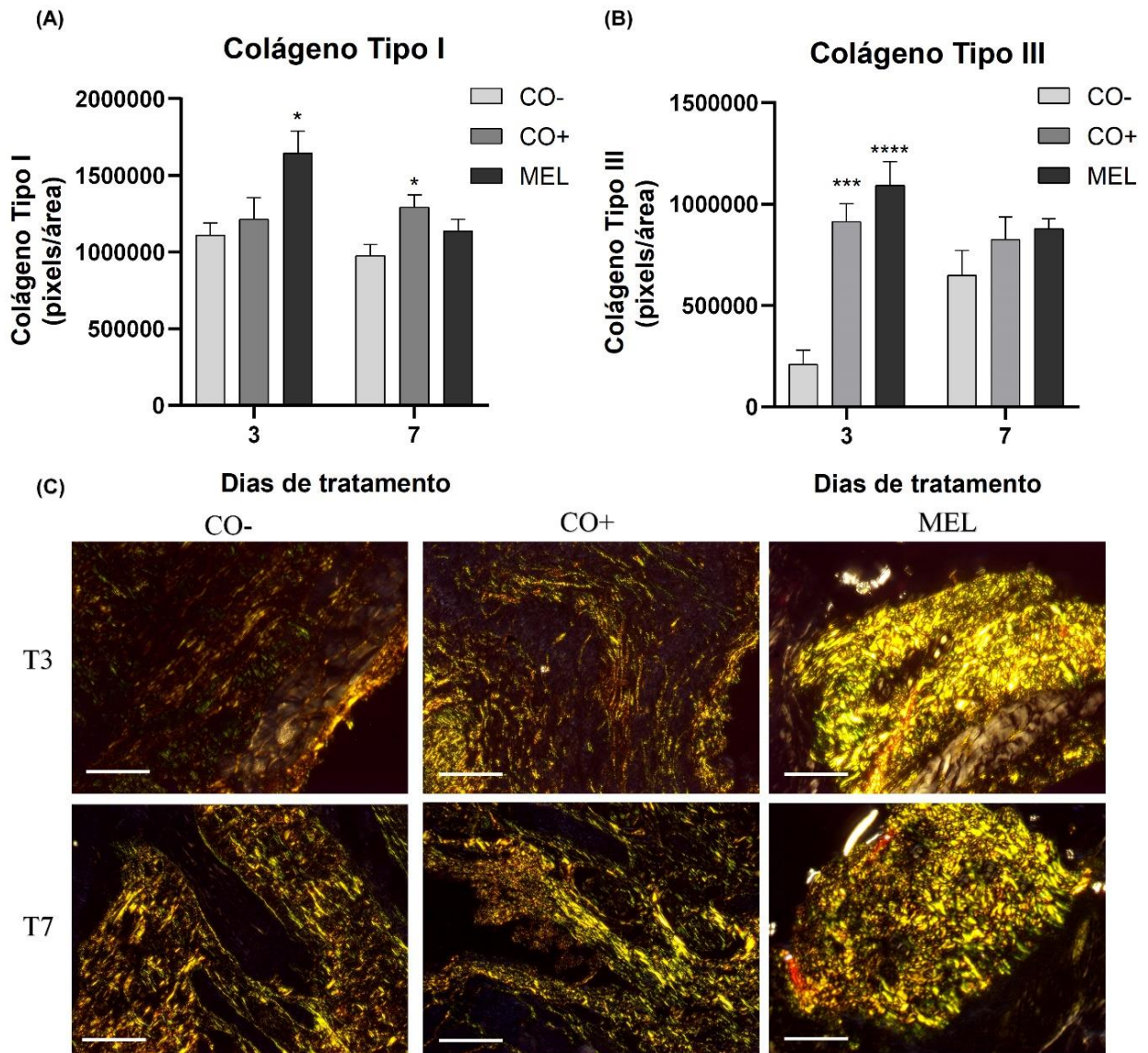


Figura.13. Deposição de colágeno do tipo I e tipo III em lesões tratadas com mel de jataí após 3 e 7 dias.

(A) e (B) Quantificações da proporção de colágeno tipo I e tipo III respectivamente, em lesões não tratadas (grupo CO-), tratadas com sulfadiazina de prata (CO+) e lesões tratadas com mel de jataí (MEL). * indicam diferença considerando $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ em relação ao grupo CO-. Os valores são médias \pm SEM ($n = 8$) e avaliados estatisticamente por one-way ANOVA, e pós-teste Bonferroni. (C) Fotomicrografias (aumento de 200x e barra equivalente a 30 μ m) com Picosirius red em microscópio com filtro de polarização de lesões avaliadas. Fonte: O autor, 2023.

6. DISCUSSÃO

O mel de abelhas é milenarmente utilizado como antibiótico, tendo sua ação contra patógenos relatada na literatura científica (LUSBY; COOMBES; WILKINSON, 2005; MOLAN, 1992). Estudos demonstraram que o mel de jataí inibe cepas bacterianas de *S. aureus* e *P. aeruginosa* de isolados clínicos e *S. aureus* ATCC 6538 e 25923, *K. pneumoniae* ATCC 700603 e *E. coli* ATCC 31617 (GABRIEL *et al.*, 2015; GAMBOA ABRIL; FIGUEROA RAMIREZ, 2009; MIORIN *et al.*, 2003; RODRÍGUEZ-MALAVAR *et al.*, 2009). Diferente destes ensaios, o presente estudo observou resistência bacteriana ao mel de jataí por cepas de *S. aureus* ATCC 29213, *K. pneumoniae* ATCC 10031, *P. aeruginosa* ATCC 15442 e *E. coli* ATCC 25922. Isso pode ser justificado, em parte, pelo fato que as cepas bacterianas utilizadas na presente investigação serem diferentes.

As amostras de méis de jataí que demonstraram inibição bacteriana foram coletadas em Betim, Minas Gerais, Brasil e em diversas cidades da Costa Rica e da Colômbia 31617 (GABRIEL *et al.*, 2015; GAMBOA ABRIL; FIGUEROA RAMIREZ, 2009; MIORIN *et al.*, 2003; RODRÍGUEZ-MALAVAR *et al.*, 2009). O mel de jataí do presente trabalho é originado de Corumbáiba, Goiás, Brasil e o fato de não demonstrar inibição bacteriana também pode ser justificado por evidências que méis de abelhas jataí de origens geográficas distintas possuem a atividade antibacteriana influenciada, apresentando resultados diferentes (GAMBOA ABRIL; FIGUEROA RAMIREZ, 2009; MIORIN *et al.*, 2003).

Duas proteínas do mel de jataí causam ação antibiofilme sobre *S. aureus* e foram denominadas de fatores de destruição de biofilme *Tetragonisca angustula* (TABDFs) (ZAMORA *et al.*, 2017). O fator de destruição de biofilme *Tetragonisca angustula* um (TABDF-1) e dois (TABDF-2), ao serem testados isoladamente não apresentaram capacidade de destruição da célula bacteriana, mas demonstraram atividade antibiofilme de *S. aureus* potencializando a ação da ampicilina e vancomicina (ZAMORA *et al.*, 2017). Desse modo, sugerimos futuras análises para verificar potenciais associações do mel *T. angustula* com outros antibióticos.

Existem relatos populares do uso do mel de jataí na cicatrização de lesões e queimaduras (VIT; MEDINA; ENRÍQUEZ, 2004). Contudo, os mecanismos envolvidos na cicatrização utilizando este mel é pouco conhecido e raramente relatado na literatura (DEMERA; ANGERT, 2004; LIMA *et al.*, 2011; RAO *et al.*, 2016). Análises antibacterianas sugerem que o mel de jataí é promissor para pesquisa e desenvolvimento de curativos no tratamento de infecções agudas e crônicas (ZAMORA *et al.*, 2017). Recentemente foi demonstrado que o mel de jataí

é uma fonte de antioxidantes, sendo o ácido ferúlico o composto fenólico mais abundante (LIMA *et al.*, 2022). A atividade antioxidante regula o estresse oxidativo, reduzindo danos e favorecendo o reparo cicatricial e compostos fenólicos modulam os parâmetros envolvidos na cicatrização (DE MOURA *et al.*, 2019; DENG *et al.*, 2021). Além disso, o controle do ambiente úmido na lesão favorece o reparo tecidual e o mel de abelhas sem ferrão possui propriedades hidratantes (ABD JALIL; KASMURI; HADI, 2017; NUUTILA; ERIKSSON, 2021). Desse modo, é pertinente a presente avaliação do mel de jataí na cicatrização.

Os neutrófilos são os principais leucócitos envolvidos na fase inicial da cicatrização sendo efetores da inflamação aguda (WONG *et al.*, 2015). O mel de jataí demonstrou redução de neutrófilos e acelerou o fechamento da lesão em relação ao tratamento de sulfadiazina de prata. Eventos que podem ser justificados por evidências de os neutrófilos contribuírem para condições inflamatórias crônicas, estando associados à inflamação exacerbada (ALMEIDA *et al.*, 2017; DOVI; HE; DIPIETRO, 2003; KOLACZKOWSKA; KUBES, 2013; PHILLIPSON; KUBES, 2019). Foi observado em camundongos neutropênicos, pela deleção de neutrófilos utilizando soro de coelho anti-neutrófilo, a cicatrização acelerada e em animais com neutrofilia o fechamento de lesão foi retardado (DOVI; HE; DIPIETRO, 2003).

Os mediadores derivados dos MCs atuam na hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação. No início do reparo tecidual existe o acúmulo de MCs, liberação de mediadores inflamatórios e imunomoduladores (KOMI; KHOMTCHOUK; SANTA MARIA, 2020). Demonstramos que lesões tratadas com mel jataí aumentam o infiltrado de mastócitos. Apesar da ativação de MCs ser tradicionalmente associada a reações alérgicas, uma variedade de estímulos pode induzir a produção e liberação de mediadores derivados de MCs que atuam em mecanismos fisiológicos, como remodelação tecidual, cicatrização de lesão, angiogênese e imunidade inata (DUMONT *et al.*, 2007).

O mel de jataí aumentou o infiltrado de macrófagos levando a um fechamento de lesão acelerado. O mecanismo de eferocitose, consiste em fagocitar células apoptóticas, realizado pelos macrófagos inflamatórios, induz as mudanças fenotípicas para macrófagos ativado classicamente (M1) e macrófagos alternativamente ativados (M2), e orquestram os estágios do reparo tecidual (KIM; NAIR, 2019). O que corrobora com as observações que a transição de M1 e M2 contribui para o fechamento da lesão (EMING; KRIEG; DAVIDSON, 2007; KIM; NAIR, 2019). Foi observado que a ausência de macrófagos retarda a reepitelização, reduzindo a expressão de VEGF, TGF- β demonstrando menor angiogênese e proliferação celular (WOLF; MELVIN; GALLAGHER, 2021). Além disso, a eferocitose por macrófagos de neutrófilos apoptóticos e demais células inflamatórias é um mecanismo chave para a resolução da

inflamação (MICHLEWSKA *et al.*, 2009). O aumento de mediadores anti-inflamatórios como a interleucina-10 (IL-10) regula o mediador inflamatório fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e conseqüentemente atua na ativação da eferocitose, pois se houver a inibição deste mecanismo acarretará no prolongamento da resolução da inflamação (MICHLEWSKA *et al.*, 2009). Desse modo, o aumento de macrófagos e o fechamento da lesão são evidências que o tratamento com mel da abelha jataí modula a inflamação.

O processo de angiogênese consiste na proliferação, migração e brotamento de células endoteliais de vasos sanguíneos preexistentes formando novos vasos (MARCELO; GOLDIE; HIRSCHI, 2013). Os vasos sanguíneos são estruturas importantes na formação do tecido de granulação e para a nutrição das células no local do reparo tecidual (ISAAC *et al.*, 2010). Os MCs expressam mediadores angiogênicos como o VEGF, em diferentes isoformas como VEGF-A e VEGF-B (KOMI; KHOMTCHOUK; SANTA MARIA, 2020; MARONE *et al.*, 2016). Foi observado neste estudo o aumento de MCs e de vasos sanguíneos em lesões tratadas com mel de jataí. Além disso, em uma investigação anterior foi demonstrado que M2 promove a angiogênese (JETTEN *et al.*, 2014). Sendo que na fase inflamatória os macrófagos e monócitos liberam fatores angiogênicos como o PDGF, VEGF, angiopoietina-1 (Ang-1), TGF- α , fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF), interleucina-8 (IL-8) e TNF- α amplificando a angiogênese (KUMAR *et al.*, 2015). O aumento da angiogênese em lesões tratadas com o mel de jataí, pode ser justificado pelo aumento do infiltrado de macrófagos e MCs observados nesta investigação.

Os fibroblastos sintetizam colágeno, um dos componentes da MEC, sendo importante no fechamento de lesão (DIEGELMANN; EVANS, 2004; ISAAC *et al.*, 2010). No tratamento com o mel de jataí observou-se aumento de colágeno total, evento que pode ser justificado pela presença de grupos hidroxilas no mel, assim regulando os níveis e umidade na lesão, levando a ativação da síntese de colágeno (ABD JALIL; KASMURI; HADI, 2017; NUUTILA; ERIKSSON, 2021). Além disso, os MCs atuam na proliferação de fibroblastos via interleucina-4 (IL-4), VEGF e bFGF (KOMI; KHOMTCHOUK; SANTA MARIA, 2020). Também sendo evidências que o aumento de MCs em lesões tratadas com mel de jataí tenham atuado na atividade de fibroblastos aumentando a deposição de colágeno e assim refletindo na otimização do fechamento da lesão (KOMI; KHOMTCHOUK; SANTA MARIA, 2020). Contrariamente, lesões tratadas com a sulfadiazina de prata não demonstraram aumento de MCs, houve a redução da deposição de colágeno total e atraso no fechamento da lesão em análises iniciais da cicatrização. Alguns estudos relataram que a deficiência em MCs leva ao atraso no fechamento da lesão (WELLER *et al.*, 2006; YOUNAN *et al.*, 2011).

As metaloproteinases de matriz (MMPs) atuam na degradação de colágeno tipo III para a deposição do colágeno tipo I durante o reparo tecidual (ISAAC *et al.*, 2010; YOUNAN *et al.*, 2011). Os MCs expressam a metaloproteinase-9 de matriz (MMP9) e liberam quimase e a triptase que são capazes de ativar as MMPs (LINDSTEDT; MÄYRÄNPÄÄ; KOVANEN, 2007; NG, 2010). Nos dias iniciais avaliados, o tratamento com mel de jataí aumentou a quantidade de colágeno tipo I e tipo III acelerando o fechamento da lesão. O recrutamento exacerbado ou a deficiência de MCs podem atrasar o reparo tecidual levando à cronicidade (EMING; KRIEG; DAVIDSON, 2007; WELLER *et al.*, 2006; YOUNAN *et al.*, 2011). Sendo então necessário um recrutamento apropriado dos MCs na cicatrização. Desse modo, o mel de jataí modulou a inflamação aumentando MCs, sendo indicador que este evento contribuiu com o aumento angiogênese, deposição de colágeno e fechamento de lesões tratadas.

7. CONCLUSÃO

O mel de *Tetragonisca angustula* não inibiu a atividade antibacteriana em cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 e *Escherichia coli* ATCC 25922. A avaliação de cepas de origem diferentes e o uso do mel de jataí de localidades geográficas distintas podem ter contribuído com esses achados.

O tratamento com mel de jataí em lesões induzidas em camundongos BALB/c aumentou o infiltrado de mastócitos, macrófagos, angiogênese, modulou a deposição de colágeno e acelerou o fechamento da ferida. Todos esses resultados desempenham um papel essencial na cicatrização. A pesquisa apresentada é uma abordagem inicial e inédita sobre o uso do mel de jataí em lesões induzidas, sendo este um tratamento alternativo e promissor para a cicatrização. Contudo, futuras pesquisas são bem vindas, com abordagens moleculares para melhor descrever os mecanismos do mel de jataí sobre o reparo tecidual.

REFERÊNCIAS

- ABD JALIL, M. A.; KASMURI, A. R.; HADI, H. Stingless bee honey, the natural wound healer: A review. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 30, n. 2, p. 66–75, 2017. [https://doi.org/ 10.1159/000458416](https://doi.org/10.1159/000458416).
- AFONSO, A. et al. Caracterização da resistência a antibióticos de isolados de *Klebsiella pneumoniae* em Infecções Associadas aos Cuidados de Saúde (IACS). **XII Jornadas de Bioquímica**, p. 2–3, Mar. 2019. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25002.26568>
- AHN, C. et al. The resistance mechanism and clonal distribution of tigecycline-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* isolates in Korea. **Yonsei Medical Journal**, v. 57, n. 3, p. 641–646, 2016. <https://doi.org/10.3349/ymj.2016.57.3.641>.
- ALMEIDA, F. M. et al. Hypervirulent *Mycobacterium tuberculosis* strain triggers necrotic lung pathology associated with enhanced recruitment of neutrophils in resistant C57BL/6 mice. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, p. 175652, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173715>
- ARANDA, R.; BENETTI, C.; OLIVEIRA, V. T. N. DE. Método potencial para otimização de captura e manejo de abelhas nativas sem ferrão (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) em iscas atrativas. **Entomological Communications**, v. 4, p. ec04021, 2022. <https://doi.org/10.37486/2675-1305.ec04021>
- BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mechanisms involved in wound healing: a revision. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 1, p. 27–51, 2005. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000100004>.
- BARBOSA, V. S. et al. Avaliação de bioatividade do mel, própolis e pólen de abelha jataí. In: **Ciência e Tecnologia de Alimentos: o avanço da ciência no Brasil - Volume 2**. [s.l.] Editora Científica Digital, 2022. p. 79–96. <https://doi.org/10.37885/221010692>
- BASTARRACHEA, R. A. et al. Macrófagos, inflamación, tejido adiposo, obesidad y resistencia a la insulina. **Gaceta Médica de Mexico**, v. 143, n. 6, p. 505–512, 2007.
- BASTOS, B. P.; LIMA, L. C. L. E; DÓREA, M. D. C. Pollen Sources Used by *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) (Apidae, Meliponini) in the Atlantic Forest, Northern Coast of Bahia. **Sociobiology**, v. 67, n. 4, p. 535, 28 dez. 2020. <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v67i4.5596>
- BATISTON, T. F. T. P. **Atividade antimicrobiana de diferentes méis de abelhas sem ferrão**. p. 1–85, 2017. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Chapecó, 2017
- BIONDO-SIMÕES, M. DE L. P. et al. Análise comparativa dos efeitos do mel, do óleo-serina de copaíba e de um produto comercial (fibrinolizina, desoxirribonuclease e cloranfenicol) na cicatrização por segunda intenção, em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 46, n. 5, 2019. <https://doi.org/10.1590/0100-6991e-20192245>

- BOBANY, D. D. M. et al. Atividade antimicrobiana do mel de abelhas jataí (*Tetragonisca angustula*) em cultivo de microrganismos do conduto auditivo de caninos domésticos (*Canis familiaris*). **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 441–446, 2010.
<https://doi.org/10.526/cab.v11i2.4585>
- BRAGHINI, F. et al. Effect thermal processing in the honey of *Tetragonisca angustula*: profile physicochemical, individual phenolic compounds and antioxidant capacity. **Journal of Apicultural Research**, v. 60, n. 2, p. 290–296, 2021.
<https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1737362>
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 702, de 21 de março de 2018. Altera a Portaria de Consolidação nº 2/GM/MS, de 28 de setembro de 2017, para incluir novas práticas na Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares - PNPIC, Brasília, 2018.
- BROUGHTON, G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. The basic science of wound healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 117, n. 7 SUPPL., p. 12–34, 2006.
<https://doi.org/10.1097/01.prs.0000225430.42531.c2>
- BURLANDO, B.; CORNARA, L. Honey in dermatology and skin care: A review. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 12, n. 4, p. 306–313, 2013.
<https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004332>
- CAMARGO, R. C. R.; PEREIRA, F. M.; LOPES, M. T. R. 2002. Produção de mel. Embrapa Meio Norte, sistemas de produção, 3, Versão eletrônica, dez 2002. Disponível em: < <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/80709/1/sistemaproducao-3.PDF> >. Acesso em: 18 jan. 2023.
- CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 20, n. 1, p. 51–58, Mar. 2007.
- CARVALHO, C. A. L. DE et al. Mel de abelhas sem ferrão: contribuição para a caracterização. **Série Meliponicultura n.4**, n. 4, p. 32, 2005.
- CARVALHO, I. T. DE. **Microbiologia Básica**. Recife: EDUFRPE. Recuperado de http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/06/Microbiologia_Basica.pdf, 2010.
- CERQUEIRA, S. A. et al. Persistência de *Klebsiella pneumoniae* em doentes de unidades pediátricas do Hospital de Santa Maria, em Lisboa. **Acta Pediátrica Portuguesa**, v. 42, n. 2, p. 49–53, 2011.
- CHAMANGA, E. Effectively managing wound exudate. **British Journal of Community Nursing**, v. 20, n. Sup9, p. S8–S10, 1 set. 2015.
<https://doi.org/10.12968/bjcn.2015.20.Sup9.S8>
- CHAPAVAL, L. et al. Cultura, Crescimento e Identificação de Bactérias do Gênero *Staphylococcus aureus* em Leite de Cabra. p. 5, 2009.

COELHO, J. M. et al. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Revista do Colegio Brasileiro de Cirurgioes**, v. 37, n. 1, p. 45–51, 2010. <https://doi.org/10.1590/s0100-69912010000100010>

COSTA, A. C. S. DE M. C. et al. Aplicação de membranas de colágeno contendo ácido úsnico incorporado em lipossomas no processo de cicatrização de queimaduras em áreas especiais. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 17, n. 2, p. 94–99, 2018.

COSTA, B. D. O.; MALAGÓ, R. Avaliação da cicatrização de feridas tratadas com mel de abelha jataí (*Tetragonisca angustula*) em cães atendidos no hospital veterinário. v. 1, n. 1, p. 20–23, 2000.

COSTA, D. S. **Estudo da frequência do fenótipo mutador para resistência aos antibióticos beta-lactâmicos em linhagens de *E. coli* patogênicas**. 2013. Dissertação de Mestrado (Mestrado em microbiologia) - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

CRANE, E. **O livro do mel**. São Paulo: Livraria e Editora Nobel S.A, 1980.

CUEVAS, O. L. et al. Detección y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y Salmonella en agua y suelo agrícola. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 32, n. 2, p. 119–126, 2009.

CUTTING, K. F. Wound exudate: composition and functions. **British Journal of Community Nursing**, v. 8, n. Sup3, p. S4–S9, 2003. <https://doi.org/10.12968/bjcn.2003.8.sup3.11577>

DE MENDONÇA, R. J.; COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 3, p. 257–262, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962009000300007>

DE MOURA, F. B. R. et al. Pro-Fibrogenic and Anti-Inflammatory Potential of a Polyphenol-Enriched Fraction from *Annona crassiflora* in Skin Repair. **Planta Medica**, v. 85, n. 7, p. 570–577, 2019. <https://doi.org/10.1055/a-0733-7151>

DE MOURA, F. B. R. et al. Topic use of *Annona crassiflora* Mart. contributes to wound healing due to the antioxidant and proliferative effects of fibroblasts. **Injury**, v. 53, n. 3, p. 844–857, mar. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2021.12.007>

DEMEREA, J. H.; ANGERT, E. R. Comparison of the antimicrobial activity of honey produced by *Tetragonisca angustula* (Meliponinae) and *Apis mellifera* from different phytogeographic regions of Costa Rica. **Apidologie**, v. 35, n. 4, p. 411–417, jul. 2004. <https://doi.org/10.1051/apido:2004033>

DENG, L. et al. Molecular Mechanisms of Dietary Bioactive Compounds in Redox Balance and Metabolic Disorders. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2021, n. Figure 1, p. 1–11, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8852759>.

DIEGELMANN, R. F.; EVANS, M. C. Departments of Biochemistry, Anatomy, Emergency Medicine and Virginia Commonwealth University, Richmond Virginia. **Frontiers in Bioscience**, n. 4, p. 283–289, 2004. <https://doi.org/10.2741/1184>

- DOVI, J. V.; HE, L.-K.; DIPIETRO, L. A. Accelerated wound closure in neutrophil-depleted mice. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 73, n. 4, p. 448–455, 2003. <https://doi.org/10.1189/jlb.0802406>
- DUMONT, N. et al. Mast cells can modulate leukocyte accumulation and skeletal muscle function following hindlimb unloading. **Journal of Applied Physiology**, v. 103, n. 1, p. 97–104, 2007. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01132.2006>
- EL SOHAIMY, S. A.; MASRY, S. H. D.; SHEHATA, M. G. Physicochemical characteristics of honey from different origins. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 60, n. 2, p. 279–287, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2015.10.015>
- ELDER, D. E. et al. **Histopatologia Da Pele**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.
- EMING, S. A.; KRIEG, T.; DAVIDSON, J. M. Inflammation in wound repair: Molecular and cellular mechanisms. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 3, p. 514–525, 2007. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700701>
- FERNÁNDEZ, L.; HANCOCK, R. E. W. Adaptive and mutational resistance: Role of porins and efflux pumps in drug resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 4, p. 661–681, 2012. <https://doi.org/10.1128/CMR.00043-12>
- FIGUEREDO, A. C. F. et al. *Pseudomonas aeruginosa*: Panorama Do Perfil De Resistência Aos Carbapenêmicos No Brasil / *Pseudomonas aeruginosa*: Overview of the Profile of Resistance To Carbapenems in Brazil. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 9661–9672, 2021. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n1-655>
- FOLKMAN, J.; SHING, Y. Angiogenesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 16, p. 10931–10934, 1992.
- FOSTER, T. J. *Staphylococcus aureus*. **Molecular Medical Microbiology**, p. 839-888, 2002.
- GABRIEL, Z. et al. Stingless Bee Honeys from Costa Rica Exhibit Antimicrobial Activity Against Antibiotic-resistant Clinical Isolates. **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 5, n. 2, p. 144–149, 2015. <http://dx.doi.org/10.1080/22311866.2015.1053099>
- GAMBOA ABRIL, M. V.; FIGUEROA RAMIREZ, J. Antibacterial Power Of Honeys From *Tetragonisca angustula* Assessed By Minimum Inhibitory Concentration. **Acta Biologica Colombiana**, v. 14, n. 2, 2009.
- GASINK, L. B. et al. Risk Factors and Clinical Impact of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae* . **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 30, n. 12, p. 1180–1185, 2009. <https://doi.org/10.1086/648451>
- GBIF. *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1811) no Secretariado do GBIF. Disponível em: <<https://www.gbif.org/species/1339480>>. Acesso em: 19 jan. 2023.
- GHAISAS, M. M.; KSHIRSAGAR, S. B.; SAHANE, R. S. Evaluation of wound healing

activity of ferulic acid in diabetic rats. **International Wound Journal**, v. 11, n. 5, p. 523–532, 2014. <https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2012.01119.x>

GONÇALVES, R. V. et al. 5α -Dihydrotestosterone enhances wound healing in diabetic rats. **Life Sciences**, v. 152, p. 67–75, maio 2016. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.03.019>

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. D. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667–679, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000300035>

HARRIES, R. L.; BOSANQUET, D. C.; HARDING, K. G. Wound bed preparation: time for an update. **International Wound Journal**, v. 13, p. 8–14, 2016. <https://doi.org/10.1111/iwj.12662>.

HOOPER, T. **Guia do apicultor**. 3º ed. São Paulo: Europa América, 1981.

ISAAC, C. et al. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**, v. 89, n. 3/4, p. 125, 2010. <https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v89i3/4p125-131>

ISRAILI, Z. H. Antimicrobial properties of honey. **American Journal of Therapeutics**, v. 21, n. 4, p. 304–323, 2014. <https://doi.org/10.1097/MJT.0b013e318293b09b>

JANG, J. et al. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications-a review. **Journal of Applied Microbiology**, v. 123, n. 3, p. 570–581, set. 2017. <https://doi.org/10.1111/jam.13468>

JANIS, J. E.; HARRISON, B. Wound healing: Part i. basic science. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 133, n. 2, p. 199–207, 2014. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000437224.02985.f9>

JETTEN, N. et al. Anti-inflammatory M2, but not pro-inflammatory M1 macrophages promote angiogenesis in vivo. **Angiogenesis**, v. 17, n. 1, p. 109–118, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10456-013-9381-6>.

KANITAKIS, J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. **Eur J Dermatol**, Vol. 12, n. 4, p. 390-401, Jul/Aug., 2002.

KIM, S. Y.; NAIR, M. G. Macrophages in wound healing: activation and plasticity. **Immunology and Cell Biology**, v. 97, n. 3, p. 258–267, 2019. <https://doi.org/10.1111/imcb.12236>.

KOLACZKOWSKA, E.; KUBES, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 13, n. 3, p. 159–175, 2013. <https://doi.org/10.1038/nri3399>

KOMI, D. E. A.; KHOMTCHOUK, K.; SANTA MARIA, P. L. A Review of the Contribution of Mast Cells in Wound Healing: Involved Molecular and Cellular Mechanisms. **Clinical Reviews in Allergy and Immunology**, v. 58, n. 3, p. 298–312, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12016-019-08729-w>.

- KONEMAN, E.W.; ALLEN, S. Koneman. Diagnostico Microbiologico/Microbiological diagnosis: Texto Y Atlas En Color/Text and Color Atlas. **Ed. médica panamericana**, 2008. p. 1691.
- KOTIAN, S. et al. The Role of Natural Medicines on Wound Healing: A Biomechanical, Histological, Biochemical and Molecular Study. **Ethiopian journal of health sciences**, v. 28, n. 6, p. 759–770, 2018. <https://doi.org/10.4314/ejhs.v28i6.11>
- KUMAR, P. et al. Role of angiogenesis and angiogenic factors in acute and chronic wound healing. **Plastic and Aesthetic Research**, v. 2, n. 5, p. 243, 2015. <https://doi.org/10.4103/2347-9264.165438>
- KWAKMAN, P. H. S. et al. How honey kills bacteria. **The FASEB Journal**, v. 24, n. 7, p. 2576–2582, 2010. <https://doi.org/10.1096/fj.09-150789>
- LAUREANO, A.; RODRIGUES, A. M. Cicatrização de feridas. **Journal of the Portuguese Society of Dermatology and Venereology**, v. 69, n. 3, p. 355, 28 set. 2011. <https://doi.org/10.29021/spdv.69.3.71>.
- LEAL, E. C.; CARVALHO, E. Cicatrização de Feridas: O Fisiológico e o Patológico. **Revista Portuguesa de Diabetes**, v. 9, n. 3, p. 133–143, 2014.
- LEAL, S. et al. Perfil de elementos inorgânicos em amostras de mel do estado do maranhão como um potencial bioindicador de origem geográfica. **Química Nova**, v. 45, n. 5, p. 531–536, 2022. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170856>
- LIMA, A. F. et al. Interventions for wound healing among diabetic patients infected with *Staphylococcus aureus*: A systematic review. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 129, n. 3, p. 165–170, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1516-31802011000300007> .
- LIMA, C. O. et al. Ferulic acid as major antioxidant phenolic compound of the *Tetragonisca angustula* honey collected in Vera Cruz-Itaparica Island, Bahia, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. 1–10, 2022. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.253599>.
- LINDSTEDT, K. A.; MÄYRÄNPÄÄ, M. I.; KOVANEN, P. T. Mast cells in vulnerable atherosclerotic plaques - A view to a kill. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 11, n. 4, p. 739–758, 2007. <https://doi.org/10.1097/00041433-200410000-00011>.
- LUSBY, P. E.; COOMBES, A. L.; WILKINSON, J. M. Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. **Archives of Medical Research**, v. 36, n. 5, p. 464–467, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.03.038>
- MACLEOD, A. S.; HAVRAN, W. L. Functions of skin-resident $\gamma\delta$ T cells. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 68, n. 14, p. 2399–2408, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0702-x>
- MANDAL, M. D.; MANDAL, S. Honey: Its medicinal property and antibacterial activity. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 1, n. 2, p. 154–160, 2011. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60016-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60016-6)

MARCELO, K. L.; GOLDIE, L. C.; HIRSCHI, K. K. Regulation of endothelial cell differentiation and specification. **Circulation Research**, v. 112, n. 9, p. 1272–1287, 2013. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.113.300506>.

MARONE, G. et al. Mast cells and basophils in inflammatory and tumor angiogenesis and lymphangiogenesis. **European Journal of Pharmacology**, v. 778, p. 146–151, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.03.088>.

MICHLEWSKA, S. et al. Macrophage phagocytosis of apoptotic neutrophils is critically regulated by the opposing actions of pro-inflammatory and anti-inflammatory agents: key role for TNF- α . **The FASEB Journal**, v. 23, n. 3, p. 844–854, 2009. <https://doi.org/10.1096/fj.08-121228>

MIELKO, K. A. et al. Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 11, p. 1–11, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2739-1>

MIORIN, P. L. et al. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, n. 5, p. 913–920, 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02050.x>

MIRNEZAMI, M. et al. The Role of Topical Estrogen, Phenytoin, and Silver Sulfadiazine in Time to Wound Healing in Rats. **Ostomy Wound Management**, v. 64, n. 8, p. 30–33, 2018. <https://doi.org/10.25270/owm.2018.8.3034>

MITTAG, B. F. et al. Cuidados com Lesão de Pele: Ações da Enfermagem. **Estima**, v. 15, n. 1, p. 19–25, 2017. <https://doi.org/10.5327/Z1806-3144201700010004>

MOLAN, P. C. The antibacterial nature of honey. The nature of the antibacterial activity. **Bee World.**, v. 73, p. 5–28, 1992.

MOURE, J. .; URBAN, D.; MELO, G. A. . **Catálogo de Abelhas (Hymenoptera, Apoidea) na Região Neotropical - versão online**. Disponível em: <<http://www.moure.cria.org.br/catalogue>>. Acesso em: 19 jan. 2023.

NARANGIFARD, A. et al. Molecular Reorganization during the Formation of the Human Skin Barrier Studied In Situ. **The Journal of investigative dermatology** vol. 141, n. 5, p. 1243-1253.e6., 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2020.07.040>

NEMETH, J.; OESCH, G.; KUSTER, S. P. Bacteriostatic versus bactericidal antibiotics for patients with serious bacterial infections: Systematic review and meta-analysis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 2, p. 382–395, 2015. <https://doi.org/10.1093/jac/dku379>

NG, M. F. The role of mast cells in wound healing. **International Wound Journal**, v. 7, n. 1, p. 55–61, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2009.00651.x>.

NOGUEIRA, P. S. F. et al. Perfil da Infecção Hospitalar em um Hospital Universitário. **Revista Enfermagem UERJ**, v. 17, n. 1, p. 96–101, 2009.

- NUUTILA, K.; ERIKSSON, E. Moist Wound Healing with Commonly Available Dressings. **Advances in Wound Care**, v. 10, n. 12, p. 685–698, 2021. <https://doi.org/10.1089/wound.2020.1232>.
- OLIVEIRA, I. V. P. DE; DIAS, R. V. DA C. D. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 4, p. 267–271, 2012. <https://doi.org/10.1590/s1415-47572004000200009>.
- ONDUSKO, D. S.; NOLT, D. *Staphylococcus aureus*. **Pediatrics in Review**, v. 39, n. 6, p. 287–298, 2018. <https://doi.org/10.1542/pir.2017-0224>
- OPNEJA, A.; KAPOOR, S.; STAVROU, E. X. Contribution of platelets, the coagulation and fibrinolytic systems to cutaneous wound healing. **Thrombosis Research**, v. 179, n. May, p. 56–63, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2019.05.001>
- ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis. **Journal of Tissue Viability**, v. 25, n. 2, p. 98–118, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jtv.2015.12.002>
- PAGNANO, L. DE O. et al. Morfometria de fibroblastos e fibrócitos durante o processo cicatricial na pele de coelhos da raça Nova Zelândia Branco tratados com calêndula. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1662–1666, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000600026>
- PARTE, A. C. et al. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 11, p. 5607–5612, 1 nov. 2020. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004332>.
- PAVIANI, E. R.; STADNIK, C. B.; HEINEK, I. Estudo da epidemiologia e perfil de sensibilidade da *Pseudomonas aeruginosa*. **Infarma**, v. 15, p. 66–70, 2004.
- PHILLIPSON, M.; KUBES, P. The Healing Power of Neutrophils. **Trends in Immunology**, v. 40, n. 7, p. 635–647, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.it.2019.05.001>
- PINHEIRO, C. DE G. M. DA E. et al. Microbiological quality of honey from stingless bee, jandaíra (*Melipona subnitida*), from the semiarid region of Brazil. **Ciencia Rural**, v. 48, n. 9, 2018. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180151>.
- PIRES, M. C. D. S. et al. Prevalence and bacterial susceptibility of community acquired urinary tract infection in University Hospital of Brasília, 2001 to 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 6, p. 643–647, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822007000600009>
- PRATO, M. **Ocorrência natural de sexuados, produção in vitro de rainhas e multiplicação de colônias em *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)**. 2010. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2010.
- RANJAN, A. et al. Comparative genomics of *Escherichia coli* isolated from skin and soft

tissue and other extraintestinal infections. **mBio**, v. 8, n. 4, 2017.
<https://doi.org/10.1111/jam.13468>

RAO, P. V. et al. Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: A comparative review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 5, p. 657–664, 2016.

REBOUÇAS, J. S. et al. **Abelhas sociais (Meliponini) e sua participação na promoção da Agroecologia**. [s.l.] Pantanal Editora, 2022.

REINKE, J. M.; SORG, H. Wound repair and regeneration. **European Surgical Research**, v. 49, n. 1, p. 35–43, 2012. <https://doi.org/10.1159/000339613>

RODRÍGUEZ-MALAVAR, A. J. et al. Properties of honey from ten species of Peruvian stingless bees. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 9, p. 1221–1226, 2009.

ROSS, M. H.; PAWLINA, W. **Histologia texto e atlas**. 7. ed. Rio de Janeiro: EDITORA GUANABARA KOOGAN L, 2016. v. 7

SANGIOVANNI, E. et al. *Cannabis sativa* L. extract and cannabidiol inhibit in vitro mediators of skin inflammation and wound injury. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 8, p. 2083–2093, 2019. <https://doi.org/10.1002/ptr.6400>

SANTOS, A. L. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar *Staphylococcus aureus*: visiting a strain of clinical importance. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43(6), p. 413–423, 2007.
<https://doi.org/10.1590/S1676-24442007000600005>

SANTOS FILHO, F. DE S.; FIUZA, P. O. Perfil de resistência a antimicrobianos e prevalência de microrganismos isolados de culturas de pacientes ambulatoriais e hospitalizados em Campos dos Goytacazes-RJ. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 52, n. 3, p. 1–10, 2020. <https://doi.org/10.21877/2448-3877.202100915>

SARRAZY, V. et al. Mechanisms of pathological scarring: Role of myofibroblasts and current developments. **Wound Repair and Regeneration**, v. 19, n. SUPPL. 1, p. s10–s15, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2011.00708.x>

SHARP, A. Beneficial effects of honey dressings in wound management. **Nursing Standard**, v. 24, n. 7, p. 66–74, 21 out. 2009. <https://doi.org/10.7748/ns2009.10.24.7.66.c7331>

SIA, D. K. et al. Mechanisms of ivermectin-induced wound healing. **BMC Veterinary Research**, v. 16, n. 1, p. 1–12, 2020. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02612-z>

SILHAVY, T. J.; KAHNE, D.; WALKER, S. The bacterial cell envelope. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 2, n. 5, 2010.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000414>

SILVA, A. V. et al. Terapias aplicadas no tratamento das lesões por queimaduras de terceiro

grau e extensão variável: revisão integrativa. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 53, n. 4, p. 456–463, 11 dez. 2020. <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v53i4p456-463>

SILVA, M. D. E; LIMA, A. P. O.; COSTA, C. O. Mel de abelhas na alimentação de estudantes e servidores do IF Baiano campus Governador Mangabeira. **Revista Macambira**, v. 4, n. 1, p. e041001, 24 jun. 2020. <https://doi.org/10.35642/rm.v4i1.463>

SUZUKI, S. et al. The Ideal *Helicobacter pylori* Treatment for the Present and the Future. **Digestion**, v. 103, n. 1, p. 62–68, 2022. <https://doi.org/10.1159/000519413>

TAM, V. H. et al. Comparative pharmacodynamics of gentamicin against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 8, p. 2626–2631, 2006.

URQUIZO, O. N. et al. Pollen Preference Patterns by *Tetragonisca angustula* (Apidae: Meliponini) in a Boliviano–Tucumano Forest. **Neotropical Entomology**, v. 51, n. 5, p. 649–659, 9 ago. 2022. <https://doi.org/10.1007/s13744-022-00986-3>

VENTURIERI, G. C. Criação de abelhas indígenas sem ferrão. Belém: **Embrapa Amazônia Oriental**, 2008.

VIT, P.; MEDINA, M.; ENRÍQUEZ, M. E. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. **Bee World**, v. 85, n. 1, p. 2–5, 2004. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2004.11099603>

WALLACH, D.; KANG, T. B.; KOVALENKO, A. Concepts of tissue injury and cell death in inflammation: A historical perspective. **Nature Reviews Immunology**, v. 14, n. 1, p. 51–59, 2014. <https://doi.org/10.1038/nri3561>

WELLER, K. et al. Mast cells are required for normal healing of skin wounds in mice. **The FASEB Journal**, v. 20, n. 13, p. 2366–2368, 2006. <https://doi.org/10.1096/fj.06-5837fje>.

WOLF, S. J.; MELVIN, W. J.; GALLAGHER, K. Macrophage-mediated inflammation in diabetic wound repair. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 119, n. Dec. 2020, p. 111–118, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2021.06.013>.

WONG, S. L. et al. Diabetes primes neutrophils to undergo NETosis, which impairs wound healing. **Nature Medicine**, v. 21, n. 7, p. 815–819, 2015. <https://doi.org/10.1038/nm.3887>

WU, D. C. et al. *Pseudomonas* skin infection: Clinical features, epidemiology, and management. **American Journal of Clinical Dermatology**, v. 12, n. 3, p. 157–169, 2011. <https://doi.org/10.2165/11539770-000000000-00000>

WYRES, K. L.; LAM, M. M. C.; HOLT, K. E. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 6, p. 344–359, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0315-1>

XU, W. et al. *Staphylococcus aureus* impairs cutaneous wound healing by activating the expression of a gap junction protein, connexin-43 in keratinocytes. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 78, n. 3, p. 935–947, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03545-4>.

YANG, J.; GUO, J.; YUAN, J. In vitro antioxidant properties of rutin. **Lwt**, v. 41, n. 6, p. 1060–1066, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.06.010>

YOUNAN, G. J. et al. Mast cells are required in the proliferation and remodeling phases of microdeformational wound therapy. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 128, n. 6, p. 649–658, 2011. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e318230c55d>

YUSSOF, S. J. M. et al. Cellular events and biomarkers of wound healing. **Indian Journal of Plastic Surgery**, v. 45, n. 2, p. 220–228, 2012. <https://doi.org/10.4103/0970-0358.101282>.

ZAMORA, L. G. et al. An insight into the antibiofilm properties of Costa Rican stingless bee honeys. **Journal of Wound Care**, v. 26, n. 4, p. 168–177, 2017. <https://doi.org/10.12968/jowc.2017.26.4.168>.

ZARBOCK, A.; POLANOWSKA-GRABOWSKA, R. K.; LEY, K. Platelet-neutrophil-interactions: Linking hemostasis and inflammation. **Blood Reviews**, v. 21, n. 2, p. 99–111, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2006.06.001>.

ZINDER, R. et al. Vitamin A and Wound Healing. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 34, n. 6, p. 839–849, 2019. <https://doi.org/10.1002/ncp.10420>

ANEXOS

Aprovação CEUA



Universidade Federal de Uberlândia
Comissão de Ética na Utilização de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Efeito do mel de jataí (*tetragonisca angustula latreille*) na cicatrização de feridas induzidas em camundongos”, protocolo nº **050/20**, sob a responsabilidade de **TATIANA CARLA TOMIOSSO** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião **28 de Maio de 2021**.

(We certify that the project entitled “Efeito do mel de jataí (*tetragonisca angustula latreille*) na cicatrização de feridas induzidas em camundongos”, protocol **050/20**, under the responsibility of **TATIANA CARLA TOMIOSSO** - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was **approved** for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of May 28th, 2021).

Vigência do Projeto	Início: 02/06/2021 Término: 30/08/2022
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Camundongo isogênico Balb/C
Número de animais	96
Peso / Idade	27g / 9 semanas
Sexo	Macho
Origem / Local	REBIR – UFU
Local onde serão mantidos os animais:	REBIR - UFU

Uberlândia, 31 de Maio de 2021.


Prof. Dr. Luiz Fernando Moreira Izidoro
 UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Comissão de Ética na Utilização de Animais
 Coordenador da CEUA
 Portaria R Nº 1114/2020