

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 28/07/2019.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



AÇÃO DA PRÓPOLIS, APITOXINA E MELITINA DE *Apis mellifera* E SUAS INFLUÊNCIAS NOS FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Staphylococcus aureus*

ANA FLÁVIA MARQUES PEREIRA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de Concentração: Biologia de Parasitas e Microrganismos.

Prof. Adjunto Ary Fernandes Júnior

Botucatu - SP

Julho de 2017

Instituto de Biociências - Seção Técnica de Pós-Graduação
Distrito de Rubião Júnior s/n CEP 18618-970 Cx Postal 510 Botucatu-SP Brasil
Tel (14) 3880-0780 posgraduacao@ibb.unesp.br



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"Júlio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

AÇÃO DA PRÓPOLIS, APITOXINA E MELITINA DE *Apis mellifera* E SUAS INFLUÊNCIAS NOS FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Staphylococcus aureus*

ANA FLÁVIA MARQUES PEREIRA
PROF. ADJUNTO ARY FERNANDES JÚNIOR

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de Concentração: Biologia de Parasitas e Microrganismos.

Prof. Adjunto Ary Fernandes Júnior

Botucatu - SP

Julho de 2017

Instituto de Biociências - Seção Técnica de Pós-Graduação
Distrito de Rubião Júnior s/n CEP 18618-970 Cx Postal 510 Botucatu-SP Brasil
Tel (14) 3880-0780 posgraduacao@ibb.unesp.br

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Pereira, Ana Flávia Marques.

Ação da própolis, apitoxina e melitina de *Apis mellifera*
e suas influências nos fatores de virulência de
Staphylococcus aureus / Ana Flávia Marques Pereira. -
Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Ary Fernandes Júnior

Capes: 21201021

1. Própolis. 2. Abelha - Veneno. 3. *Staphylococcus aureus*
resistente à meticilina. 4. Antibacterianos. 5. Biofilme.

Palavras-chave: Atividade antibacteriana; Biofilme; MRSA;
Sinergismo; Veneno de abelha.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente ao Prof. Adj. Ary Fernandes Júnior pela oportunidade de aprimorar os meus conhecimentos na bacteriologia e por toda atenção e ajuda recebida durante a iniciação científica e o mestrado. Um ótimo orientador e professor que sempre é muito dedicado e está à disposição para fornecer todo seu conhecimento.

Às meninas do Laboratório de Bacteriologia e Produtos Naturais - L.A.B.A.P. (Fernanda, Mariana, Bruna, Lidiane e Fabiana) que nunca mediram esforços para me ajudar e sempre estavam presentes para sanar todas as dúvidas ao longo do percurso. Um obrigada também às meninas da iniciação científica (Ana Carolina e Alessandra) pelas conversas, conhecimentos trocados e risadas.

À Fernanda que é companheira de bancada, balada e viagens. Um agradecimento à Mariana pelo companheirismo e incentivo à vida fitness. Agradeço à Bruna pelos conselhos e risadas. E também à Lidiane que foi a minha coorientadora na iniciação científica, que participou da minha banca de qualificação e agora estará presente em minha banca de defesa, obrigada pela ajuda e dúvidas sanadas. Enfim, a vocês que mais do que companheiras de laboratório viraram companheiras para a vida, agradeço a todos os passeios, risadas, diversão, viagens e conselhos.

À Fabiana pela ajuda com os experimentos e com as estatísticas.

A todos os funcionários e professores do Departamento de Microbiologia e Imunologia, principalmente à Ana Cláudia Acerra e à Prof. Dra. Vera Lúcia Mores Rall que contribuiu na elaboração deste trabalho.

A todos do CEVAP (Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos), principalmente ao Prof. Dr. Rui Seabra Ferreira Júnior que não mediu esforços para fornecer a melitina utilizada nesse trabalho.

Ao Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi por todos os materiais fornecidos e todos os esclarecimentos em relação à apicultura que foi muito interessante.

Ao Prof. Dr. Severino Matias de Alencar (ESALQ-USP) pela análise do extrato hidroalcoólico de própolis.

O meu agradecimento pelo conhecimento e formação ao Instituto de Biociências de Botucatu e Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Câmpus de Botucatu.

Ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa concedida (processo 162208/2015-4).

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio à pesquisa (2015/14278-6).

Enfim, agradeço a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, sem vocês não teria sido possível. A todos citados deixo aqui o meu muito obrigada.

Lista de Figuras

Figura 1 - O fracionamento do veneno total de *Apis mellifera* (1 mg/mL) foi realizado em cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa em coluna C18.

Figura 2 - Curva de sobrevivência para verificação das interações entre as diferentes apitoxinas e a oxacilina testados isoladamente e em combinação com a oxacilina sobre MRSA ATCC.

Figura 3 - Curva de sobrevivência para verificação das interações entre as diferentes apitoxinas e a oxacilina testados isoladamente e em combinação com a oxacilina sobre um isolado clínico de MRSA.

Figura 4 - Curva de sobrevivência para verificação das interações entre a oxacilina, melitina, Api 1 e própolis testados isoladamente e em combinação com a oxacilina sobre MRSA ATCC.

Figura 5 - Curva de sobrevivência para verificação das interações entre a oxacilina, melitina, Api 1 e própolis testados isoladamente e em combinação com a oxacilina sobre um isolado clínico de MRSA.

Figura 6 - Alterações morfológicas causadas pela Api 1 em MRSA ATCC 33591 observadas por microscopia eletrônica de transmissão.

Figura 7 - Alterações morfológicas causadas pela melitina em MRSA ATCC 33591 observadas por microscopia eletrônica de transmissão.

Figura 8 - Alterações morfológicas causadas pela Api 1 em *E. coli* ATCC 45895 observadas por microscopia eletrônica de transmissão.

Figura 9 - Alterações morfológicas causadas pela melitina em *E. coli* ATCC 45895 observadas por microscopia eletrônica de transmissão.

Lista de Quadros

Quadro 1. Composição do veneno da abelha *Apis mellifera*.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Conteúdo de flavonoides totais, fenólicos totais e capacidade sequestrante de DPPH da amostra do extrato de própolis testada.

Tabela 2. Concentração inibitória mínima (CIM_{90%}) e concentração bactericida mínima (CBM_{90%}) em µg/mL para as diferentes apitoxinas, EHP, melitina, oxacilina e cefalotina para as linhagens de MRSA testadas.

Tabela 3. CIM (µg/mL) da Api 1 e melitina sobre linhagens ATCC de *S. aureus* produtores de enterotoxinas A, B, C e D e respectivos valores correspondentes a 70% do CIM.

Tabela 4. CIM (µg/mL) da Api 1 e melitina sobre linhagem ATCC de *S. aureus* produtor de biofilme e respectivos valores correspondentes a 50% do CIM.

Tabela 5. Produção de enterotoxinas A, B, C e D por *S. aureus* cultivado com concentrações de 70% da CIM da Api 1 e da melitina.

Tabela 6. Valores de UFC/mL para as cepas padrões ATCC de *S. aureus* enterotoxigênicos no tempo zero do cultivo e após 24 horas submetidos em condições de 70% das CIMs obtidas previamente para Api 1 e melitina.

Tabela 7. Porcentagem de inibição na produção de biofilme por Api 1 e melitina sobre *S. aureus* produtor de biofilme.

Lista de Abreviaturas

agr	Gene acessório regulador
Api 1	Apitoxina obtida de abelhas com flora apícola silvestre
Api 2	Apitoxina de abelhas com flora apícola de eucalipto
Api 3	Apitoxina de abelhas com flora apícola de laranjeira
Api 4	Apitoxina de abelhas flora apícola silvestre associada à alimentação artificial
BHI	Infusão de cérebro e coração
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
EHP	Extrato hidroalcoólico de própolis
ESBL	Enterobacteriaceae produtoras de beta-lactamase de espectro amplo
IFN-gamma	Intérferon gamma
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
MCD	Peptídeo degranulador de mastócitos
MHC	Mueller Hinton Caldo
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
MSCRAMMs	Componentes da superfície microbiana que reconhecem moléculas adesivas da matriz
PBP2a	Proteína de ligação da penicilina
PBS	Tampão fosfato salino
PIA	Polissacarídeo intercelular adesina
PNSSP	<i>Streptococcus pneumoniae</i> não suscetível à penicilina
REMA	Resazurin Microtiter Assay Plate
SCCmec	Cassete cromossômico estafilocócico
SEA	Enterotoxina tipo A
SEB	Enterotoxina tipo B
SEC	Enterotoxina tipo C
SED	Enterotoxina tipo D
SEs	Enterotoxinas estafilocócicas

TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TSA	Ágar tríptico de soja
TSB	Caldo tríptico de soja
UFC	Unidade formadora de colônia
VRE	<i>Enterococcus</i> spp. resistente à vancomicina

Lista de Símbolos

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
cm	Centímetro
g	Gramma
h	Hora
kDa	Kilodalton
Log	Logaritmo
mg	Miligramma
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
rpm	Rotações por minuto
μL	Microlitro
μmol	Micromol

Resumo: A busca por novos fármacos é uma constante, especialmente para aqueles obtidos a partir de produtos naturais, que apresentem melhor eficácia e vários efeitos terapêuticos. A própolis e o veneno (apitoxina) da abelha *Apis mellifera*, além da melitina, uma fração da apitoxina, possuem ação antimicrobiana reportada na literatura. As ações antibacterianas do extrato hidroalcoólico de própolis (EHP), de apitoxinas obtidas das abelhas *Apis mellifera* submetidas a floras apícolas diferentes (Api 1 - flora apícola silvestre, Api 2 - flora apícola de eucalipto, Api 3 - flora apícola de laranjeira, Api 4 - flora apícola silvestre associada com alimentação artificial) e de melitina foram testadas sobre isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) utilizando metodologia da microdiluição (*Resazurin Microtiter Assay Plate* – REMA) para obtenção dos respectivos valores de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM). Ensaios também foram realizados para verificação de sinergismo entre o EHP, as diferentes apitoxinas e a melitina em combinação com a oxacilina sobre uma linhagem de MRSA ATCC e um isolado clínico de MRSA utilizando metodologia da curva de sobrevivência (*time kill curve*). Foram realizados ensaios inéditos objetivando verificar também se a Api 1 e melitina inibem a produção de enterotoxinas sobre cepas ATCC de *S. aureus* SEA, SEB, SEC, SED e se inibem a produção de biofilme sobre a cepa ATCC de *S. aureus*. A microscopia eletrônica de transmissão foi utilizada para verificar alterações morfológicas e estruturais provocadas pela Api 1 e melitina sobre MRSA e *E. coli*.

Todas as apitoxinas testadas e a melitina apresentaram ação antibacteriana frente ao MRSA além de sinergismos com efeitos bactericidas quando em combinação com a oxacilina, especialmente para melitina e Api 1. O EHP mostrou um alto valor de CIM e também um sinergismo bacteriostático com a oxacilina. A Api 1 e melitina não foram capazes de inibir a produção e/ou liberação de enterotoxinas de *S. aureus* e Api 1 mostrou uma baixa porcentagem de redução sobre a produção de biofilme (35,1%) enquanto a melitina mostrou ser um produto eficiente na redução de produção de biofilme (66,3%). Assim, conclui-se que a melitina e Api 1 se mostram potencialmente adequados para o desenvolvimento de fármacos no futuro.

Palavras chave: Atividade antibacteriana, Biofilme, MRSA, Sinergismo, Veneno de abelha.

Abstract: The search for new drugs is a constant, especially those obtained from natural products with better efficacy and many therapeutic effects. The propolis, bee venom (apitoxin) from *Apis mellifera* bee and melittin, a fraction of apitoxin, have reported antibacterial activity in the literature. We verified the antibacterial action of hydroalcoholic extract of propolis (HEP), the bee venom corresponding to different bee blossoms (Api 1 - Wild bee blossom, Api 2 - Eucalyptus bee blossom, Api 3 - Orange tree bee blossom, Api 4 - Wild bee blossom associated with artificial food) and melittin on strains of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) through microdilution assays (Assay Resazurin Microtiter Plate - REMA) to obtaining the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). We performed assays to verify synergism of EHP, the different apitoxins and melittin in combination with oxacillin on a strain of MRSA ATCC and a clinical isolate of MRSA using time-kill curve methodology. Unpublished trials were carried out to verify also if Api 1 and melittin inhibit the enterotoxins production of *S. aureus* ATCC strains (SEA, SEB, SEC, SED) and biofilm production of *S. aureus* ATCC strain We did the transmission electron microscopy to check the phenotypic changes caused by Api 1 and melittin on MRSA and *E. coli*.

All the tested apitoxins and melittin showed an antibacterial action against MRSA and bactericidal synergisms in combination with oxacillin, especially for melittin and Api 1. The HEP showed a high value MIC and a bacteriostatic synergism with oxacillin. Api 1 and melittin were not able to inhibit the production and or the release of enterotoxins. Api 1 showed a low reduction percentage on biofilm production (35,1%) while melittin showed to be a good product to reduce biofilm production (66,3%). Therefore, we concluded that melittin and Api 1 are potentially suitable for the development of drugs in the future.

Keywords: Antibacterial activity, Bee venom, Biofilm, MRSA, Synergism.

SUMÁRIO

1. Introdução	14
1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	14
1.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> metilina resistente (MRSA)	15
1.1.2. Enterotoxinas estafilocócicas	16
1.1.3. Biofilme	17
1.2. Produtos naturais para o desenvolvimento de novos fármacos	19
1.3. Abelha <i>Apis mellifera</i>	19
1.3.1. Própolis	20
1.3.2. Veneno (apitoxina)	21
2. Objetivos	25
2.1. Objetivo geral:	25
3. Material e métodos:	26
3.1. Obtenção da própolis, apitoxina e melitina	26
3.2. Obtenção da própolis e preparo de seu extrato hidroalcoólico	26
3.3. Compostos fenólicos totais, flavonoides e ação antioxidante do extrato de própolis	26
3.4. Apitoxina de <i>Apis mellifera</i>	27
3.5. Obtenção da melitina	27
3.6. Linhagens bacterianas	28
3.7. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)	29
3.8. Verificação de interações (sinergismo) pela curva de sobrevivência	29
3.9. Ensaio com concentração subinibitória da Api 1 e melitina sobre <i>S. aureus</i> produtores de enterotoxinas A, B, C e D.	30

3.10. Ensaio com concentração subinibitória da Api 1 e melitina sobre <i>S. aureus</i> produtor de biofilme.....	31
3.11. Microscopia eletrônica de transmissão sobre cepas bacterianas	32
4. Análise Estatística	33
5. Resultados e discussão	34
5.1. Compostos fenólicos totais, flavonoides e ação antioxidante do extrato hidroalcoólico de própolis	34
5.2. Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima	34
5.3. Verificação de interações (sinergismo) pela curva de sobrevivência	37
5.4. Ensaio com concentrações subinibitórias da Api 1 e a melitina sobre <i>S. aureus</i> produtores de enterotoxinas A, B, C e D.	40
5.5. Ensaio com concentrações subinibitórias da Api 1 e melitina sobre <i>S. aureus</i> produtor de biofilme.....	42
5.6. Microscopia eletrônica de transmissão	43
6. Considerações Gerais.	49
7. Referência Bibliográfica.....	50
APÊNDICE.....	61

1. Introdução

As pesquisas por alternativas terapêuticas para as doenças infecciosas são uma medida constante e necessária. Além disto, a resistência bacteriana tornou-se um problema mundial, devido ao uso indiscriminado de antibióticos tanto em animais como em humanos, principalmente nos hospitais, já que nesses ambientes normalmente ocorrem falhas nas medidas básicas de controle de infecção hospitalar (SANTOS, 2004).

Outro aspecto é que a resistência bacteriana vem afetando o mundo todo e assim elevando a mortalidade, morbidade e os custos com a saúde. Assim, destaque é dado para cepas de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Streptococcus pneumoniae* não suscetível à penicilina (PNSSP), *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina (VRE) e enterobactérias produtoras de beta-lactamase de amplo espectro (ESBL), essas apresentam ampla disseminação tanto nos hospitais como também nas comunidades (SANTOS, 2004).

O surgimento das cepas resistentes tem explicação nas mutações cromossômicas ou devido a recombinação genética, provocada pelos processos de: conjugação (a bactéria doadora transfere o plasmídeo contendo os genes de resistência para uma bactéria receptora, geralmente, através do pili, havendo contato entre as células), transformação (uma bactéria incorpora fragmentos de DNA de outra bactéria que sofreu lise celular) ou transdução (genes de resistência são transferidos por bacteriófago) (SHLAES et al., 1997).

Existem alguns mecanismos que explicam a resistência bacteriana tal como a alteração estrutural do sítio alvo do antibiótico; alteração da permeabilidade da membrana externa (limitando o acesso do antibiótico para dentro da célula através de bombas de efluxo, bombeando o antibiótico para o exterior) e por meio da inativação enzimática do fármaco (HEMAISWARYA et al., 2008).

O uso racional de antibióticos associado a prevenção de infecções bacterianas com o uso de vacinas e o controle da disseminação de bactérias resistentes são algumas das medidas a serem tomadas para evitar a resistência bacteriana (GUIMARÃES et al., 2010).

6. Considerações Gerais

O EHP, melitina e apitoxinas estudadas apresentaram ação antibacteriana, com destaque para Api 1 e melitina que apresentaram as maiores atividades inibidoras frente a MRSA enquanto o EEP apresentou um valor de CIM muito elevado comparado aos demais antimicrobianos. Isso pode ser explicado pelo seu baixo teor de fenólicos totais.

A melitina e a Api 1 mostraram que podem ser usadas isoladamente ou em combinações com a oxacilina com efeito sinérgico e bactericida também sobre cepas de MRSA.

A Api 1 e a melitina não mostraram efeito inibidor da produção e/ou liberação de enterotoxinas, porém foram capazes de inibir na produção de biofilme com destaque para a melitina com percentual de redução de 66,3 %, mostrando resultados inéditos na literatura.

A microscopia eletrônica de transmissão foi uma ferramenta importante para apontar aspectos da influência sobre a ultraestrutura das bactérias estudadas, importante para entendimento dos mecanismos de ação da Api 1 e melitina.

Os resultados mostram também que a Api 1 e a melitina possuem potencial como futuros agentes antimicrobianos para serem usados tanto isoladamente como em associação com antibióticos convencionais, com destaque para a melitina que apresentou um bom desempenho nos ensaios realizados, e que por ser um peptídeo catiônico, geralmente apresenta ação rápida e não é sujeita aos muitos mecanismos de resistência.

7. Referência Bibliográfica

- ADADE, C.M.; OLIVEIRA, I.R.S.; PAIS, J.A.R.; PADRON, T.S.; Melittin peptide kills *Trypanosoma cruzi* parasites by inducing different cell death pathways. *Toxicon*, v. 69, p. 227-239, 2013.
- AGEITOS, J.M.; SÁNCHEZ-PÉREZ, A.; CALO-MATA, P.; VILLA, T.G. Antimicrobial peptides (AMPs): Ancient compounds that represent novel weapons in the fight against bacteria. *Biochemical Pharmacology*, v. 133, p. 117-138, 2017.
- AL-LANI, I.; ZIMMERMANN, S.; REICHLING, J.; WINK, M. Pharmacological synergism of bee venom and melittin with antibiotics and plant secondary metabolites against multi-drug resistant microbial pathogens. *Phytomedicine*, v. 22, p. 245-255, 2015.
- ALBANO, M.; ALVES, F.C.B.; ANDRADE, B.F.M.T.; BARBOSA, L.N.; PEREIRA, A. F. M.; CUNHA, M.L.R.S.; RALL, V. L. M.; FERNANDES JUNIOR, A. Antibacterial and anti-staphylococcal enterotoxin activities of phenolic compounds. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 38, p. 83-90, 2016.
- ALI, M.A.A.M. Studies on bee venom and its medical uses. *International Journal of Advancements in Research & Technology*, v. 1, p. 1-13, 2012.
- ALTSCHUL, S.F.; MADDEN, T.L.; SCHÄFFER, A.A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D.J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, v. 25, n.17, p. 3389-402, 1997.
- ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. *Revista Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 34, p. 37-41, 2013.
- ÂNGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos e alimentos: uma breve revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 66, p. 1-9, 2007.
- ARCIOLA, C.R.; CAMPOCCIA, D.; SPEZIALE, P.; MONTANARO, L.; COSTERTON, J.W. Biofilm formation in *Staphylococcus* implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials. *Biomaterials*, v. 33, p. 5967-5982, 2012.
- ARGUDÍN, M.A.; MENDOZA, M.C.; RODICIO, M.R. Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, v. 7, p. 1751-1773, 2010.

- BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins: a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 61, p. 1-10, 2000.
- BALSINDE, J.; BALBOA, M.A.; INSEL, P.A.; DENNIS, E.A. Regulation and inhibition of phospholipase A2. *Annual Reviews of Pharmacology and Toxicology*, v. 39, p. 175-189, 1999.
- BANKOVA, V., BOUDOUROVA-KRASTEVA, G., POPOV, S., SFORCIN, J.M., FUNARI, S.R.C. Seasonal variation of the chemical composition of Brazilian propolis. *Apidologie*, v. 29, p. 361-367, 1998
- BARRAVIERA, B.; FERREIRA JÚNIOR, R.S. Abelhas e vespas. In: Acidentes por animais peçonhentos. Botucatu: CEVAP, UNESP, 2007. p. 78-87
- BENKOVIC, V.; HORVAT KNEZEVIC, A.; DIKIC, D.; LISICIC, D.; ORSOLIC, N.; BASIC, I. KOSALEC, I.; KOPJAR, N. Radioprotective effects of propolis and quercetin in irradiated mice evaluated by the alkaline comet assay. *Phytomedicine*, v. 15, p. 851-858, 2009.
- BERGDOLL, M.S. *Staphylococcus aureus*. Foodborne bacterial pathogens. *New York: Marcel Dekker*, p. 463-523, 1989.
- BERGDOLL, M.S.; ROBBINS C.P. Characterization of types of staphylococcal enterotoxins. *Journal milk food technology*, v. 36, p. 610-612, 1973.
- BERGDOLL, M.S.; BORJA, C.R.; AVENA, R.M. Identification of a new enterotoxin as enterotoxin C. *Journal of Bacteriology*, v. 90, p. 1481-1485, 1965.
- BERGDOLL, M.S.; CZOP, J.K.; GOULD, S.S. Enterotoxin synthesis by the staphylococci. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 236, p. 307-316, 1974.
- BERNARDO, K.; PAKULAT, N.; FLEER, S.; SCHNAITH, A.; UTERMOHLEN, O.; KRUT, O.; MULLER, S.; KRONKE, M. Subinhibitory concentrations of linezolid reduce *Staphylococcus aureus* virulence factor expression. *Antimicrobial agents and chemistry*, v. 48, p. 546-555, 2004.
- BODEY, G.P.; BOLIVAR, R.; FAINSTEIN, V.; JADEJA, L. Infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Reviews of Infectious Diseases*, v. 5, p. 279-313, 1983.
- BOGDANOV, S. Bee Venom: Composition, Health, Medicine: A Review. In: Bee Product Science, 2011. Disponível em <<http://www.bee->

hexagon.net/files/file/fileE/Health/VenomBookReview.pdf >. Acesso em 21 de janeiro de 2017.

BOUTRIN, M.C.F.; FOSTER, H.A.; PENTREATH, V.W. The effects of bee (*Apis mellifera*) venom phospholipase A2 on *Trypanosoma brucei brucei* and enterobacteria. *Experimental Parasitology*, v. 119, p. 246-251, 2008.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRODSCHNEIDER, R.; CRAILSHEIM, K. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, v. 41, p. 278-291, 2010.

BROGDEN, K.A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nature Reviews Microbiology*, v. 3, p. 238–250, 2005.

BROSI, B.J.; DAILY, G.C.; EHRLIC, P.R. Bee community shifts with landscape context in a tropical countryside. *Ecological Applications*, v. 17, p. 418-430, 2007.

BRUMFITT, W.; HAMILTON-MILLER, J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The New England Journal of Medicine*, v. 320, p. 1188-1196, 1989.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food and Chemical Toxicology*, v. 36, p. 347-363, 1998.

CASMAN, E.P.; BENNET, A.E.; DORSEY, A.E.; ISSA, J.A. Identification of a fourth staphylococcal enterotoxin, enterotoxin D. *Journal of Bacteriology*, v. 94, p. 1875-1882, 1967.

CASMAN, E.P.; BERGDOLL, M.S.; ROBINSON, J. Designation of staphylococcal enterotoxin. *Journal of Bacteriology*, v. 85, p. 715-716, 1963.

CASTRO, M.L.; CURY, J.M.; ROSALEN, P.L.; ALENCAR, S.M.; IKEGAKI, M.; SUARTE, S.; KOO, H. Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: Influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. *Química Nova*, v. 30, p. 1512-1516, 2007.

CHAN, B.C.; IP, M.; LAU, C.B.; LUI, S.L.; JOLIVALT, C.; GANEM-ELBAZ, C.; LITAUDON, M.; REINER, N.E.; GONG, H.; SEE, R.H.; FUNG, K.P.; LEUNG, P.C. Synergistic effects of baicalein with ciprofloxacin against NorA over-expressed methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and inhibition of MRSA pyruvate kinase. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 137, p. 767-773, 2011.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-fifth Informational Supplement. CLSI Document M100-S25, WAYNE, P.A.: CLSI, 2015.

CONLON, J. M.; KOLODZIEJEK, J.; NOWOTNY, N. Antimicrobial peptides from ranid frogs: taxonomic and phylogenetic markers and a potential source of therapeutic agents. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1696, p. 1-14, 2004.

COSTERTON, J.W.; STEWART, P.S.; GREENBERG, E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, v. 284, p. 1318-1322, 1999.

COUTO, R. H. N.; COUTO, L. A. Apicultura: Manejo e produção. *Jaboticabal: FUNEP*, p. 154, 1996.

CUEVA, C.; MORENO-ARRIBAS, A.M.V.; PEDRO, J.; MARTIN ALVAREZ, A., GERALD BILLS, B.C.; VICENTE, M.F.; BASILIO, A.; RIVAS, C.L.; REQUENA, T.; RODRIGUEZ, J.M.; BARTOLOME, C. Antimicrobial activity of phenolic acids against comensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in microbiology*, v. 161, p. 372-382, 2010.

CUNHA, M.L.R.S.; CALSOLARI, R.A.O. Toxigenicity in *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci: Epidemiological and Molecular Aspects. *Microbiology Insights*, v. 1, p. 1-12, 2008.

CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 26, p. 343-356, 2005.

DELANEY, J.A.; SCHNEIDER-LINDNER, V.; BRASSARD, P.; SUISSA, S. Mortality after infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) diagnosed in the community. *BMC Medicine*, v. 6, p. 1-8, 2008.

DENNIS, E.A. Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A2. *Journal of Biological Chemistry*, v. 269, p. 13057-13060, 1994.

DONLAN, R. M.; COSTERTON, J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 15, p. 167-193, 2002.

DOSLER, S.; GERCEKER, A.A. In vitro activities of antimicrobial cationic peptides; melittin and nisin, alone or in combination with antibiotics against Gram-positive bacteria. *Journal of Chemotherapy*, v. 24, p. 137-143, 2012.

- DOSLER, S.; KARAASLAN, E.; ALEV, G.A. Antibacterial and anti-biofilm activities of melittin and colistin, alone and in combination with antibiotics against Gram-negative bacteria. *Journal of Chemotherapy*, p. 3-9, 2015.
- DUSSART, W.; BARTHOLOMÉ, Y. Taller elaboración de subproductos de la miel y las colmenas. *Nicaragua: Managua*, p. 51, 2007.
- EDMAN, P.; BEGG, G. A protein sequencer. *European Journal of Biochemistry*, v. 1, p. 80-91, 1967.
- FALCO, A.; CATALAN, E.B.; GUTIERREZ, M.P.M.; COLL, J.; MICOL, V.; ESTEPA, A. Melittin-loaded immunoliposomes against viral surface proteins, a new approach to antiviral therapy. *Antiviral Research*, v. 97, p. 218-221, 2013.
- FERNANDES JÚNIOR, A.; BALESTRIN, E. C.; BETONI, J.E.C.; ORSI, R.O.; CUNHA, M. L. R. S.; MONTELLI, A. C. Propolis: anti-*Staphylococcus aureus* activity and synergism with antimicrobial drugs. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, p. 563-566, 2005.
- FERNANDES JÚNIOR, A.; BALESTRIN, E.C.D.; CUNHA M.R.L.S. Anti *Staphylococcus aureus* activity of bee propolis extracts prepared with different ethanol concentrations. *Revista de Ciências Farmacêuticas*, v. 24, p. 147-152, 2003.
- FERREIRA-JUNIOR, R.S.; SCIANI, J.M.; MARQUES-PORTO, R.; LOURENÇO, J.A.; ORSI, R.O.; BARRAVIERA, B.; PIMENTA, D.C. Africanized honey bee (*Apis mellifera*) venom profiling: Seasonal variation of melittin and phospholipase A2 levels. *Toxicon*, v. 56, p. 355-362, 2010.
- FUNARI, S.R.C.; ZEIDLER, P.R.; ROCHA, H.C.; SFORCIN, J.M. Venom production by Africanized honeybees (*Apis mellifera*) and Africanized-European hybrids. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, v. 7, p. 190-198, 2001.
- GHISALBERTI, E. L. Propolis: a review. *Bee World*, v. 60, p. 59-84, 1979.
- GIOVAGNOLI, S.; PIETRELLA, D.; BARBERINI, L.; SANTI, C.; CAROTTI, A.; DI MICHELE, A.; RICCI, M. Reshaping antibiotics through hydrophobic drug-bile acid ionic complexation enhances activity against *Staphylococcus aureus* biofilms. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 528, p. 144-162, 2017.
- GREENAWAY, W.; MAY, J.; SCAYSBROOK, T.; WHATLEY, F.R. Identification by gas chromatography-mass spectrometry of 150 compounds in propolis. *Zeitschrift fuer Naturforschung*, v. 46, p. 111-121, 1991.

GRUNBERGER, D.; BANERJEE, R.; EISINGER, K. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. *Experientia*, v. 44, p. 230-232, 1988.

GUIMARAES, D.O.; MOMESSO, L.S.; PUPO, M.T.. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Química Nova*, v. 33, p. 667-679, 2010.

HABERMANN, E. Bee and wasp venoms. *Science*, v. 177, p. 314-322, 1972.

HABERMANN, E.; JENTSCH, J. Sequenzanalyse des Melittins aus den tryptischen und peptischen Spaltstücken. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift fur physiologische*, v. 348, p. 37-50, 196

HAN, S.M.; KIM, J.M.; HONG, I.P.; WOO, S.O.; KIM, S.G.; JANG, H.R.; PAK, S.C. Antibacterial activity and antibiotic-enhancing effects of honeybee venom against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, v. 79, p. 1-9, 2016.

HAN, S.M.; LEE, K.; YEO, J.; KWEON, H.; KIM, B.; KIM, J.; BAEK, H.; KIM, S. Antibacterial activity of honey bee venom against bacterial mastitis pathogens infecting dairy cows. *International Journal of Industrial Entomology*, v. 14, p. 147-142, 2007.

HAN, S.M.; YEO, J.; BAEK, H.; LIN, S.; MEYER, S.; MOLAN, P. Postantibiotic effect of purified melittin from honeybee (*Apis mellifera*) venom against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Asian Natural Products Research*, v.11, p. 796-804, 2009.

HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical Pharmacology*, v. 32, p. 1141-1148, 1983.

HEGAZI, A.G. Medical importance of bee products. *Bee science*, v. 12, p. 136-146, 2012.

HEMAISWARYA, S.; KRUTHIVENTI, A.K.; DOBLE, M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*, v. 15, p. 639-652, 2008.

HENRIQUES, M.; CERCA, N.; AZEREDO, J.; OLIVEIRA, R. Influence of sub-inhibitory concentrations of antimicrobial agents on biofilm formation in indwelling medical devices. *The International Journal of Artificial Organs*, v. 28, p. 1181-1185, 2005.

HOLMBERG, S.D.; BLAKE, P.A. Staphylococcal food poisoning in the United States. New facts and old misconceptions. *JAMA*, v. 251, p. 487-489, 1984.

HONDA, H; KRAUSS, M.J.; COOPERSMITH, C.M.; KOLLEF, M.H.; RICHMOND, A.M.; FRASER, V.J.; WARREN, D.K. *Staphylococcus aureus* nasal colonization and subsequent infection in intensive care unit patients: Does methicillin resistance matter? *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 31, p. 584-591, 2010.

JONES, S.M., MORGAN, M., HUMPHREY, T.J., LAPPIN-SCOTT, H. Effect of vancomycin and rifampicin on methicillin resistant *Staphylococcus aureus* biofilms. *Lancet*, v. 357, p. 40-41, 2001.

JORGE, D.M.M. Busca de inibidores naturais contra o veneno de *Apis mellifera*. 142 p. Tese (Mestrado em Genética) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2008.

JUNG, W.K.; LEE, D.Y.; CHOI, Y.H.; YEA, S.S.; CHOI, I.; PARK, S.G.; SEO, S.K.; LEE, S.W.; LEE, C.M.; KIM, S.K.; JEON, Y.J.; CHOI, I.W. Caffeic acid phenethyl ester attenuates allergic airway inflammation and hyperresponsiveness in murine model of ovalbumin-induced asthma. *Life Sciences*, v. 26, p. 797-805, 2008.

KALOGEROPOULOS, N.; KONTELES, S.J.; TROULLIDOU, E.; MOURTIZINOS, I.; KARATHANOS, V.T. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chemistry*, v.116, p. 452-461, 2009.

KONG, M.; CHEN, X.G.; LIU, C.S.; LIU, C.G.; MENG, X.H.; YU, L.J. Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against *E. coli*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 65, p. 197-202, 2008.

KUHN-NENTWIG, L. Antimicrobial and cytolytic peptides of venomous arthropods. *Cellular and Molecular Life and Sciences*, v. 12, p. 2651-2668, 2003.

LEE, G.; BAE, H. Anti-Inflammatory applications of melittin, a major component of bee venom: Detailed mechanism of action and adverse effects. *Molecules*. v. 21, n. 5, p. 616-626, 2016.

LIMA, P. R.; BROCHETTO-BRAGA, M. R. Hymenoptera venom review focusing on *Apis mellifera*. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, v. 9, p.149-162, 2003.

- LOMELE, R. L. Efeito do recurso floral na composição qualitativa de apitoxina. 2014. 51 p. Tese (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu. 2014.
- MAK, T.N.; SCHMID, M.; BRZUSZKIEWICZ, E.; ZENG, G.; MEYER, R.; SFANOS, K.S.; BRINKMANN, V.; MEYER, T.F.; BRÜGGEMANN, H. Comparative genomics reveals distinct host-interacting traits of three major human-associated propionic bacteria. *BMC Genomics*, v. 14, p. 640, 2013.
- MAHLAPUU, M.; HÅKANSSON, J.; RINGSTAD, L.; BJÖRN, C. Antimicrobial peptides: an emerging category of therapeutic agents. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 6, p. 1-12, 2016.
- MANTOVANI, R.P.; RALL, V.L.M.; BATALHA, J.E.N.; FERNANDES, A.A.H.; FERNANDES JUNIOR, A. Anti-coagulase-negative *Staphylococcus* activity of ethanolic extracts of propolis from two brazilian regions and synergism with antimicrobial drugs by the e-test method. *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases*, v. 14, p. 357-365, 2008.
- MARCUCCI, M.C., Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutical activity. *Apidologie*, v. 26, p. 83–99, 1995.
- MARR, A.K.; GOODERHAM, W.J.; HANCOCK, R.E. Antibacterial peptides for therapeutic use: Obstacles and realistic outlook. *Current Opinion in Pharmacology*, v. 6, p.468–472, 2006.
- MARTIN, A.; CAMACHO, M.; PORTAELS, F.; PALOMINO; J.C. Resazurin microtiter assay plate testing of *Mycobacterium tuberculosis* susceptibilities to second-line drugs: Rapid, Simple, and inexpensive method. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 47, p. 3616-3619, 2003.
- MARTINS, A.; PEREIRA, V.C.; CUNHA, M.L.R.S. Oxacillin Resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from the University Hospital of Botucatu Medical School in Brazil. *Chemotherapy*, v. 56, p. 112-119, 2010.
- MENEZES, H. Própolis: Uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 72, p. 405-411, 2005.
- MESAROS, N.; NORDMANN, P.; PLESIAT, P.; ROUSSEL-DELVALLEZ, M.; VAN ELDERE, Y.; JACOBS, F.; LEBECQUE, P.; MALFROOT, A.; TULKENS, P.M.; VAN

BAMBEKE, F. 'Pseudomonas aeruginosa: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium'. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 13, p. 560-78, 2007.

METZNER, J.; BEKEMEIER, H.; SCHNEIDEWIND, E.; SCHWAIBERGER, R. Bioautographische Erfassung der antimikrobiell wirksamen Inhaltstoffe von Propolis. *Pharmazie*, v. 30, p. 799-800, 1975.

MIORIN, P.L.; LEVY JUNIOR, N.C.; CUSTODIO, A.R.; BRETZ, W.A.; MARCUCCI, M.C. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Microbiology*, v. 95, p. 913-920, 2003.

MOERMAN, L.; BOSTEELS, S.; NOPPE, W.; WILLEMS, J.; CLYNEN, E.; SCHOOF, L.; THEVISSSEN, K.; TYTGAT, J.; VAN ELDERE, J.; VAN DER WALT, J.; VERDONCK, F. Antibacterial and antifungal properties of alpha-helical, cationic peptides in the venom of scorpions from southern Africa. *European Journal of Biochemistry*, v. 269, 2002.

MURRAY, R.J. Recognition and management of *Staphylococcus aureus* toxin-mediated disease. *Internal Medicine Journal*, v.35, p. 106-119, 2005.

MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; PFALLER, M.A. *Microbiologia médica*. 6ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

NAPARSTEK, L.; CARMELI, Y.; NAVON-VENEZIA, S.; BANIN, E. Biofilm formation and susceptibility to gentamicin and colistin of extremely drug-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 69, p. 1027-1034, 2014.

NATARO, J.P.; KAPER, J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 11, p. 142-201, 1998.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents, approved guideline M26-A. Wayne PA: NCCLS; 1999.

NAZARI, M.R.; SEKAWI, Z.; SADEGHIFARD, N.; RAFTARI, M. GHAFOURIAN, S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a systematic review. *Medical Microbiology*, v. 26, p. 1-7, 2015.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, v. 79, p. 629-661, 2016.

OMOE, K.; IMANISHI, K.; HU, D.; KATO, H.; TAKAHASHI-OMOE, H.; NAKANE, A.; UCHIYAMA, T.; SHINAGAWA, K. Biological properties of Staphylococcal enterotoxin-like toxin Type R. *Infection and immunity*, v. 72, p. 3664-3667, 2004.

ORSI, R. O.; FERNANDES JÚNIOR, A.; BANKOVA, V.; SFORCIN, J. M. Antibacterial effects of Brazilian and Bulgarian propolis and synergistic effects with antibiotics acting on the bacterial DNA and folic acid. *Natural Product Research*, v. 26, p. 344-349, 2006.

ORSI, R. O.; FERNANDES JÚNIOR, A.; BANKOVA, V.; SFORCIN, J. M. Antibacterial effects of Brazilian and Bulgarian propolis *in vitro* against *Salmonella* Typhi and synergism with antibiotics on the ribosome. *Natural Product Research*, v. 26, p. 430-437, 2006.

ORSI, R.O.; FUNARI, S.R.C.; SOARES, A.M.V.C.; CALVI, A.S.; OLIVEIRA, S.L.; SFORCIN, J.M.; BANKOVA, V. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, v. 6, p. 205-219, 2000.

OTTO, M. Staphylococcal Biofilms. *Current topics in microbiology and immunology*, v. 322, p. 207-228, 2008.

OWEN, M. D.; BRIDGES, A. R. Catecholamines in honeybee (*Apis mellifera* L.) and various vespid (Hymenoptera) venoms. *Toxicon*, v. 20, p. 1075-1084, 1982.

OWEN, M. D.; PFAFF, L. A. Melittin synthesis in the venom system of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Toxicon*, v. 33, p. 1181-1188, 1995.

PALMA, M.S.; BROCHETTO-BRAGA, M.R. Biochemical variability between venoms from different honey-bee (*Apis mellifera*) races. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 106, p. 423-427, 1993.

PAMPLONA-ZOMENHAN, L.C.; PAMPLONA, B.C.; SILVA, C.B.; MARCUCCI, M.C.; MIMICA, L.M.J. Evaluation of the *in vitro* antimicrobial activity of an ethanol extract of Brazilian classified propolis on strains of *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 42, p. 1259-1264, 2011.

PARK, Y. K.; HIKEGAKI, M.; ABREU, J. A. S.; ALCICI, N. M. F. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n. 3, p. 313-318, 1998.

PARK, C.; LEE, D.G. Melittin induces apoptotic features in *Candida albicans*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 394, p. 170-172, 2010.

PARKAR, S.G.; FLINT, S.H.; BROOKS, J.D. Physiology of biofilms of thermophilic bacilli: potential consequences for cleaning. *Journal of Industrial Microbiology Biotechnology*, v. 30, n.9, p. 553-560, 2003.

PEIREN, N.; VANROBAEYS, F.; GRAF, D. C. The protein composition of honeybee venom reconsidered by a proteomic approach. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1752, p. 1-5, 2005.

PEREZ-PAYA, E.; HOUGHTEN, R. A.; BLONDELLE, S. E. The role of amphipathicity in the folding, self-association and biological activity of multiple subunit small proteins. *Journal of Biological Chemistry*, v. 270, p. 1048–1056, 1995.

PINCHUK, I.; BESWICK, E.; REYES, V. Staphylococcal Enterotoxins. *Toxins*, v.2, p. 2177-2197, 2010.

PINTO, M. S.; FARIA, J. E.; MESSAGE, D.; CASSINI, S. T. A.; PEREIRA, C. S.; GIOSO, M. M. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 38, p. 278-283, 2001.

PROBST, I. S.; SFORCIN, J. M.; RALL, V. L. M.; FERNANDES, A. A. H.; FERNANDES JÚNIOR, A. Antimicrobial activity of propolis and essential oils and synergism between these natural products. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Disease*. v. 17, p. 159-167, 2011.

RAGHURAMAN, H.; CHATTOPADHYAY, A. Melittin: a Membrane-active peptide with diverse functions. *Bioscience reports*, v. 27, p. 189-223, 2007.

RASIGADE, J.P.; VANDENESCH, F. *Staphylococcus aureus*: A pathogen with still unresolved issues. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 21, p. 510-514, 2014.

RAVENSDALE, J.; WONG, Z.; O'BRIEN, F.; GREGGL, K. Efficacy of antibacterial peptides against peptide-resistant MRSA is restored by permeabilization of bacteria membranes. *Frontiers in Microbiology*, v. 7, p. 1-10, 2016.

RAYGADA, J.L.; LEVINE, D.P. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Growing Risk in the Hospital and in the Community. *American Health & Drug Benefits*, v. 2, p. 86-95, 2009.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. *Texto & Contexto enfermagem*, v. 13, p. 64-70, 2004.

SCALLAN, E.; GRIFFIN, P.M.; ANGULO, F.J.; TAUXE, R.V.; HOEKSTRA, R.M. Foodborne illness acquired in the United States – unspecified agents. *Emerging Infectious Diseases*, v. 17, p. 16 - 22, 2011.

SCALLAN, E.; HOESTRA, R.M.; ANGULO, F.J.; TAUXE, R.V.; WIDDOWSON, M-A.; ROY, S.L. JONES, J.L.; GRIFFIN, P.M. Foodborne illness acquired in the United States – major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, v. 17, p. 7 - 15, 2011.

SHLAES, D.M.; GERDING, D.N.; JOHN, J.F.; CRAIG, W.A.; BORNSTEIN, D.L.; DUNCAN, R.A.; ECKMAN, M.R.; FARRER, W.E.; GREENE, W.H.; LORIAN, V.; LEVY, S.; MCGOWAN, J.E.; PAUL, S.M.; RUSKIN, J.; TENOVER, F.C.; WATANAKUNAKORN, C. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 18, p. 275-291, 1997.

SIMÕES, C. C.; ARAÚJO, D. B.; ARAÚJO, R. P. C. Estudo *in vitro* e *ex vivo* da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos micro-organismos presentes na saliva de humanos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, p. 84-89, 2008.

SOLA, M.C.; OLIVEIRA, A.P.; FEISTEL, J.C.; REZENDE, C.S.M. Mecanismos de quorum sensing e sua relevância na microbiologia de alimentos. *Enciclopédia biosfera*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.8, p. 1409-1441, 2012.

SUWALAK, S.; VORAVUTHIKUNCHAI, S.P. Morphological and ultrastructural changes in the cell structure of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 following treatment with *Quercus infectoria* nut galls. *Journal of Electron Microscopy*, v. 58, n.5, p. 315-320, 2009.

STANLEY, N.R.; LAZAZZERA, B.A. Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation. *Molecular Microbiology*, v., 52, p. 917-924, 2004.

TIVERON, A.P.; ROSALEN, P.L.; FRANCHIN, M.; LACERDA, R.C.C.; BUENO-SILVA, B.; BENSO, B.; DENNY, C.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M. Chemical characterization and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of south Brazilian organic propolis. *Plos One*, v. 11, p. 1-18, 2016.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. Microbiologia. 5ª edição. São Paulo: Atheneu, 2008.

TRANter, H.S. Foodborne staphylococcal illness. *The Lancet*, v. 336, p. 1044-1046, 1990.

- VASUDEVAN, P.; NAIR, M.K.M.; ANNAMALAI, T.; VENKITANARAYANAN, K.S. Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. *Veterinary Microbiology*, v. 92, n. 1-2, p. 179-185, 2003.
- VETTER, R. S.; VISSCHER, P. K.; CAMAZINE, S. Mass envenomations by honey bees and wasps. *Western Journal of Medicine*, v. 170, p. 223-227, 1999.
- WANG, K.; LI, Y.; XIA, Y.; LIU, C. Research on peptide toxins with antimicrobial activities. *Annals of Pharmacology and Pharmaceutics*, v. 1, n. 2, p. 1-8, 2016.
- WERTHEIM, H.F.; MELLES, D.C.; VOS, M.C.; VAN LEEUWEN, W.; VAN BELKUM, A.; VERBRUGH, H.A.; NOUWEN, J.L. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 5, p. 751-762, 2005
- WIESE, H. Apicultura novos tempos. Guaíba: Agropecuária, 2000. 424 p.
- WOISKY, R.G., SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, v. 37, p. 99-105, 1998.
- WOJTYCZKA, R.D.; DZIEDZIC, A.; IDZIK, D.; KĘPA, M.; KUBINA, R.; KABAŁA-DZIK, A.; SMOLEŃ-DZIRBA, J.; STOJKO, J.; SAJEWICZ, M.; WASIK, T.J. Susceptibility of *Staphylococcus aureus* clinical isolates to propolis extract alone or in combination with antimicrobial drugs. *Molecules*, v. 18, p. 9623-9640, 2013.
- YEUNG, A.T.Y.; GELLATLY, S.L.; HANCOCK, R.E.W. Multifunctional cationic host defence peptides and their clinical applications. *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 68, p. 2161-2176, 2011.
- ZHOU, J.; ZHAO, J.; ZHANG, S.; SHEN, J.; QI, Y.; XUE, X.; LI, Y.; WU, L.; ZHANG, J.; CHEN, F.; CHEN, L. Quantification of melittin and apamin in bee venom lyophilized powder from *Apis mellifera* by liquid chromatography–diode array detector–tandem mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, v. 404, p. 171-178, 2010.