

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
Dissertação será
disponibilizado somente a
partir de 10/02/2026.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências – Campus de Botucatu



EMILLY CAMARGO LOPES

EFEITO DA GEOPRÓPOLIS E DO ÁCIDO ANACÁRDICO
EM *Staphylococcus epidermidis* MULTIRRESISTENTES
E MODULAÇÃO DA ATIVIDADE DE MACRÓFAGOS SUPRIMIDOS

BOTUCATU-SP
2025



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências – Campus de Botucatu



EMILLY CAMARGO LOPES

**EFEITO DA GEOPRÓPOLIS E DO ÁCIDO ANACÁRDICO
EM *Staphylococcus epidermidis* MULTIRRESISTENTES
E MODULAÇÃO DA ATIVIDADE DE MACRÓFAGOS SUPRIMIDOS**

Orientador: Prof. Titular José Maurício Sforcin

Co-orientador: Dr. Nicolas Ripari

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu, para realização obtenção do título de Mestre.

**BOTUCATU-SP
2025**

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

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Lopes, Emilly Camargo.

Efeito da geoprópolis e do ácido anacárdico em
Staphylococcus epidermidis multirresistentes e modulação da
atividade de macrófagos suprimidos / Emilly Camargo Lopes.
- Botucatu, 2025

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: José Maurício Sforcin

Coorientador: Nicolas Ripari

Capes: 20100000

1. Ácido fenólico. 2. Geoprópolis. 3. Macrófagos. 4.
Staphylococcus epidermidis.

Palavras-chave: Ácido anacárdico; Geoprópolis; Macrófago;
Staphylococcus epidermidis.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

O trabalho avança no conhecimento básico sobre a geoprópolis produzida por meliponíneos, um de seus constituintes isolados e suas propriedades antibacteriana e imunomoduladora.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The work advances in the basic knowledge about geopropolis produced by meliponines, one of its isolated constituents and its antibacterial and immunomodulatory properties.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE EMILLY CAMARGO LOPES, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA GERAL E APLICADA, DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 10 dias do mês de fevereiro do ano de 2025, às 14h, no(a) Anfiteatro 2 da Pós-Graduação., realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de EMILLY CAMARGO LOPES, intitulada **Efeito da geoprópolis e do ácido anacárdico em *Staphylococcus epidermidis* multirresistentes e modulação da atividade de macrófagos suprimidos**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. JOSÉ MAURICIO SFORCIN (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Ciências Químicas e Biológicas / Instituto de Biociências do Câmpus de Botucatu da Unesp, Profa. Dra. KAREN INGRID TASCA (Participação Presencial) do(a) Depto. de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico Por Imagem e Radioterapia / FM/Botucatu - Unesp, Prof. Dr. JESÚS EFRAIN ALDAY NORIEGA (Participação Virtual) do(a) CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS / UNIVERSIDAD DE SONORA, MÉXICO. Após a exposição pela mestranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.



Prof. Dr. JOSÉ MAURICIO SFORCIN

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer a Deus, pela força, sabedoria e serenidade que me acompanharam ao longo de toda esta jornada. Sem a Sua luz, nada disso teria sido possível.

Agradeço ao meu orientador, Professor José Maurício Sforcin, pela orientação, paciência, confiança depositada em mim e por sempre me desafiar a ir além. Suas valiosas contribuições e seu apoio foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Sou imensamente grata aos meus colegas de laboratório, Mariana, Jônatas, Pedro, Yuri e Arthur, pela colaboração e pela amizade que construímos ao longo dessa caminhada, pelas conversas e pelo apoio técnico. Compartilhamos momentos de aprendizado, dificuldades e vitórias, que fizeram dessa jornada um processo ainda mais enriquecedor. Foram momentos de aprendizado e descontração que tornaram os desafios mais leves.

À toda minha família, meu mais sincero agradecimento. Aos meus pais, Elaine e Antonio, pela educação, pelo amor e pela constante motivação. Vocês são minha base, minha inspiração e o alicerce de tudo que sou, meus exemplos de perseverança e amor. Sempre me incentivaram a lutar pelos meus sonhos e, por isso, sou grata todos os dias. Agradeço por estarem ao meu lado, sempre acreditando em mim.

Ao meu namorado, Iranildo, muito obrigada. Pelo amor, carinho, paciência e apoio incondicional. Você foi meu porto seguro durante todo o processo, para que eu pudesse atravessar essa fase com mais tranquilidade. Você foi minha força e sou imensamente grata por ter você na minha vida

Agradeço aos professores Ary Fernandes Junior e Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha, Instituto de Biociências, UNESP, por cederem seus laboratórios e fornecerem os isolados bacterianos de *S. epidermidis* utilizados neste trabalho.

Também agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de auxílio a pesquisa concedida durante o mestrado (2023-2025). Número do processo: 88887.826902/2023-00.

*“A mente que se abre a uma nova
ideia jamais voltará ao seu tamanho
original”
- Albert Einstein*

RESUMO

A geoprópolis (GEO) é produzida por abelhas sem ferrão e possui compostos bioativos, como o ácido anacárdico (AA), o qual apresenta diferentes atividades biológicas, dentre elas a antimicrobiana. *Staphylococcus epidermidis* é uma bactéria comensal que tem se tornado um problema de saúde pública devido à sua resistência aos antimicrobianos, ocasionando falha terapêutica. Essas bactérias podem causar infecções nosocomiais, que podem ser agravadas em pacientes imunossuprimidos. Neste estudo, foi avaliada a possível ação antibacteriana da GEO produzida por *Melipona fasciculada* Smith e de seu componente isolado, AA, bem como a ação dos tratamentos em associação com antibióticos, tendo como objetivo investigar a ação antibacteriana e imunomoduladora em macrófagos tratados ou não com dexametasona (DEX). Foi avaliada a concentração inibitória mínima (MIC) e bactericida (MBC) da GEO, do AA e dos antimicrobianos (ceftarolina e gentamicina) isoladamente ou em combinação, para observar uma possível ação sinérgica. O efeito dos tratamentos foi avaliado também na capacidade da bactéria em produzir biofilme. A ação imunomoduladora dos tratamentos foi analisada em células THP-1 diferenciadas em macrófagos suprimidos ou não, avaliando a viabilidade celular, a expressão de TLR-2, de eicosanoides (PGE2 e LTBG4), de citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10) e a atividade bactericida contra *S. epidermidis*. A GEO não apresentou atividade antimicrobiana no modelo analisado. Em comparação com o AA, os antimicrobianos convencionais apresentaram concentração inibitória e bactericida mínima substancialmente mais elevadas. O AA também demonstrou eficácia na inibição de biofilmes bacterianos. O ensaio de *checkerboard* revelou ausência de interação entre AA ceftarolina e antagonismo com gentamicina. O AA não afetou a expressão de TLR-2, mas aumentou a capacidade bactericida dos macrófagos suprimidos ou não com dexametasona e inibiu a produção de IL-10. Pode-se concluir que o AA apresenta ação antibacteriana e imunomoduladora, podendo ser um adjuvante eficaz no tratamento de infecções por *S. epidermidis*.

Palavras-chave: geoprópolis; ácido anacárdico; *Staphylococcus epidermidis*; macrófago; imunossupressão.

Title: Effect of geopropolis and anacardic acid on *Staphylococcus epidermidis* multi-resistant and modulation of suppressed-macrophage activity

ABSTRACT

Geopropolis (GEO) is produced by stingless bees and contains bioactive compounds such as anacardic acid (AA), which exhibit various biological activities, including the antimicrobial one. *Staphylococcus epidermidis* is a commensal bacterium that has become a public health issue due to its resistance to antimicrobials, leading to therapeutic failure. These bacteria may cause nosocomial infections, which can be exacerbated in immunosuppressed patients. In this research, the potential antibacterial action of GEO produced by *Melipona fasciculata* Smith and its isolated compound, AA, was evaluated, as well as the combination of the treatments with antibiotics, aiming at investigating their antibacterial and immunomodulatory in macrophages treated or not with dexamethasone (DEX). The minimum inhibitory concentration (MIC) and bactericidal (MBC) of GEO, AA, and antibiotics (ceftaroline and gentamicin) was assessed in isolation or in combination to observe a potential synergistic action. The effect of treatments was also evaluated on the bacteria's ability to produce biofilm. The immunomodulatory action of treatments was analyzed in THP-1 cells differentiated into macrophages, whether suppressed or not, by evaluating cell viability, TLR-2 expression, eicosanoids (PGE2 and LTB4) and cytokine (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, and IL-10) production, and the bactericidal activity against *S. epidermidis*. Data revealed that GEO exerted no antibacterial action, while AA showed a significant activity against *S. epidermidis*. In comparison to AA, antimicrobials presented substantially higher minimum inhibitory and bactericidal concentrations. AA was also efficient in inhibiting bacterial biofilms. The checkerboard assay revealed no interaction between AA and ceftaroline, and antagonism with gentamicin. AA did not affect TLR-2 expression but increased the bactericidal capacity of macrophages suppressed or not with dexamethasone, and inhibited IL-10 production. One may conclude that AA exhibits antibacterial and immunomodulatory action and may be an effective adjuvant in the treatment of *S. epidermidis* infections.

Keywords: geopropolis; anacardic acid; *Staphylococcus epidermidis*; macrophage; immunosuppression.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E ENUNCIADO DO PROBLEMA	5
2. OBJETIVOS	13
2.1. Objetivo geral	13
2.2. Objetivos específicos.....	13
3. METODOLOGIA	14
3.1 Obtenção da amostra de geoprópolis	14
3.2 Preparação do extrato hidroalcoólico de geoprópolis e obtenção do ácido anacárdico.....	14
3.3 Teste de suscetibilidade antimicrobiana por microdiluição em caldo	14
3.4 Sinergismo entre AA e antimicrobianos pelo método de <i>checkerboard</i>	15
3.5 Atividade antibiofilme do AA.....	16
3.6 Cultura de células THP-1, diferenciação em macrófagos e protocolos experimentais	16
3.7 Viabilidade celular	16
3.8 Expressão de TLR-2.....	18
3.9 Determinação da produção de citocinas e eicosanoides	18
3.10 <i>Killing</i> de <i>S. epidermidis</i> por macrófagos.....	19
3.11 Análise estatística	19
4. RESULTADOS	20
4.1 Concentração inibitória/bactericida mínima (MIC/MBC).....	20
4.2 <i>Checkerboard</i>	21
4.3 Capacidade antibiofilme do ácido anacárdico	22
4.4 Viabilidade celular de macrófagos	22
4.5 Expressão de TLR-2.....	23
4.6 Produção de eicosanoides.....	24
4.7 Produção de citocinas.....	25
4.8 Atividade bactericida dos macrófagos.....	28
5. DISCUSSÃO	29
6. CONCLUSÃO	34
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1. INTRODUÇÃO E ENUNCIADO DO PROBLEMA

A pele e a mucosa possuem uma microbiota diversificada, sendo a bactéria mais prevalente *Staphylococcus epidermidis*, considerada um organismo comensal, importante para o controle da colonização por bactérias virulentas. Esta bactéria pertence ao grupo coagulase-negativo e a sua virulência é menor em comparação ao grupo coagulase-positivo, como por exemplo *Staphylococcus aureus* (KLEINSCHMIDT et al., 2015). Porém, nos últimos anos, se tornou um patógeno de importância médica, por ser a principal bactéria causadora de infecções associadas a implantes e marca-passo cardíaco, sendo responsável por 30 a 40% dos quadros de bacteremia nosocomial, que normalmente ocorre após um biofilme formado em um acesso se disseminar para a circulação sanguínea, sendo comumente isolada em hemocultura. A infecção causada por *S. epidermidis* é grave e de difícil tratamento, o que pode culminar em sepse e choque séptico, especialmente em neonatos e pacientes imunocomprometidos (ASAI et al., 2021; SEVERN; HORSWILL, 2023).

Os *Staphylococcus* coagulase-negativa (SCN) são de complexa patogênese devido à produção de fatores de virulência, como o biofilme e produção de toxinas, que contribuem para a destruição de tecidos e estimulam respostas inflamatórias, com a produção de interferon-gama (IFN- γ), interleucina (IL)-1, IL-2, e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (PEREIRA et al., 2018). Ademais, as cepas nosocomiais de *S. epidermidis* apresentam grande prevalência de multirresistência, tornando limitadas as opções terapêuticas (KLEINSCHMIDT et al., 2015). A resistência bacteriana pode surgir devido ao uso excessivo de antimicrobianos e à transferência de genes envolvidos em fatores de resistência entre as bactérias. Esse fenômeno se torna um grave problema de saúde pública, pois reduz as opções de tratamentos eficazes para infecções causadas por bactérias resistentes. Isto pode aumentar a mortalidade entre os indivíduos afetados (COOPER; SHLAES, 2011; DE OLIVEIRA; DE PAULA; ROCHA, 2015; AGUIRRE et al., 2020). Estima-se que até 2050 mais de 10 milhões de pacientes irão a óbito devido a infecções por bactérias resistentes, causando mais mortes do que o câncer e doenças cardiovasculares (O'NEILL, 2014).

O gene *mecA* é um dos fatores de resistência de *S. epidermidis* responsável pela codificação da proteína de ligação à penicilina (PBP)2A. As PBPs são enzimas

responsáveis pelo *cross-linking* da camada peptidoglicana da parede bacteriana e recebe este nome por terem sua ação bloqueada pelas penicilinas. No entanto, a PBP2A apresenta baixa afinidade por penicilinas, conferindo resistência aos beta-lactâmicos, como cefalosporinas (PEREIRA; CUNHA, 2013; PINHEIRO et al., 2016). As cepas portadoras deste gene suscitaram o uso da vancomicina, a qual apresentou eficiência, porém com notável toxicidade, sendo necessário monitorar o tratamento, devido à ocorrência de nefrotoxicidade ou ototoxicidade em alguns pacientes (KLEINSCHMIDT et al., 2015).

S. epidermidis também apresenta variedades de outros genes de resistência a antibióticos, muitos dos quais estão localizados em elementos genéticos móveis. A resistência à meticilina, que anteriormente era o fármaco de escolha para tratar infecções causadas por estafilococos, é frequentemente adquirida por meio do gene *mecA*. Esse gene está contido em uma ilha genômica móvel conhecida como cassette cromossômico estafilocócico *mec* (SCC *mec*), sendo especialmente prevalente em cepas de *S. epidermidis* encontradas em ambientes hospitalares. Além disso, a resistência à meticilina está frequentemente associada à resistência a outros tipos de antibióticos, tendo sido registrados casos de resistência a todas as classes de antibióticos em *S. epidermidis* (SEVERN; HORSWILL, 2023), tanto pela expressão de *mecA*, como de outros genes.

Suspeita-se que *S. epidermidis* e outros SCN atuem como um reservatório primário para aquisição do SCC *mec* em *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA - na sigla em inglês). Existem evidências de transferência deste e outros elementos genéticos móveis entre estas e outras espécies de estafilococos, como *S. aureus* e *S. epidermidis*. A preocupação se intensifica devido aos níveis elevados de resistência a antibióticos e à presença de genes de virulência compartilhados entre MRSA e *S. epidermidis* resistente à meticilina (MRSE - na sigla em inglês). Essa situação representa uma ameaça constante à saúde coletiva e aos resultados do tratamento de infecções, uma vez que as opções de tratamento eficazes são limitadas periodicamente (MÉRIC et al., 2015).

Outro fator que contribui para a virulência e resistência a antibióticos é sua capacidade de formar biofilme, que ocorre devido à aderência da bactéria a superfícies através de suas estruturas adesivas e produção de uma matriz extracelular contendo polissacarídeos. Estão relacionados aos quadros de infecções crônicas por sua

capacidade de crescimento em superfícies bióticas ou abióticas, como os dispositivos médicos (HOIBY et al., 2011; BJARNSHOLT et al., 2013). Sua formação está relacionada ao aumento da incidência de bactérias patogênicas multirresistentes em pacientes sob tratamentos antimicrobianos convencionais (FRIERI; KUMAR; BOUTIN, 2017). O biofilme confere proteção aos agentes ambientais, bem como à resposta imune do hospedeiro, o que torna as bactérias mais resistentes a antibióticos em comparação às bactérias individuais, visto que dificulta a penetração do antibiótico e diminui a fagocitose e ligações de proteínas. Assim, é importante a remoção do mesmo para controle das infecções, evidenciando a necessidade de tratamentos antibiofilme específicos (BJARNSHOLT et al., 2013; FLEMMING et al., 2016; YU et al., 2021).

As bactérias pertencentes ao biofilme são menos suscetíveis aos antibióticos, já que estes poderiam se ligar aos componentes do biofilme, além da alta densidade bacteriana, o que dificulta a sua penetração (PINHEIRO et al., 2014). Assim, a combinação da antibioticoterapia a estratégias que atuem na imunidade do hospedeiro pode ser benéfica no combate aos biofilmes (BJARNSHOLT et al., 2013).

No intuito de contribuir com inovações no tratamento de infecções causadas por bactérias multirresistentes, tivemos a iniciativa de avaliar um produto das abelhas sem ferrão – a geoprópolis, bem como um componente isolado deste produto: o ácido anacárdico.

As abelhas sem ferrão (*Meliponinae*) são produtoras de própolis e geoprópolis (GEO) e podem ser encontradas em regiões subtropicais e tropicais (figura 1). A própolis é um produto elaborado pelas abelhas a partir da coleta de resinas e exudatos das plantas e misturados com secreções glandulares das abelhas. A própolis é utilizada para vedar frestas e embalsamar invasores que eventualmente adentraram e morreram na colmeia, sendo demasiadamente pesados para serem removidos pelas abelhas.

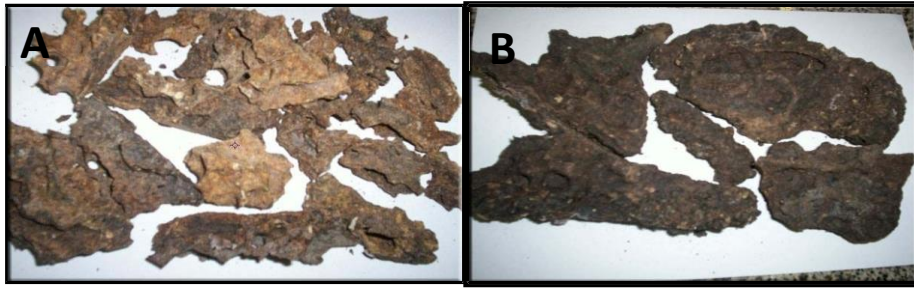


Figura 1. Própolis produzida por *Scaptotrigona* aff. *postica* (A) e geoprópolis produzida por *Melipona fasciculata* (B). Foto: Abigail Araújo.

A GEO, por sua vez, é um produto similar, mas, curiosamente, as abelhas adicionam terra, barro e outros elementos ao material obtido das plantas. Isto deve-se ao fato de que os meliponíneos voam menores distâncias da colmeia e muitas vezes coletam os materiais facilmente encontrados para elaboração da GEO. Os meliponíneos geralmente não apresentam preferência por espécies vegetais para produzir a GEO, diferentemente das abelhas africanizadas, que são mais seletivas nesse aspecto. A GEO é uma fonte importante de compostos bioativos, sendo produzida a partir de resinas vegetais, secreções salivares e cera. Este material é utilizado nas colmeias para selar pequenas frestas, controlar a passagem de ar e entrada de água, atuando também como agente antimicrobiano (VENTURIERI et al., 2003; BARTH, 2006; ARAÚJO et al., 2015).

Em 2009, demos início aos estudos em nosso laboratório sobre uma amostra de GEO proveniente do Estado do Maranhão, revelando sua ação antimicrobiana, imunomoduladora e citotóxica contra células HEp-2. A amostra foi analisada quimicamente por técnicas cromatográficas, evidenciando que seus principais componentes são AA, lupeol, amirinas, dentre outros (ARAÚJO et al., 2015). Dados do nosso grupo demonstraram seu efeito citotóxico e antiproliferativo sobre linhagens tumorais animais e humanas (CINEGAGLIA et al., 2013; ARAÚJO et al., 2015; BARTOLOMEU et al., 2016) e sobre monócitos humanos (OLIVEIRA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2019). Também foi relatada sua ação antioxidante (DUTRA et al., 2014) e moduladora do perfil de citocinas em camundongos (LIBÉRIO et al., 2011), entre outras propriedades (ABREU et al., 2006; DUAILIBE; GONÇALVES; AHID, 2007). Nosso grupo publicou recentemente um trabalho demonstrando o potencial anti-inflamatório *in vitro* da GEO, analisando células mononucleares do sangue periférico (PBMC) humano (HONORIO et al., 2024).

Dentre os constituintes químicos da geoprópolis, tivemos o interesse em estudar o AA, correspondente a 8,3% da amostra produzida por *Melipona fasciculata* Smith e utilizada neste trabalho. Este ácido é um composto fenólico derivado do ácido salicílico e possui estrutura química que influencia suas atividades biológicas (Figura 2), onde R 9 representa as variações da sua cadeia lateral. O AA apresenta longa cadeia alquílica lateral formada por 2 a 17 carbonos e um anel fenólico ligado a um grupo metila, podendo existir na forma saturada e monoeno, dieno ou trieno (MAMIDYALA et al., 2013; ARAÚJO et al., 2015; HOLLANDS et al., 2016; MORAIS et al., 2017).

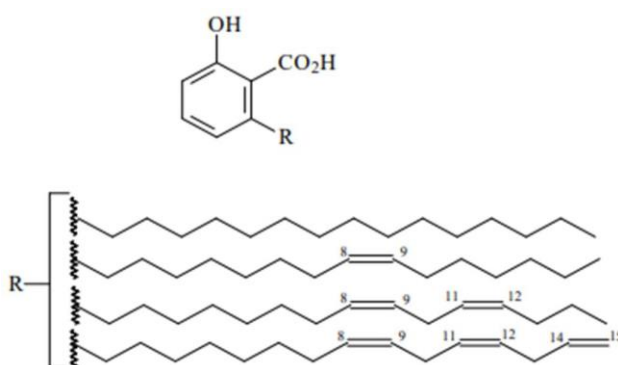


Figura 2. Estrutura química do ácido anacárdico. Fonte: Moraes et al. (2010).

Foi relatado que o AA apresenta atividade gastroprotetora, antitumoral, antioxidante e antimicrobiana (HAMAD; MUBOFU, 2015). Além disso, apresentou efeito inibitório em células eucarióticas e procarióticas, com capacidade de penetrar a bicamada lipídica da membrana bacteriana, causando a ruptura da célula (GREEN et al., 2007; MAMIDYALA et al., 2013). Quanto mais duplas ligações apresentar em sua cadeia lateral, maior é seu efeito antibacteriano (MORAIS et al., 2017). Tais observações despertaram nosso interesse em ampliar as investigações sobre a ação antimicrobiana e imunomoduladora não só da GEO, como também do AA.

Os macrófagos são células essenciais do sistema imune devido à sua capacidade de fagocitose, apresentação de antígenos, produção de mediadores antimicrobianos e secreção de citocinas que podem promover infiltração celular para o sítio infeccioso. Por outro lado, também podem levar a dano tecidual característico de processos inflamatórios, visto que a ativação excessiva de macrófagos pode favorecer o

desenvolvimento de imunopatologias (WALKER et al., 2011; NIKITINA et al., 2018; HUME; IRVINE; PRIDANS, 2019).

Em uma infecção bacteriana, os macrófagos identificam padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs) através de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), como os receptores do tipo Toll (TLRs) (ATRI; GUERFALI; LAOUINI, 2018). Tais receptores reconhecem PAMPs como ácidos nucleicos, proteínas, lipídios, lipoproteínas, entre outros, possuindo um domínio transmembranar e uma região intracitoplasmática para comunicação com moléculas acessórias, desencadeando a sinalização intracelular. As bactérias Gram-positivas são possuem em sua parede celular o ácido teicóico e sua presença é detectada por TLR-2 (TAKEDA; AKIRA, 2005; CHASSIN et al., 2009; WERTS, 2010; MILLER et al., 2019).

As infecções que levam a quadros de sepse podem causar mutações nos TLRs, o que indica que o equilíbrio entre a síntese e liberação de moléculas pró- e anti-inflamatórias determina a gravidade da infecção, lesão e recuperação da sepse. Os TLRs desempenham um papel crucial ao regular a produção de espécies reativas do oxigênio (ROS) e do nitrogênio, a função de macrófagos e leucócitos, e a síntese de eicosanoides, produzidos pelo metabolismo do ácido araquidônico e responsáveis por atrair células envolvidas na imunidade e controlar a diferenciação e sobrevivência celular, influenciando diretamente a inflamação, a resposta imune e a evolução da sepse (TAKEDA; AKIRA, 2005; CHASSIN et al., 2009; WERTS, 2010).

Os eicosanoides exercem papel regulador na produção de várias citocinas e de EROs, a expressão de TLR e ativação da via do NF- κ B (DAS, 2023). Os leucotrienos (LT) desempenham papéis cruciais em resposta às infecções, sendo broncoconstritores, aumentam a hiper-responsividade brônquica, a produção de muco e o edema de mucosa. Constituem uma família de mediadores e o LTB₄, em particular, potencializa a fagocitose, a produção de óxido nítrico por macrófagos e favorece a produção de moléculas antimicrobianas. Além disso, o LTB₄ estimula a produção de citocinas, como TNF α , IL-8 e IL-6, ampliando ainda mais a resposta inflamatória. Dessa forma, o LTB₄ se configura como um mediador essencial na resposta imune aos estímulos inflamatórios (VICENT et al., 2017). As prostaglandinas (PG) também desempenham papel fundamental na geração da resposta inflamatória. Sua biossíntese é significativamente aumentada no tecido inflamado, contribuindo para o desenvolvimento dos sinais

cardinais de inflamação aguda. As PGs são substrato para formação das diversas PGs com atividade, como PGD₂, PGE₂, PGF₂ α , prostaciclina e também dos tromboxanos (TSUGE et al., 2019).

A sinalização por TLRs em presença de patógenos bacterianos é capaz de ativar o fator de transcrição NF- κ B, culminando na expressão de fatores quimiotáticos e citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , induzindo febre e produção de proteínas de fase aguda no fígado (ACHEK; YESUDHAS; CHOI, 2016; LEE et al., 2016). Quando ativados, os macrófagos podem eliminar os patógenos devido à produção de ROS e à ação de enzimas lisossômicas (WEST et al. 2011; NATHAN; CUNNINGHAM-BUSSEL, 2013; GENG et al., 2015).

As células THP-1 são originárias de uma linhagem celular imortalizada proveniente de um paciente pediátrico com leucemia monocítica aguda, sendo muito utilizada em estudos sobre as funções e mecanismos de monócitos e macrófagos, devido à sua capacidade de mimetizar monócitos humanos e poder se diferenciar em macrófagos após incubação com estímulos apropriados (QIN, 2012; CHANPUT et al., 2014).

Embora haja diversos agentes antimicrobianos utilizados para tratamento e controle de diferentes doenças infecciosas, estudos demonstram os efeitos adversos causados pelos mesmos, como o desenvolvimento da própria resistência antimicrobiana tanto pelo patógeno como pelo hospedeiro (OBEROI et al., 2015). Assim, tem sido crescente o uso de produtos naturais com propriedades medicinais na área da saúde devido à possibilidade de isolar substâncias com maior eficácia e melhor relação custo-benefício, tornando essencial a busca por novos antimicrobianos farmacologicamente eficazes e seguros (FREIRES et al., 2015; NEWMAN; CRAGG, 2016). Neste contexto, os fitoquímicos têm sido considerados uma opção terapêutica promissora em programas de atenção primária à saúde, principalmente em comunidades de baixa renda, devido ao seu fácil acesso e à redução nos gastos com medicamentos, além de acarretar menos efeitos colaterais no organismo. Produtos naturais também têm sido investigados como uma opção para tratamento de doenças com formação de biofilme, já que podem apresentar propriedade antibiofilme (ANTONIO; TESSER; MORETTI-PIRES, 2014; GOMES et al., 2016). Diversas pesquisas têm sido realizadas com produtos naturais de diferentes origens para obtenção de novas substâncias que contribuam para o controle de

infecções, o que impulsionou a descoberta de novos fármacos nos últimos anos (MISHRA; TIWARI, 2011; BROWN; WRIGHT, 2016).

Estudos anteriores possibilitaram a descoberta de substâncias que contribuem com a atividade antimicrobiana, como por exemplo o ácido clavulânico, que pode ser associado às penicilinas e cefalosporinas contra enterobactérias resistentes a β -lactâmicos, atuando como um inibidor da enzima β -lactamase (NEU, 1990; BUSH; BRADFORD, 2016).

Além da problemática ocasionada por bactérias resistentes, a infecção de indivíduos imunocomprometidos pode trazer sério risco a estes pacientes. Por esta razão, incluímos um protocolo de tratamento dos macrófagos com um agente imunossupressor (dexametasona) (EHRCHEN et al., 2019), para aprofundar o conhecimento sobre a atividade imunomoduladora da GEO e de um de seus constituintes, o AA, visando propor novas abordagens terapêuticas contra bactérias multirresistentes em indivíduos imunocomprometidos.

Estudos anteriores do nosso grupo avaliaram a ação da GEO em PBMCs, monócitos e células HEp-2 (BARTOLOMEU et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2019; HONORIO et al., 2024), porém sua ação sobre a atividade de macrófagos, em condições basais e imunossuprimidos, necessita ser elucidada, reforçando a importância deste trabalho. Ademais, a GEO foi menos estudada do que a própolis produzida por *Apis mellifera*, o que também nos motivou a ampliar o conhecimento sobre o seu potencial biológico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, B. V. B. et al. Polifenóis de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith coletado no Cerrado maranhense. *Revista Ciências em Saúde*. v. 8, n. 1, p. 18–24, 2006.
- ACHEK, A.; YESUDHAS, D.; CHOI, S. Toll-like receptors: Promising therapeutic targets for inflammatory diseases. *Archives*. v. 39, p. 1032–1049, 2016.
- AGUIRRE, L. et al. Antimicrobial resistance profile and prevalence of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL), AmpC beta-lactamases and colistin resistance (*mcr*) genes in *Escherichia coli* from swine between 1999 and 2018. *Porcine Health Management*. v. 6, n. 8, p. 1-6, 2020.
- ALBANO, M. et al. Antibacterial and anti-biofilm activities of cinnamaldehyde against *S. epidermidis*. *Microbial Pathogenesis*. v. 126, p. 231-238, 2019.
- ANTONIO, G. D.; TESSER, C. D.; MORETTI-PIRES, R. O. Fitoterapia na Atenção Primária à Saúde. *Revista de Saúde Pública*. v. 48, n. 3, p. 541-553, 2014.
- ARAÚJO, M. J. A. M. et al. The chemical composition and pharmacological activities of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith in Northeast Brazil. *Journal of Molecular Pathophysiology*. v. 4, n. 1, p. 12–20, 2015.
- ASAI, N. et al. Clinical characteristics and relevance of coagulase-negative Staphylococci other than *S. epidermidis* by positive blood culture. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. v. 54, n. 4, p. 632-638, 2021.
- ATRI, C.; GUERFALI, F. Z.; LAOUINI, D. Role of Human Macrophage Polarization in Inflammation during Infectious Diseases. *International Journal Molecular Sciences*. v. 19, n. 6, p. 1-15, 2018.
- BARTH, O. M. Palynological analysis of geopropolis samples obtained from six species of Meliponinae in the Campus of the Universidade de Ribeirão Preto, USP, Brazil. *Apiacta*. v. 41, p. 71–85, 2006.
- BARTOLOMEU, A. R. et al. Combinatorial effects of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith with anticancer drugs against human laryngeal epidermoid carcinoma (HEp-2) cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. v. 81, p. 48-55, 2016.
- BJARNSHOLT, T. et al. Applying insights from biofilm biology to drug development — can a new approach be developed? *Nature*. v. 12, n. 10, p. 791-808, 2013.
- BROWN, E. D.; WRIGHT, G. D. Antibacterial drug discovery in the resistance era. *Nature*. v. 529, n. 7586, p. 336-343, 2016.
- BUSH, K.; BRADFORD, P. A. β -Lactams and β -lactamase inhibitors: an overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, v. 6, n. 8, p. a025247, 2016.
- CHANPUT, W. et al. THP-1 cell line: an in vitro cell model for immune modulation approach. *International Immunopharmacology*. v. 23, n. 1, p. 37–45, 2014.
- CHASSIN, C. et al. TLR4- and TLR2-mediated B cell responses control the clearance of the bacterial pathogen, *Leptospira interrogans*. *The Journal of Immunology*. v. 183, n. 4, p. 2669-2677, 2009.
- CHOI, J. H. et al. Inhibitor κ B and Nuclear Factor κ B in Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor Antagonism of Dexamethasone Suppression of the Macrophage Response to *Aspergillus fumigatus* Conidia. *The Journal of Infectious Diseases*. v. 193, n. 7, p. 1023-1028, 2006.
- CINEGAGLIA, N. C. et al. Cytotoxic action of Brazilian propolis in vitro on canine osteosarcoma cells. *Phytotherapy Research*. v. 27, n. 9, p. 1277-1281, 2013.
- CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 33rd ed.; CLSI Supplement M100, 2023.
- COOPER, M. A.; SHLAES, D. Fix the antibiotics pipeline. *Nature*. v. 472, n. 32, 2011.
- CUNHA, M. G. et al. Antimicrobial and antiproliferative activities of stingless bee *Melipona scutellaris* geopropolis. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. v. 13, n. 23, p.1-9, 2013.
- DAS, U. N. Infection, Inflammation, and Immunity in Sepsis. *Biomolecules*. v. 13, n. 19, p. 1-15, 2023
- DE OLIVEIRA, A. C.; DE PAULA, A. O.; ROCHA, R. F. Costs of antimicrobial treatment in patients

- with infection. *Avances en Enfermeria*. v. 33, n. 3, p. 351-361, 2015.
- DUAILIBE, S. A. C.; GONÇALVES, A. G.; AHID, F. J. M. Effect of a propolis extract on *Streptococcus mutans* counts in vivo. *Journal of Applied Oral Science*. v. 15, n. 5, p. 420–423, 2007.
- DUBOIS, J., DUBOIS, M. Levonadifloxacin (WCK 771) exerts potent intracellular activity against *Staphylococcus aureus* in THP-1 monocytes at clinically relevant concentrations. *Journal of Medical Microbiology*, v. 68, n. 12, p. 1716-1722, 2019.
- DUTRA, R. P. et al. Phenolic acids, hydrolyzable tannins, and antioxidant activity of geopropolis from the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 62, n. 12, p. 2549-2557, 2014.
- EHRCHEN, J. M. et al. More Than Suppression: Glucocorticoid Action on Monocytes and Macrophages. *Frontiers in Immunology*. v. 10, p. 1-16, 2019
- FLEMMING, H. C. et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*. v. 14, n. 9, p. 563-575, 2016.
- FREIRES, A. et al. Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: A systematic review. *Molecules*. v. 20, n. 4, p. 7329-7358, 2015.
- FRIERI, M.; KUMAR, K.; BOUTIN, A. Antibiotic resistance. *Journal of Infection and Public Health*. v. 10, n. 4, p. 369-378, 2017.
- GENG, J. et al. Kinases Mst1 and Mst2 positively regulate phagocytic induction of reactive oxygen species and bactericidal activity. *Nature Immunology*. v. 16, n. 11, p. 1142–1152, 2015.
- GOMES C. E. B. et al. Clinical effect of a mouthwash containing *Anacardium occidentale* Linn. On plaque and gingivitis control: a randomized controlled trial. *Indian Journal Dental Research*. v. 27, n. 4, p. 364–369, 2016.
- GOODWINE, J. et al. Pyruvate-depleting conditions induce biofilm dispersion and enhance the efficacy of antibiotics in killing biofilms in vitro and in vivo. *Sci Rep*. v. 9, p.1–16, 2019.
- GREEN I. R. et al. Molecular design of anti-MRSA agents based on the anacardic acid scaffold. *Bioorganical Medical Chemistry*. v. 15, n. 18, p. 6236–6241, 2007.
- HAMAD, F.; MUBOFU, E. Potential biological applications of bio-based anacardic acids and their derivatives. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 16, n. 4, p. 8569–8590, 2015.
- HERNANDES, R. T. et al. Dissection of the role of pili and type 2 and 3 secretion systems in adherence and biofilm formation of an atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strain. *Infection and Immunity*. v. 81, n. 10, p. 3793-3802, 2013.
- HOIBY, N. et al. The clinical impact of bacterial biofilm. *International Journal of Oral Science*. v. 3, n. 2, p. 55-65, 2011.
- HOLLANDS, A. et al. Natural product anacardic acid from cashew nut shells stimulates neutrophil extracellular TRAP production and bactericidal activity. *Journal of Biological Chemistry*. v. 291, n. 27, p. 13964-13973, 2016.
- HONORIO, M. S. et al. Anti-inflammatory action of geopropolis produced by stingless bees on human peripheral blood mononuclear cells. *Human Immunology*, v. 85, n. 4, 2024.
- HUME, D. A.; IRVINE, K. M.; PRIDANS, C. The mononuclear phagocyte system: the relationship between monocytes and macrophages. *Trends in Immunology*. v. 40, n. 2, p. 98–112, 2019.
- KLEINSCHMIDT, S. et al. *Staphylococcus epidermidis* as a cause of bacteremia. *Future Microbiology*. v. 10, n. 11, p. 1859-1879, 2015.
- LEE, W. S. et al. Cnidilide, an alkylphthalide isolated from the roots of *Cnidium officinale*, suppresses LPS-induced NO, PGE2, IL-1 β , IL-6 and TNF- α production by AP-1 and NF- κ B inactivation in RAW 264.7 macrophages. *International Immunopharmacology*. v. 40, p. 146–155, 2016.
- LIBÉRIO, S. A. et al. Antimicrobial activity against oral pathogens and immunomodulatory effects and toxicity of geopropolis produced by the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. *BMC Complementary Medicine and Therapies* . v. 11, n. 108, p. 1-10, 2011.
- MAMIDYALA S.K. et al. Efficient synthesis of anacardic acid analogues and their antibacterial activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. v. 23, n. 6, p. 1667-1670, 2013.
- MENG, A. et al. Additive Suppression of LPS-Induced IL-10 and TNF- α by Pre-treatment of

- Dexamethasone and SB203580 in a Murine Alveolar Macrophage Cell Line (MH-S). *Inflammation*. v. 38, n. 3, p. 1260-1266, 2015.
- MÉRIC, G. et al. Ecological Overlap and Horizontal Gene Transfer in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Genome Biology and Evolution*. v. 7, n. 5, p. 1313-1328, 2015.
- MILLER, F.C. et al. Targets of Immunomodulation in Bacterial Endophthalmitis. *Progress in Retinal and Eye Research*. v. 73, 2019
- MISHRA, B. B.; TIWARI, V. K. Natural products: an evolving role in future drug discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry*. v. 46, n. 10, p. 4769-4807, 2011.
- MORAIS, S. M. et al. Anacardic acid constituents from cashew nut shell liquid: NMR characterization and the effect of unsaturation on its biological activities. *Pharmaceuticals* v. 10, n. 1, p. 1–10, 2017.
- MORAIS, T. C. et al. Protective effect of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale*) on ethanol-induced gastric damage in mice. *Chemico-Biological Interactions*. v. 183, n. 1, p. 264-269, 2010.
- MORRISSEY, I. et al. A review of ten years of the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) from 2002 to 2011. *Pharmaceuticals (Basel)*. v. 6, n. 11, p. 1335–1346, 2013.
- NATHAN, C.; CUNNINGHAM-BUSSEL, A. Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. *Nature Reviews Immunology*. v. 13, n. 5, p. 349-361, 2013.
- NEU, H. C. β -lactamases, β -lactamase inhibitors, and skin and skin-structure infections. *Journal of the American Academy of Dermatology*. v. 22, n. 5, p. 896–904, 1990.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*. v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.
- NIKITINA, E. et al. Monocytes and macrophages as viral targets and reservoirs. *International Journal of Molecular Sciences*. v. 19, n. 9, p. 1-25, 2018.
- OBEROI, S. S. et al. Antibiotics in dental practice: How justified are we. *International Dental Journal*. v. 65, n. 1, p. 4-10, 2015.
- ODDS, F. C. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. *J Antimicrob Chemother*. v. 52, n. 1, p. 1, 2003.
- OLIVEIRA, L. P. G. et al. Immunomodulatory / inflammatory effects of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith in combination with doxorubicin on THP-1 cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. v. 68, n. 12, p.1551- 1558, 2016.
- OLIVEIRA, L. P. G. et al. A new chemotherapeutic approach using doxorubicin simultaneously with geopropolis favoring monocyte functions. *Life Sciences*. v. 217, n. 15, p. 81-90, 2019
- O'NEILL, J. *Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations*. London: Review on Antimicrobial Resistance. 2014.
- OUWEHAND, A.C. et al. *Lactobacillus acidophilus* supplementation in human subjects and their resistance to enterotoxigenic *Escherichia coli* infection. *British Journal of Nutrition*. v. 111, n. 3, p. 465-473. 2014.
- PAWLIK, A. et. al. Association of cytokine gene polymorphisms and the release of cytokines from peripheral blood mononuclear cells treated with methotrexate and dexamethasone. *International Immunopharmacology*. v. 6, n. 3, p. 351-357, 2006.
- PEREIRA, V. C.; CUNHA, M. L. R. S. Coagulase-negative staphylococci strains resistant to oxacillin isolated from neonatal blood cultures. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 108, n. 7, p. 939-942, 2013.
- PEREIRA, V. C. et al. Expression of superantigens and the agr system in *Staphylococcus epidermidis*. *Microbial Pathogenesis*. v. 115, p. 19-24, 2018.
- PILLAI, S. K; MOELLERING, R. C.; ELIOPOULOS, G. M. Antimicrobial combinations. In: *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 5th ed. Baltimore: Lippincott Williams & amp; Wilkins, p. 365–440, 2005.
- PINHEIRO, L. et al. Reduced susceptibility to vancomycin and biofilm formation in methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolated from blood cultures. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. v. 109, n. 7, p. 871-878, 2014
- PINHEIRO, L. et al. Susceptibility Profile of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus* Isolated from Blood Cultures to Vancomycin and Novel Antimicrobial Drugs over

- a Period of 12 Years. *Microbial Drug Resistance*. v. 22, n. 4, p. 283-293, 2016.
- QIN, L. et al. Toxin Mediates Sepsis Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus epidermidis*. *PLoS Pathogens*. v. 13, n. 2, p. 1-16, 2017.
- QIN, Z. The use of THP-1 cells as a model for mimicking the function and regulation of monocytes and macrophages in the vasculature. *Atherosclerosis*. v. 221, n. 1, p. 2–11, 2012.
- SAJEEVAN, S. E. et al. Impregnation of catheters with anacardic acid from cashew nut shell prevents *Staphylococcus aureus* biofilm development. *Journal of Applied Microbiology*. v. 125, n. 5, p. 1227-1568, 2018.
- SCHWARZ, S. et al. Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 65, p. 601-604, 2010.
- SEVERN, M. M.; HORSWILL, A. R. *Staphylococcus epidermidis* and its dual lifestyle in skin health and infection. *Nature Reviews Microbiology*. v. 21, n. 2, p. 97-111, 2023.
- SOUZA, N. O. et al, Physicochemical and microbiological assessment of a dental adhesive doped with cashew nut shell liquid. *Odontology*. v. 110, n. 3, p. 434-443, 2022.
- STEPANOVIC, S. et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*. v. 115, n. 8, p. 891–899, 2007.
- TANABE, R. H. et al. Characterization of uropathogenic *Escherichia coli* reveals hybrid isolates of uropathogenic and diarrheagenic UPEC/DEC) *E. coli*. *Microorganisms*. v. 10, p. 1-15, 2022.
- TAKEDA, K.; AKIRA, S. Toll-like receptors in innate immunity. *International Immunology*. v. 17, n. 1, p. 1–14, 2005.
- TREVISAN M.T. et. al. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. *Food and Chemical Toxicology*. v. 44, n. 2, p. 188–197, 2006.
- TSUGE, K et al. Molecular mechanisms underlying prostaglandin E2-exacerbated inflammation and immune diseases. *International Immunology*. v. 31, n. 9, p. 597-606, 2019
- VENTURIERI, G. C. et al. Avaliação da introdução da criação racional de *Melipona fasciculata* (Apidae, Meliponinae), entre os agricultores familiares de Bragança, PA, Brasil. *Biotropica*. v. 3, n. 2, p. 1–7, 2003.
- VICENT, W. J. B. et al. Neutrophil derived LTB4 induces macrophage aggregation in response to encapsulated *Streptococcus iniae* infection. *PLoS One*. v. 12, n. 6, 2017.
- WALKER, J. et al. Lipoxin a4 increases survival by decreasing systemic inflammation and bacterial load in sepsis. *Shock*. v. 36, n. 4, p. 410 – 416, 2011.
- WERTS, C. Leptospirosis: a Toll road from B lymphocytes. *Chang Gung Medical*. v. 33, n. 6, p. 591-601, 2010.
- WEST, A. P. et al. TLR signalling augments macrophage bactericidal activity through mitochondrial ROS. *Nature*. v. 472, n. 7344, p. 476–480, 2011.
- YANG, M. et al. Role of Interleukin-33 in *Staphylococcus epidermidis*-Induced Septicemia. *Frontiers in Immunology*. v. 11, p. 1-12, 2020.
- YU, H. et al. *Escherichia coli* biofilm: architecture, regulation, and eradication strategies. *Applied Microbiology and Biotechnology*. v. 105, n. 3, p. 899-913, 2021.