



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS DE IMPERATRIZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E TECNOLOGIA

JEFERSON NOSLEN CASARIN

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE UMA BEBIDA DO TIPO
KOMBUCHA A BASE PRÓPOLIS VERMELHA AMAZÔNICA E MEL DE TIÚBA *in*
vitro E *in vivo*

IMPERATRIZ, MA

2026

JEFERSON NOSLEN CASARIN

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE UMA BEBIDA DO TIPO
KOMBUCHA A BASE PRÓPOLIS VERMELHA AMAZÔNICA E MEL DE TIÚBA *in*
vitro E *in vivo*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde e Tecnologia. Área de concentração: Saúde e Tecnologia. Linha de Pesquisa: Tecnologias em Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Cristina Gonçalves Maciel

Coorientador: Prof. Dr. Aramys Silva dos Reis

IMPERATRIZ-MA

2026

Casarin, Jeferson Noslen.

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE UMA BEBIDA DO TIPO KOMBUCHA A BASE PRÓPOLIS VERMELHA AMAZÔNICA E MEL DE TIÚBA in vitro E in vivo / Jeferson Noslen Casarin. - 2026.

69 f.

Coorientador(a) 1: Aramys Silva dos Reis.

Orientador(a): Márcia Cristina Gonçalves Maciel.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Saúde e Tecnologia/ccim, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2026.

1. Sepse. 2. Própolis Vermelha Amazônica. 3. Kombucha. 4. Imunomodulação. I. Maciel, Márcia Cristina Gonçalves. II. Reis, Aramys Silva dos. III. Título.

JEFERSON NOSLEN CASARIN

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE UMA BEBIDA DO TIPO
KOMBUCHA A BASE PRÓPOLIS VERMELHA AMAZÔNICA E MEL DE TIÚBA *in*
vitro E *in vivo*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde e Tecnologia. Área de concentração: Saúde e Tecnologia. Linha de Pesquisa: Tecnologias em Saúde.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente



MARCIA CRISTINA GONCALVES MACIEL

Data: 26/05/2026 18:13:30-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Márcia Cristina Gonçalves Maciel (Orientador)
Universidade de Brasília (UnB)

Documento assinado digitalmente



ARAMYS SILVA DOS REIS

Data: 03/06/2026 18:52:16-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Aramys Silva dos Reis (Coorientador)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Documento assinado digitalmente



BRUNO ARAUJO SERRA PINTO

Data: 29/05/2026 10:37:11-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Bruno Araújo Serra Pinto
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Documento assinado digitalmente



SILVIA RIBEIRO DE SOUZA

Data: 27/05/2026 12:58:23-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Silvia Ribeiro de Sousa
Universidade de Brasília (UNB)

A Ciência, que jamais me desamparou.

Ao menino que assistia O Mundo de Beakman e sonhava ser um cientista.

A minha noiva, meu filho e minha família que sempre me apoiaram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal do Maranhão e ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia, bem como a todos os professores do corpo docente, que contribuíram imensamente para minha formação como mestre, por meio de cada ensinamento.

À minha orientadora, a Professora Dra. Márcia Cristina Gonçalves Maciel, que mostrou que não existe distância, mesmo em Brasília e eu em Imperatriz, esteve sempre presente com reuniões constantes do projeto, seminários semanais e esteve presente em nosso experimento *in vivo* em São Luís onde me auxiliou a todo o momento para que todo o processo desse certo, muito obrigado pela oportunidade, orientação e conhecimentos para desenvolver esse projeto com maior ênfase.

Ao meu coorientador, Professor Dr. Aramys Silva dos Reis, pelos ensinamentos, conhecimento e incentivos para tirar do papel todas as minhas idéias e me incentivar a fundar minha primeiro Startup.

Aos professores participantes da banca examinadora, Dr. Bruno Araújo Serra Pinto e a Dra Silvia Ribeiro de Sousa, meu agradecimento pelo aceite em ser avaliadores.

Ao Laboratório de Fisiopatologia e Investigação Terapêutica (LAFIT), ao Laboratório de Química de Produtos Naturais (LQPN) e ao Laboratório de Química de Alimentos e Análise Sensorial (LQAAS) da Universidade Federal do Maranhão, campus Imperatriz-MA. Também ao Laboratório de Imunofisiologia (LIF) da Universidade Federal do Maranhão, campus São Luís, que graças a estrutura e as equipes que atuam neles fizeram esse projeto sair do papel.

Aos parceiros e amigos dos laboratórios que nas dificuldades e nas correrias para desenvolver esse projeto, estiveram comigo em cada momento e contribuíram com apoio e leveza na jornada até aqui.

E por fim agradecer às agências de fomento CAPES, CNPq, FAPEMA e a rede FITO AMAZÔNIA pelo apoio financeiro.

“A coisa boa que a ciência tem é que é verdade quer você acredite, quer não.”

(Neil deGrasse Tyson)

RESUMO

Bebidas fermentadas de origem vegetal têm se consolidado como alimentos funcionais de alta relevância, sobretudo pela aceitabilidade sensorial e pelo potencial de promoção da saúde. Nesse cenário, a kombucha destaca-se como uma matriz fermentativa versátil, cujos metabólitos bioativos podem ser aumentados pela incorporação de ingredientes com propriedades terapêuticas específicas, como a própolis vermelha amazônica e o mel de tiúba, amplamente reconhecidos na etnomedicina por seus efeitos antioxidantes, antimicrobianos e imunomoduladores. Apesar desse potencial, o efeito sinérgico dessa formulação na modulação da resposta imune em quadros sépticos ainda não havia sido elucidado. Diante disso, este estudo teve como objetivo investigar os efeitos imunomoduladores, antimicrobianos e anti-inflamatórios de uma kombucha desenvolvida a base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba, utilizando ensaios *in vitro* para avaliação de citotoxicidade e produção de óxido nítrico em macrófagos, bem como um modelo *in vivo* de sepse para análise da carga bacteriana, parâmetros hematológicos, perfil de citocinas e fenotipagem imunológica por citometria de fluxo. A dissertação foi delineada em dois capítulos. O capítulo I traz uma revisão integrativa da literatura intitulada “Potencial terapêutico da própolis contra endotoxemia e infecção: propriedades bioativas e evidências *in vivo*”. O trabalho discute os principais mecanismos de ação e métodos analíticos utilizados, com base em publicações selecionadas nas bases MEDLINE (PubMed), Web of Science, Scopus, Science Direct e Embase, onde foi observado que a própolis pode oferecer uma alternativa promissora para a modulação da resposta inflamatória associada à sepse. Seus compostos bioativos demonstraram potencial para reduzir a produção de citocinas pró-inflamatórias e melhorar a sobrevivência em modelos animais. O capítulo II traz o artigo contendo os resultados das análises realizadas durante o desenvolvimento do projeto com o título “Avaliação do potencial imunomodulador, antimicrobiano e anti-inflamatório de uma bebida do tipo kombucha a base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba no tratamento da sepse”, onde foi avaliado a formulação da kombucha que apresentou baixa citotoxicidade e redução significativa da produção de óxido nítrico *in vitro*. E o tratamento *in vivo* diminuiu expressivamente a carga bacteriana peritoneal e a celularidade inflamatória na medula óssea e no peritônio. Os parâmetros hematológicos indicaram redução nos leucócitos e granulócitos segmentados. A bebida aumentou os níveis de IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-10 e IL-17A, elevou linfócitos CD4⁺ e modulou as subpopulações CD4⁺CD3⁻ e CD11c⁺, sugerindo respostas imunes inata e adaptativa balanceadas. A kombucha a base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba demonstrou efeitos imunomoduladores, antimicrobianos e anti-inflamatórios multifatoriais em modelo de sepse, sugerindo seu potencial como terapia adjuvante no controle da sepse.

Palavras-chave: “Sepse” “Imunomodulação” “Própolis vermelha amazônica” “Kombucha”

ABSTRACT

Plant-based fermented beverages have gained relevance as functional foods, particularly due to their sensory acceptance and health-promoting potential. In this context, kombucha stands out as a versatile fermentative matrix, whose bioactive metabolites can be enhanced by the incorporation of ingredients with specific therapeutic properties, such as Amazonian red propolis and *tiúba* honey, both widely recognized in ethnomedicine for their antioxidant, antimicrobial, and immunomodulatory effects. Despite this potential, the synergistic effect of this formulation in modulating immune responses in septic conditions has not yet been elucidated. Therefore, this study aimed to investigate the immunomodulatory, antimicrobial, and anti-inflammatory effects of a kombucha beverage enriched with Amazonian red propolis and *tiúba* honey, using *in vitro* assays to assess cytotoxicity and nitric oxide production in macrophages, as well as an *in vivo* sepsis model to analyze bacterial load, hematological parameters, cytokine profile, and immune phenotyping by flow cytometry. This dissertation was structured into two chapters. Chapter I presents an integrative literature review entitled “Therapeutic Potential of Propolis Against Endotoxemia and infection: Bioactive Properties and *in vivo* Evidence”. The review discusses the main mechanisms of action and analytical approaches reported in studies indexed in MEDLINE (PubMed), Web of Science, Scopus, ScienceDirect, and Embase. The findings indicate that propolis may represent a promising alternative for modulating the inflammatory response associated with sepsis, as its bioactive compounds have shown potential to reduce pro-inflammatory cytokine production and improve survival in animal models. Chapter II presents the original research article entitled “Evaluation of the Immunomodulatory, Antimicrobial, and Anti-inflammatory Potential of a Kombucha Beverage Based on Amazonian Red Propolis and *Tiúba* Honey for the Treatment of Sepsis”, which reports the experimental results obtained throughout the project. The kombucha formulation demonstrated low cytotoxicity and a significant reduction in nitric oxide production *in vitro*. *In vivo* treatment markedly reduced peritoneal bacterial load and inflammatory cellularity in the bone marrow and peritoneal cavity. Hematological analysis indicated a reduction in total leukocytes and segmented granulocytes. Additionally, the beverage increased levels of IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-10, and IL-17A, promoted CD4⁺ lymphocyte expansion, and modulated CD4⁺CD3⁻ and CD11c⁺ subpopulations, suggesting a balanced modulation of innate and adaptive immune responses. Collectively, the findings demonstrate that kombucha enriched with Amazonian red propolis and *tiúba* honey exerts multifactorial immunomodulatory, antimicrobial, and anti-inflammatory effects in a sepsis model, supporting its potential as an adjuvant therapeutic approach for sepsis management.

Keywords: “Sepsis” “Immunomodulation” “Amazonian red propolis” “Kombucha”

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1	Kombucha tradicional.....	20
Figura 2	Própolis vermelha	22
Figura 3	Abelha Tiúba	24

CAPÍTULO I

Figura 1	Fluxograma dos artigos selecionados.....	34
----------	--	----

CAPÍTULO II

Figura 1	Avaliação da viabilidade celular após exposição a diferentes concentrações da bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba.....	54
Figura 2	Efeito da bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba sobre a produção de nitrito 0 horas.....	55
Figura 3	Efeito da bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba sobre a produção de nitrito após 24 horas.....	55
Figura 4	Avaliação dos efeitos da bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba sobre parâmetros hematológicos.....	57
Figura 5	Avaliação dos efeitos da bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba sobre a carga bacteriana em modelo de sepse.....	58
Figura 6	Avaliação dos efeitos da bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba sobre celulares em modelo experimental de sepse.....	58
Figura 7	Perfil de citocinas inflamatórias em modelo experimental de sepse após tratamento com bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba.....	59
Figura 8	Perfil de subpopulações linfocitárias CD3 ⁺ e CD4 ⁺ em modelo experimental de sepse após tratamento com bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba.....	60
Figura 9	Perfil de células CD11c ⁺ em modelo experimental de sepse após tratamento com bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba.....	61

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1	Resumo dos estudos selecionados sobre o potencial terapêutico da própolis em modelos de sepse.....	35
----------	--	----

CAPÍTULO II

Tabela 1	Parâmetros hematológicos em amostras sanguíneas de camundongos	56
----------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ANOVA** – Análise de Variância (Analysis of Variance)
- CAPE** – Éster Fenetílico do Ácido Cafeico (Caffeic Acid Phenethyl Ester)
- CAPES** – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- CEUA** – Comissão de Ética no Uso de Animais
- CFU** – Unidades Formadoras de Colônia (Colony Forming Units)
- CLP** – Ligadura e Punção Cecal – modelo experimental de sepse (Cecal Ligation and Puncture)
- CNPq** – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- DMSO** – Dimetilsulfóxido
- DP** – Desvio Padrão
- DPPH** – 2,2-Difenil-1-Picril-Hidrazil (radical livre usado em ensaio antioxidante)
- EAG** – Equivalente de Ácido Gálico
- EQ** – Equivalente de Quercetina
- ERN** – Espécies Reativas de Nitrogênio
- ERO** – Espécies Reativas de Oxigênio
- FACS** – Classificação de Células Ativada por Fluorescência (Fluorescence-Activated Cell Sorting)
- FAPEMA** – Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão
- HBG** – Hemoglobina
- HCT** – Hematócrito
- IFN- γ** – Interferon Gama
- IL** – Interleucina
- IL-2** – Interleucina 2
- IL-4** – Interleucina 4
- IL-6** – Interleucina 6
- IL-10** – Interleucina 10
- IL-17A** – Interleucina 17A
- KPM** – Kombucha com Própolis Vermelha Amazônica e Mel de Tiúba
- LAFIT** – Laboratório de Fisiopatologia e Investigação Terapêutica
- LIF** – Laboratório de Imunofisiologia
- LPS** – Lipopolissacarídeo

LQPN – Laboratório de Química de Produtos Naturais

MCH – Hemoglobina Corpuscular Média

MCHC – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

MCV – Volume Corpuscular Médio

MTT – Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (ensaio de viabilidade celular)

NO – Óxido Nítrico (Nitric Oxide)

PCT – Plaquetócrito

PDW – Amplitude de Distribuição Plaquetária

PLT – Plaquetas (Platelets)

PRISMA – Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses

RBC – Contagem de Glóbulos Vermelhos (Red Blood Cells)

RDW-CV – Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos – Coeficiente de Variação

RDW-SD – Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos – Desvio Padrão

RPMI – Meio de cultura celular (Roswell Park Memorial Institute)

SFB – Soro Fetal Bovino

SD – Desvio Padrão (Standard Deviation)

SHAM – Grupo Controle Cirúrgico (sem indução de sepse)

SIRT1 – Sirtuin 1 (proteína reguladora celular)

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral Alfa

UFMA – Universidade Federal do Maranhão

WBC – Contagem de Glóbulos Brancos (White Blood Cells)

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	15
2.	OBJETIVO.....	17
2.1	Objetivos Específicos.....	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
3.1	Sepse	17
3.2	Kombucha	19
3.3	Própolis vermelha.....	21
3.4	Mel de tiúba	24
3.5	Aplicações na saúde	25
4	REFERÊNCIAS.....	26
5	CAPÍTULO I.....	30
6	CAPÍTULO II	47
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	69

1. INTRODUÇÃO

A sepse é uma síndrome clínica complexa e potencialmente fatal, resultante de uma resposta imunoinflamatória desregulada do hospedeiro frente a uma infecção, culminando em disfunção orgânica sistêmica e, em casos graves, choque séptico (SINGER et al., 2016; HOTCHKISS et al., 2016; CAO et al., 2023). É reconhecida como uma emergência médica global, com estimativa de 49 milhões de casos e 11 milhões de óbitos anuais, representando aproximadamente 20% de todas as mortes no mundo, com maior impacto em países de baixa e média renda (RUDD et al., 2020; EVANS et al., 2021).

Além da letalidade elevada, a sepse impõe grande sobrecarga econômica aos sistemas de saúde, consequência do aumento da resistência antimicrobiana, longas internações em unidades de terapia intensiva e sequelas físicas, cognitivas e imunológicas persistentes (IWASHYNA et al., 2010; PAOLI et al., 2018). Apesar dos avanços terapêuticos baseados em antibióticos, suporte hemodinâmico e manejo intensivo, a eficácia clínica ainda é limitada, sobretudo frente à emergência de patógenos multirresistentes, tornando urgente a busca por novas estratégias adjuvantes capazes de modular a inflamação e ampliar a resposta imune sem agravar o dano tecidual (TACCONELLI et al., 2018; MOSS et al., 2019).

Diante desse cenário, produtos naturais bioativos com potencial imunomodulador, anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobiano vêm sendo amplamente investigados como terapias complementares no controle da sepse (SHANG et al., 2019). Entre eles, a kombucha se destaca como uma matriz fermentada funcional emergente, tradicionalmente obtida a partir da fermentação de chá adoçado por um consórcio simbiótico de bactérias e leveduras (SCOBY), que bio transforma açúcares em ácidos orgânicos, compostos fenólicos, peptídeos bioativos e metabólitos de alto valor biológico (MENDONÇA et al., 2020; LAUREYS; BRITTON; CLIPPELEER, 2020; SENTHILKUMAR et al., 2026).

Durante a fermentação, enzimas microbianas hidrolisam formas conjugadas e glicosiladas de metabólitos bioativos, liberando compostos em formas agliconas mais facilmente absorvidas pelo organismo, além de gerar novos metabólitos com maior potencial antioxidante e anti-inflamatório, e ainda promover a formação de ácidos acético, glucurônico e glucônico, reconhecidos tanto pela ação detoxificante quanto por efeitos reguladores da imunidade inata (WANG et al., 2021). Evidências experimentais demonstram que a kombucha pode atenuar disfunções imunológicas, modular respostas inflamatórias exacerbadas e impactar positivamente vias associadas ao estresse oxidativo, especialmente quando enriquecida com ingredientes bioativos (SU et al., 2023; WANG et al., 2021).

Entre os ingredientes de elevado potencial biotecnológico e terapêutico, a própolis se destaca como uma resina apícola rica em compostos fenólicos, especialmente flavonoides e isoflavonoides, com atividades antioxidante, anti-inflamatória, imunorreguladora, antiviral, antiparasitária e antimicrobiana (RUFATTO et al., 2017; KORISH; ARAFA, 2011; BERRETTA et al., 2020; DUTRA et al., 2023).

A própolis vermelha amazônica, recentemente caracterizada, apresenta perfil químico singular, especialmente associado a isoflavonoides e outros metabólitos com elevada bioatividade, demonstrando baixa citotoxicidade, capacidade imunomoduladora e ação antimicrobiana contra patógenos de relevância clínica (DUTRA et al., 2023). Estudos in vivo com própolis vermelha evidenciam seu potencial em reduzir citocinas pró-inflamatórias, modular a resposta imune e proteger contra danos sistêmicos induzidos por inflamação exacerbada (ABD-ELRAZEK et al., 2020; ARÁUJO et al., 2011; MACHADO et al., 2012).

Paralelamente, o mel, especialmente o produzido por abelhas sem ferrão do gênero *Melipona* (como o mel de tiúba – *Melipona fasciculata*), reúne propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e imunomoduladoras, associadas à alta concentração de fenólicos, flavonoides e enzimas bioativas (BEZERRA et al., 2023; AHMED et al., 2023; LAVINAS et al., 2025). Além disso, o mel se destaca como substrato fermentativo promissor para kombucha por conter naturalmente monossacarídeos como glicose e frutose, favorecendo a cinética fermentativa e a produção de metabólitos bioativos, além de oferecer menor índice glicêmico comparado à sacarose (BERENBAUM et al., 2021; BANTLE, 2009; SINGH et al., 2018). Evidências sugerem que o mel exerce efeitos bactericidas inclusive contra patógenos resistentes e pode reduzir inflamação sistêmica em modelos experimentais (MANDAL; MANDAL, 2011; TSAVEA et al., 2022; ZHOU et al., 2025).

Embora a kombucha, a própolis e o mel apresentem individualmente propriedades biológicas bem documentadas, a literatura ainda carece de investigações que explorem seus efeitos sinérgicos em uma única matriz fermentada, especialmente voltada ao controle da inflamação sistêmica e resposta imune desregulada em sepse (KOWALSKI; MAKAREWICZ, 2017).

A hipótese deste estudo é de que a fermentação da kombucha desenvolvida à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba potencializa os efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos e imunomoduladores da bebida, configurando uma proposta inovadora de produto funcional com potencial aplicação futura como nutracêutico no manejo de processos inflamatórios sistêmicos. Os resultados obtidos poderão contribuir para o desenvolvimento de novas abordagens biotecnológicas baseadas em produtos fermentados bioativos, além de

fundamentar futuros estudos clínicos destinados à avaliação da segurança, biodisponibilidade e eficácia terapêutica dessa matriz funcional em condições inflamatórias e infecciosas.

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo investigar, de forma inédita, o perfil biológico de uma kombucha funcional formulada com própolis vermelha amazônica e mel de tiúba, avaliando os efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos e imunomoduladores em ensaios *in vitro* e seu impacto em modelo *in vivo* de sepse subletal. Essa dissertação foi delineada em dois capítulos. O Capítulo I apresenta uma revisão integrativa da literatura intitulada “Potencial terapêutico da própolis contra endotoxemia e infecção: propriedades bioativas e evidências *in vivo*”, e o Capítulo II apresenta os resultados do estudo experimental intitulado “*Avaliação do potencial imunomodulador, antimicrobiano e anti-inflamatório de uma bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba no tratamento da sepse*”, no qual foi investigada a bioatividade da formulação de kombucha em ensaios *in vitro* e *in vivo*.

2. OBJETIVO

➤ Investigar a atividade imunomoduladora, antimicrobiana e anti-inflamatória de uma bebida do tipo kombucha a base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba frente o tratamento de uma sepse induzida *in vivo*.

2.1 Objetivos Específicos:

- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* da bebida do tipo kombucha a base de própolis vermelha e mel;
- Investigar o efeito imunomodulador da bebida do tipo kombucha a base de própolis vermelha e mel, no tratamento de uma sepse sub letal induzida *in vivo*;
- Avaliar a atividade antiinflamatória da bebida do tipo kombucha a base de própolis vermelha e mel *in vitro*;
- Observar se a bebida do tipo kombucha a base de própolis vermelha e mel apresentam atividade antimicrobiana durante o tratamento da Sepse *in vivo*;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Sepse

A sepse é definida, segundo o consenso *Sepsis-3*, como uma disfunção orgânica potencialmente fatal causada por uma resposta desregulada do hospedeiro a uma infecção, sendo clinicamente identificada pelo aumento ≥ 2 pontos no escore SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) (SINGER et al., 2016).

A fisiopatologia da sepse é marcada pela perda do equilíbrio imunológico, no qual a resposta inflamatória deixa de ser protetora e torna-se sistêmica e descontrolada, comprometendo mecanismos de defesa, homeostase endotelial e perfusão tecidual (HOTCHKISS; MOLDAWER, 2014). A tempestade imunológica inicial envolve liberação intensa de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IFN- γ , seguida por uma fase compensatória de resposta anti-inflamatória, com aumento de IL-10 e TGF- β , podendo levar a imunossupressão e suscetibilidade secundária a infecções (VAN DER POLL; VAN DE VEERDONK; SCICLUNA, 2021).

Entre os principais mecanismos de lesão estão disfunção endotelial, microtromboses, estresse oxidativo, dano mitocondrial, hipóxia tecidual e apoptose celular, culminando em falência orgânica múltipla, que é a principal causa de mortalidade na sepse (CECCONI et al., 2018). Estima-se que a sepse seja responsável por aproximadamente 49 milhões de casos e 11 milhões de mortes por ano no mundo, representando cerca de 20% de todos os óbitos globais (RUDD et al., 2020). No Brasil, a mortalidade hospitalar associada à sepse permanece elevada, alcançando taxas superiores a 40–55% em Unidades de Terapia Intensiva, valores significativamente superiores aos observados em países de alta renda (MACHADO et al., 2017).

Países de baixa e média renda apresentam maiores taxas de mortalidade, reflexo de barreiras no acesso ao diagnóstico rápido, terapias intensivas e manejo hospitalar adequado, além de maior prevalência de doenças infecciosas e condições de vulnerabilidade (FLEISCHMANN et al., 2016). Além do impacto na mortalidade, a sepse impõe elevado custo aos sistemas de saúde, exigindo longos períodos de internação, tratamentos de alta complexidade e reabilitação contínua, gerando consequências socioeconômicas significativas, incluindo perda de produtividade e sequelas crônicas nos sobreviventes (IWASHYNA et al., 2010).

O manejo clínico da sepse envolve reconhecimento precoce e aplicação de protocolos padronizados, especialmente as diretrizes da *Surviving Sepsis Campaign*, que priorizam diagnóstico rápido e intervenções imediatas para redução da letalidade (EVANS et al., 2021).

A antibioticoterapia empírica precoce é considerada um dos pilares terapêuticos, devendo ser iniciada na primeira hora após suspeita clínica, uma vez que atrasos no uso de antimicrobianos estão diretamente associados ao aumento da mortalidade (KUMAR et al., 2006).

A reposição volêmica e o suporte hemodinâmico, com uso de fluidos intravenosos e vasopressores como norepinefrina, são fundamentais para restaurar a perfusão tecidual e manter a estabilidade circulatória (RHODES et al., 2017).

O controle da fonte infecciosa, por meio de drenagem, desbridamento ou remoção de dispositivos contaminados, é um componente essencial do tratamento, contribuindo diretamente para redução da carga microbiana e melhora clínica do paciente (BOECHAT et al., 2020).

Compostos bioativos derivados de produtos naturais têm sido estudados como moduladores da inflamação e imunorreguladores, destacando-se flavonoides, polifenóis, terpenos e própolis, que podem atuar na redução do estresse oxidativo, modulação de citocinas e proteção endotelial (SHANG et al., 2019).

Modelos experimentais de sepse demonstram que intervenções com produtos naturais podem reduzir citocinas pró-inflamatórias, modular a atividade de macrófagos, diminuir dano tecidual e melhorar a sobrevida, como observado em estudos com própolis, curcumina e compostos fenólicos (FARIAS et al., 2014; LIU et al., 2018).

Apesar dos resultados promissores, a aplicação clínica ainda enfrenta desafios, incluindo variabilidade na composição dos extratos, ausência de padronização de doses, baixa biodisponibilidade de alguns compostos e necessidade de ensaios clínicos robustos que comprovem segurança e eficácia em humanos (REDDY et al., 2020).

3.2 Kombucha

A kombucha é uma bebida fermentada com origem tradicional na Ásia, cuja popularização global ocorreu nas últimas décadas devido ao interesse por alimentos funcionais e processos fermentativos tradicionais; sua difusão envolve tanto circuitos artesanais quanto produção industrial, acompanhando a crescente demanda por bebidas com potencial probiótico e propriedades bioativas (JAYABALAN et al., 2016; MENDONÇA et al., 2020).

A definição corrente descreve a kombucha como o produto resultante da fermentação de uma solução açucarada (tipicamente chá preto ou verde) por um consórcio simbiótico de

bactérias e leveduras agregadas em uma matriz gelatinosa conhecida como SCOBY, que transforma açúcares em etanol e ácidos orgânicos, conferindo à bebida seu perfil sensorial e funcional (JAYABALAN et al., 2008; LAUREYS; BRITTON; CLIPPELEER, 2020).

Figura 1 – Kombucha tradicional



Fonte: Autor 2025

O processo fermentativo da kombucha depende do SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts), comunidade microbiana composta por leveduras (por exemplo, *Saccharomyces*) e bactérias acéticas e lácticas que atuam em sequência ou de forma cooperativa, iniciando a hidrólise da sacarose, fermentação alcoólica e posterior oxidação do etanol em ácidos como o acético (SENTHILKUMAR et al., 2026).

Como substratos, além do chá-preto e chá-verde tradicionais, têm sido utilizadas infusões e substratos alternativos (frutas, sucos, mel) para modular composição química e propriedades sensoriais da bebida, o que amplia as possibilidades de formulação para matrizes regionais e funcionais (MENDONÇA et al., 2020; SU et al., 2023). O processo envolve fases distintas — fermentação inicial predominantemente anaeróbia/alcoólica pelas leveduras seguida de fase aeróbica de oxidação do etanol por bactérias acéticas — e a intensidade de produção de ácidos orgânicos e metabolitos secundários é fortemente influenciada por parâmetros como tempo, temperatura, relação substrato: SCOBY e composição do meio (LAUREYS; BRITTON; CLIPPELEER, 2020; SENTHILKUMAR et al., 2026).

A composição química final da kombucha é complexa e inclui ácidos orgânicos (acético, glucônico, glucurônico), que contribuem para pH ácido, potencial quelante e propriedades detoxificantes; polifenóis e flavonoides derivados do chá e de ingredientes adicionados, que conferem atividade antioxidante; além de vitaminas, minerais e pequenas quantidades de etanol e CO₂ gerados durante a fermentação (JAYABALAN et al., 2008; LAUREYS; BRITTON; CLIPPELEER, 2020). A bebida também contém metabólitos microbianos (peptídeos bioativos, exopolissacarídeos) e uma comunidade viável de microrganismos benéficos que, dependendo da formulação e do tempo de fermentação, podem exercer efeitos probióticos ou moduladores da microbiota (LAAVANYA; SHIRKOLE; BALASUBRAMANIAN, 2021; SENTHILKUMAR et al., 2026).

Evidências experimentais e estudos *in vivo* sugerem que a kombucha possui potencial antioxidante atribuído aos polifenóis e metabólitos formados durante a fermentação, capaz de reduzir marcadores de estresse oxidativo e proteger componentes celulares contra dano oxidativo (FU et al., 2014; LAUREYS; BRITTON; CLIPPELEER, 2020). Estudos também relatam atividade antimicrobiana *in vitro*, atribuída ao pH ácido e a compostos orgânicos produzidos pela microbiota fermentativa, o que pode limitar o crescimento de patógenos oportunistas (AHMED; HIKAL; ABOU-TALEB, 2020). Além disso, há indícios de que a kombucha pode modular a microbiota intestinal e influenciar parâmetros imunológicos, favorecendo respostas anti-inflamatórias e restauradoras em modelos experimentais, embora a heterogeneidade metodológica exija cautela na transposição para humanos (WANG et al., 2021; BUDIARI et al., 2022).

No contexto da sepse, a kombucha pode oferecer múltiplos mecanismos de interesse: atuar no equilíbrio imunológico por meio da modulação de citocinas e células imunes, reduzir o estresse oxidativo por seus compostos antioxidantes e funcionar como veículo para entrega de ingredientes bioativos (por exemplo, extratos de própolis e mel) que exibem propriedades antimicrobianas e imunomoduladoras; assim, a matriz fermentada pode potencializar ações sinérgicas entre micro-organismos e fito/zoocompostos (WANG et al., 2021; SU et al., 2023). Ainda que estudos pré-clínicos apontem efeitos benéficos em modelos inflamatórios e infecciosos, a aplicação direta em sepse clínica exige estudos controlados que esclareçam biodisponibilidade, segurança, dosagem e possíveis interações com terapias convencionais, especialmente em estágios graves da doença (MENDONÇA et al., 2020; KOWALSKI; MAKAREWICZ, 2017)

3.3 Própolis vermelha

A própolis configura-se como um produto resinoso de natureza complexa, resultante da interação simbiótica entre as abelhas e a flora local. Esse produto é sintetizado pelas abelhas a partir da coleta de exsudatos vegetais, processados mediante a incorporação de enzimas salivares e cera, desempenhando funções vitais de vedação, termorregulação e defesa profilática contra patógenos no ambiente da colmeia (BANKOVA; CASTRO; MARCUCCI, 2000).

A própolis vermelha do Nordeste assume uma posição de destaque devido à sua especificidade química intrínseca, intimamente vinculada ao ecossistema de manguezal. Estudos botânicos e fitoquímicos confirmam que a espécie *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) Taub. atua como a principal fonte de resina nessa região, conferindo ao produto propriedades organolépticas e químicas únicas (SILVA et al., 2018). A coloração avermelhada característica dessa variedade é um reflexo direto de um perfil metabólico diversificado, composto por uma complexa rede de pigmentos fenólicos, flavonoides e, notadamente, isoflavonoides e benzofenonas polipreniladas (CCANA-CCAPATINTA et al., 2020). Essa assinatura fitoquímica singular diferencia a própolis vermelha das demais variedades produzidas no país, fundamentando sua elevada bioatividade e consolidando seu potencial de aplicação em frentes farmacológicas e biotecnológicas (CCANA-CCAPATINTA et al., 2020).).

Figura 2 – Própolis vermelha



Fonte: autor 2025

A própolis vermelha é quimicamente caracterizada pela presença marcante de flavonoides e isoflavonoides, como formononetina, biochanina A e vestitol, além de ácidos

fenólicos e seus derivados, compondo um perfil de alta atividade biológica (BELMEHDI et al., 2023; LÓPEZ et al., 2014; SILVA et al., 2018). Também apresenta antocianinas e outros pigmentos fenólicos bioativos, que além de contribuírem para a coloração, exercem papel antioxidante e modulador do estresse celular (ALENCAR et al., 2007). Minerais como zinco, ferro, magnésio e pequenas frações de óleos essenciais e compostos aromáticos também compõem sua matriz, conferindo propriedades farmacológicas multifuncionais (ALENCAR, S. M. et al 2007; RUFATTO et al., 2017).

A própolis vermelha apresenta alto potencial antioxidante, relacionado à sua capacidade de neutralizar espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN), além de ativar vias endógenas de proteção celular, reduzindo danos oxidativos a macromoléculas (FROZZA et al., 2013). Possui ainda ação antimicrobiana de amplo espectro, com eficácia demonstrada contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo cepas multirresistentes, atribuída à interação de seus compostos com membranas bacterianas e modulação de vias de virulência microbiana (RUFATTO et al., 2017). Sua atividade anti-inflamatória envolve inibição da via NF- κ B, redução da expressão de COX-2 e iNOS e modulação da produção de citocinas pró e anti-inflamatórias, exercendo um efeito imunorregulador significativo (DOS SANTOS et al., 2022; SFORCIN, 2016).

Recentemente, uma nova variedade de própolis vermelha foi identificada no Bioma Amazônico, especificamente na região Tocantina, estado do Maranhão. Denominada como própolis vermelha amazônica, essa linhagem distingue-se da variedade nordestina por sua assinatura fitoquímica, tendo a isoflavona calicosina como seu marcador químico característico (DUTRA et al., 2023). Estudos conduzidos por Dutra et al. (2023) revelaram que este produto apresenta um promissor potencial biotecnológico, com destaque para sua atividade leishmanicida contra formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis*, induzindo a morte celular por mecanismos de apoptose. Além da ação antiprotozoária, a literatura reforça o amplo espectro biológico dessa nova variedade, que inclui propriedades antioxidantes e citotóxicas em linhagens tumorais, consolidando-a como uma fonte estratégica para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos (DUTRA et al., 2023).

Estudos experimentais demonstram que a própolis vermelha reduz marcadores inflamatórios, diminui infiltrado celular em tecidos lesionados e melhora parâmetros em modelos infecciosos e inflamatórios sistêmicos, consolidando seu potencial terapêutico em condições de alta complexidade biológica (FARIAS et al., 2014). Como terapia coadjuvante, a própolis tem sido investigada em combinação com antimicrobianos tradicionais,

apresentando efeitos sinérgicos que potencializam a eficiência farmacológica, especialmente em modelos de infecções fúngicas e bacterianas, auxiliando na superação de mecanismos de resistência (BERRETTA et al., 2013).

No contexto da sepse, evidências pré-clínicas sugerem que seus compostos bioativos podem modular a resposta inflamatória exacerbada, reduzir tempestades de citocinas, controlar a disseminação bacteriana e melhorar a sobrevivência em modelos animais, destacando seu potencial como agente adjuvante em abordagens imunomoduladoras e antimicrobianas (FROZZA et al., 2013; SFORCIN, 2016).

3.4 Mel de Tiúba

O mel de tiúba é produzido por abelhas sem ferrão da espécie *Melipona fasciculata*, nativas do bioma amazônico, que desempenham papel essencial na manutenção da biodiversidade por meio da polinização. Esse mel apresenta características singulares, como maior acidez, sabor adocicado suave, aroma floral marcante e elevada umidade quando comparado ao mel de *Apis mellifera*. Devido ao seu processo de produção e microbiota própria, carrega atributos bioquímicos de interesse funcional e medicinal, além de elevado valor cultural e etnobiológico em comunidades tradicionais da Amazônia (VENTURIERI, 2008).

O mel de tiúba é composto majoritariamente por carboidratos, com predominância de frutose e glicose, além de apresentar aminoácidos, proteínas, minerais (como potássio, cálcio e magnésio) e compostos fenólicos. Também possui flavonoides e ácidos fenólicos que contribuem para sua bioatividade, além de pH ácido (geralmente entre 3,0 e 4,5) e alta umidade, características que influenciam sua estabilidade microbiológica e propriedades terapêuticas. (SILVA et al., 2018)

Figura 3 – Abelha Tiúna



Fonte: Autor 2025

Dentre suas atividades biológicas, destaca-se a ação antimicrobiana, decorrente da combinação do efeito osmótico, produção de peróxido de hidrogênio, baixo pH e presença de compostos bioativos. O mel de tiúba também apresenta significativa atividade antioxidante, associada ao sequestro de espécies reativas de oxigênio (EROs) por compostos fenólicos. Adicionalmente, demonstra efeito anti-inflamatório e cicatrizante, regulando mediadores inflamatórios e estimulando reparo tecidual, processos fundamentais em condições inflamatórias sistêmicas e lesão tecidual (SILVA et al., 2018).

Tradicionalmente utilizado na medicina popular amazônica para tratar infecções e processos inflamatórios, o mel de tiúba tem sido alvo de estudos que evidenciam sua capacidade de modular a resposta imune, reduzir inflamação e inibir o crescimento de microrganismos patogênicos. Ensaio experimentais sugerem potencial promissor como adjuvante terapêutico em condições inflamatórias graves, incluindo a sepse, ao combinar efeitos antimicrobianos, antioxidantes e imunomoduladores, contribuindo para o equilíbrio da resposta inflamatória exacerbada (DOMINGOS et al., 2021).

3.5 Aplicações na Saúde

Diversos benefícios associados a kombucha, a própolis vermelha amazônica e o mel de tiúba já foram citados nesse trabalho, eles reúnem um conjunto complementar de compostos bioativos que atuam em diferentes vias fisiológicas relacionadas à inflamação, estresse oxidativo e resposta imune. A kombucha fornece ácidos orgânicos (glucurônico, acético, glucônico), polifenóis e microrganismos benéficos capazes de modular a microbiota intestinal e reduzir mediadores inflamatórios, enquanto a própolis vermelha se destaca pela presença de flavonoides, isoflavonoides e compostos fenólicos com potente ação antioxidante e inibição de vias pró-inflamatórias como NF- κ B. O mel de tiúba, por sua vez, amplia esse potencial ao fornecer compostos fenólicos, enzimas, minerais e atividade antibacteriana mediada por baixo pH, efeito osmótico e produção de peróxido de hidrogênio. Assim, a combinação desses produtos naturais demonstra um perfil funcional sinérgico, atuando tanto na defesa contra patógenos quanto na regulação da inflamação sistêmica. (BAHARI et al., 2025; SILVA et al., 2018; ALVES et al., 2018)

No campo da imunomodulação, evidências experimentais indicam que a kombucha pode atenuar a produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, ao mesmo tempo em que favorece um ambiente metabólico menos tóxico através da detoxificação associada ao ácido

glucurônico. A própolis vermelha potencializa essa resposta ao modular citocinas inflamatórias (como TNF- α e IL-6) e reduzir espécies reativas de oxigênio, contribuindo para a proteção tecidual em contextos inflamatórios sistêmicos. Paralelamente, o mel de tiúba apresenta propriedades imunoreguladoras que equilibram a resposta imune inata, além de efeito cicatrizante e antimicrobiano capaz de atuar na inibição de microrganismos oportunistas, característica especialmente relevante em estados inflamatórios severos e quadros infecciosos. (MARTINS et al., 2019; BILUCA et al., 2021)

A aplicação integrada desses compostos na saúde apresenta potencial crescente, sobretudo como abordagem adjuvante em condições de alta complexidade inflamatória, como a sepse, síndrome metabólica e distúrbios imunológicos. A kombucha atua como veículo fermentativo funcional capaz de incorporar e estabilizar fitoquímicos bioativos, tornando-se um sistema promissor para entrega de compostos terapêuticos derivados da própolis e do mel. Essa combinação fornece um espectro de ação antioxidante, antimicrobiano e imunomodulador, com capacidade de reduzir dano oxidativo, modular a resposta imune desregulada e criar barreiras funcionais contra microrganismos patogênicos. Apesar do potencial demonstrado in vitro e in vivo, ainda são necessários ensaios clínicos que confirmem dose, segurança e eficácia para aplicação terapêutica em larga escala. (JAYABALAN et al., 2019; HOSSAIN et al., 2022; SILVA et al., 2023)

4. REFERÊNCIAS

ABD-ELRAZEK, Areeg; MAHMOUD, Sahar; ABD ELMONEIM, Ahmed. The comparison between curcumin and propolis against sepsis-induced oxidative stress, inflammation, and apoptosis in kidney of adult male rat. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 6, n. 1, p. 86, 2020.

ALENCAR, S. M.; OLDONI, T. C.; CASTRO, M. L. et al. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 113, n. 2, p. 278–283, 2007.

ARAUJO, M. A.; LIBÉRIO, S. A.; GUERRA, R. N. et al. Mechanisms of action underlying the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of propolis: a brief review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 22, n. 1, p. 208–219, 2011.

BAHARI, Hossein et al. Propolis supplementation on inflammatory and oxidative stress biomarkers in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Frontiers in Nutrition*, v. 12, p. 1542184, 2025.

BANTLE, J. P.; RAATZ, S. K.; THOMAS, W.; GEORGOPOULOS, A. Effects of dietary fructose on plasma lipids in healthy subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 72, n. 5, p. 1128–1134, 2000.

BELMEHDI, Omar et al. Recent advances in the chemical composition and biological activities of propolis. *Food Reviews International*, v. 39, n. 9, p. 6078–6128, 2023.

BERENBAUM, May R.; CALLA, Bernarda. Honey as a functional food for *Apis mellifera*. *Annual Review of Entomology*, v. 66, n. 1, p. 185–208, 2021.

BERETTA, A. A.; NASCIMENTO, A. P.; BUENO, P. C. P. et al. Propolis: a review. *Phytotherapy Research*, v. 34, n. 4, p. 558–570, 2020.

BEZERRA, A. et al. Honey therapy in diabetic foot ulcers: A promising strategy for effective wound healing. *Applied Sciences*, v. 13, n. 23, p. 12820, 2023.

BILUCA, F. C.; BRAGHINI, F.; GONZAGA, L. V. et al. Physicochemical profiles minerals and bioactive compounds of stingless bee honey: a review. *Food Research International*, v. 144, p. 110341, 2021.

BUDIARI, Setyani et al. The physicochemical, antioxidant, and antibacterial properties of turmeric extract fermented with kombucha culture. In: *AIP Conference Proceedings*. AIP Publishing LLC, 2022. p. 040001.

CAO, Min; WANG, Guozheng; XIE, Jianfeng. Immune dysregulation in sepsis: experiences, lessons and perspectives. *Cell Death Discovery*, v. 9, n. 1, p. 465, 2023.

DOMINGOS, Susan Christina Braga et al. Antibacterial activity of honeys from Amazonian stingless bees of *Melipona* spp. and its effects on bacterial cell morphology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 101, n. 5, p. 2072–2077, 2021.

DOS SANTOS, Fransergio F. et al. A review on the anti-inflammatory activities of Brazilian green, brown and red propolis. *Journal of Food Biochemistry*, v. 46, n. 10, p. e14350, 2022.

DUTRA, R. P.; ABREU, B.; MARSAIOLI, A. J. et al. Brazilian Amazon red propolis leishmanicidal activity and chemical composition of a new variety of red propolis. *Metabolites*, v. 13, n. 9, p. 1027, 2023.

EVANS, L.; RHODES, A.; ALHAZZANI, W. et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Critical Care Medicine*, v. 49, n. 11, p. e1063–e1143, 2021.

FROZZA, C. O.; GARCIA, C. S.; GAMBATO, G. et al. Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis. *Food and Chemical Toxicology*, v. 52, p. 137–142, 2013.

HOSSAIN, Rajib et al. Propolis: An update on its chemistry and pharmacological applications. *Chinese Medicine*, v. 17, n. 1, p. 100, 2022.

HOTCHKISS, R. S.; MOLDAWER, L. L.; OPAL, S. M.; REINHART, K.; TURNBULL, I. R.; VINCENT, J. L. Sepsis and septic shock. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 2, p. 16045, 2016.

IWASHYNA, T. J.; ELY, E. W.; SMITH, D. M.; LANGA, K. M. Long-term cognitive impairment and functional disability among survivors of severe sepsis. *JAMA*, v. 304, n. 16, p. 1787–1794, 2010.

JAYABALAN, R.; WAISUNDARA, Viduranga Y. Kombucha as a functional beverage. In: *Functional and Medicinal Beverages*. Academic Press, 2019. p. 413–446.

KORISH, A. A.; ARAFA, M. M. Propolis derivatives enhance the anti-inflammatory and anti-oxidant effects of propofol against endotoxemia in rats. *Annals of Saudi Medicine*, v. 31, n. 1, p. 24–29, 2011.

KOWALSKI, S.; MAKAREWICZ, M. Functional properties of honey supplemented with bee bread and propolis. *Natural Product Research*, v. 31, n. 22, p. 2680–2683, 2017.

LAUREYS, D.; BRITTON, A.; CLIPPELEER, J. Fermentation, composition, and health benefits of kombucha: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 19, n. 6, p. 3434–3460, 2020.

LAVINAS, F. C. et al. Rainy and dry seasons are relevant factors affecting chemical and antioxidant properties of Meliponini honey. *Foods*, v. 14, n. 2, p. 305, 2025.

MACHADO, F. R. et al. Sepse e choque séptico: novas definições. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, v. 29, n. 2, p. 159–162, 2017.

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.

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, v. 26, n. 2, p. 83–99, 1995.

MARTINS, M. L. et al. Antibacterial and cytotoxic potential of a Brazilian red propolis. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, v. 19, p. e4626, 2019.

MENDONÇA, G. R. et al. Propriedades antioxidantes e efeitos antimicrobianos da kombucha: revisão da evidência científica. *Revista Contexto & Saúde*, v. 20, n. 40, p. 244–251, 2020.

MOSS, S. R.; PRESCOTT, H. C. Current controversies in sepsis management. In: *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. Thieme Medical Publishers, p. 594–603, 2019.

PAOLI, C. J.; REYNOLDS, M. A.; SINHA, M. et al. Epidemiology and costs of sepsis in the United States: an analysis based on timing of diagnosis and severity level. *Critical Care Medicine*, v. 46, n. 12, p. 1889–1897, 2018.

RUDD, K. E.; JOHNSON, S. C.; AGESA, K. M. et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017. *The Lancet*, v. 395, n. 10219, p. 200–211, 2020.

RUFATTO, Luciane Corbellini et al. Red propolis: Chemical composition and pharmacological activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 7, n. 7, p. 591–598, 2017.

RUFATTO, L. C.; LEMOS, M.; SVALUTO MORETTO, T. et al. Própolis vermelha: composição química e atividade farmacológica. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 7, n. 7, p. 591–598, 2017.

SENTHILKUMAR, K.; MUTHIAH, P. A Comprehensive Review of Kombucha Fermentation and Probiotic Functional Mechanisms: Microbial Dynamics, Bioactive Compounds and Health Effects. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, p. 1–27, 2026.

SFORCIN, J. M. et al. Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 138, n. 1, p. 1–5, 2011.

SHANG, Y.; PAN, L.; YANG, C. et al. Management of critically ill patients with COVID-19 in ICU. *Annals of Intensive Care*, v. 10, p. 73, 2020.

SILVA, F. R. G. et al. Phytochemical screening and in vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and antitumor activities of the red propolis Alagoas. *Brazilian Journal of Biology*, v. 79, n. 3, p. 452–459, 2018.

SINGER, M.; DEUTSCHMAN, C. S.; SEYMOUR, C. W. et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*, v. 315, n. 8, p. 801–810, 2016.

TACCONELLI, E.; CARRARA, E.; SAVOLDI, A. et al. Discovery, research, and development of new antibiotics. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 18, n. 3, p. 318–327, 2018.

TSAVEA, E. et al. Physicochemical characterization and biological properties of pine honey produced across Greece. *Foods*, v. 11, n. 7, p. 943, 2022.

WANG, P. et al. Kombucha ameliorates LPS-induced sepsis in a mouse model. *Food & Function*, v. 12, n. 20, p. 10263–10280, 2021.

ZHOU, Xiaoling et al. Regulatory Effect of Manuka Honey on Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Response. *Food Science*, v. 46, n. 18, p. 122–131, 2025.

CAPÍTULO I

Artigo foi submetido em inglês à revista:
Journal of Apicultural Research
Link de Acesso: <https://www.tandfonline.com/journals/tjar20>
Qualis A3 e Fator de impacto 2.08

Potencial Terapêutico da Própolis contra Endotoxemia e infecção: Propriedades Bioativas e Eficácia *In Vivo*

Jeferson Noslen Casarin¹, Priscila Mendonça Mendes², Tatielli Gomes Dias^{1,2}, Fernanda Farias Costa¹, Bruna Moura Cardoso Sousa¹, Aramys Silva Reis¹, Richard Pereira Dutra¹, Adriana Gomes Ferreira Nogueira¹, Marcelino Santos Neto¹, Ana Lucia Fernandes Pereira¹, Márcia Cristina Gonçalves Maciel^{1,2,3}

¹Graduate Program in Health and Technology, Federal University of Maranhão (UFMA), Brazil.

² Graduate Program in Health Sciences, Federal University of Maranhão (UFMA), Brazil.

³Graduate Program in Tropical Medicine (PPGMT), Faculty of Medicine, Applied Immunology Laboratory, University of Brasília (UnB), Brasília, Brazil.

Correspondence should be addressed to Márcia Cristina Gonçalves Maciel: marcia.maciel@unb.br

Resumo / Abstract

O tratamento da sepse representa um desafio significativo devido à sua complexidade, que envolve uma resposta inflamatória exacerbada do hospedeiro a uma infecção grave, frequentemente levando a disfunção orgânica e falência múltipla de órgãos. O objetivo desta revisão foi analisar a literatura científica sobre os efeitos da própolis em infecções generalizadas (sepse) em modelos *in vivo*. Para isso, foi realizada uma revisão integrativa da literatura, seguindo uma abordagem sistemática baseada na estratégia PICO, definindo critérios rigorosos de inclusão e exclusão para os estudos selecionados. A pesquisa foi conduzida nas bases de dados PubMed, ScienceDirect, Scopus, Web of Science e Embase, garantindo uma cobertura abrangente e relevante do tema. A análise dos dados revelou que a própolis pode oferecer uma alternativa promissora para a modulação da resposta inflamatória associada à sepse. Seus compostos bioativos demonstraram potencial para reduzir a produção de citocinas pró-inflamatórias e melhorar a sobrevivência em modelos animais. A revisão não só destacou a eficácia da própolis em estudos *in vivo*, mas também evidenciou a necessidade de mais pesquisas clínicas para validar esses achados e explorar a aplicação da própolis como terapia adjuvante na prática clínica. Assim, a inclusão da própolis no arsenal terapêutico contra a sepse pode representar um avanço significativo no tratamento da síndrome, oferecendo novas esperanças para uma abordagem mais eficaz e segura.

1. Introdução

A sepse é uma síndrome clínica complexa, definida como uma resposta desregulada do organismo a uma infecção, que leva à disfunção orgânica potencialmente fatal (Hotchkiss et al., 2016). Esse processo inflamatório sistêmico resulta da interação entre o patógeno e o sistema imune do hospedeiro, em que a resposta exacerbada causa danos aos tecidos e órgãos, ultrapassando a capacidade de defesa do corpo humano (Singer et al., 2016). Clinicamente, caracteriza-se por febre, hipotensão e falência múltipla de órgãos, sendo uma das principais causas de internações em unidades de terapia intensiva em todo o mundo (Naime, Ganaes, Lopes-Pires, 2018).

A gravidade da síndrome é acentuada pela resistência antimicrobiana emergente, como no caso da resistência à meticilina em *Staphylococcus aureus* (MRSA), que compromete a eficácia terapêutica e reduz as opções de manejo disponíveis (Tacconelli et al., 2018). Assim, a sepse constitui um relevante problema de saúde pública, com impacto desproporcional em países de baixa e média renda, onde as taxas de mortalidade são ainda mais elevadas (Rudd et al., 2020; La Via et al., 2024). Estima-se que aproximadamente 11 milhões de pessoas morram anualmente em decorrência dessa condição (Reinhart et al., 2020).

Apesar dos avanços em terapia intensiva, o diagnóstico precoce ainda é dificultado pela inespecificidade das manifestações clínicas (Siloși et al., 2018). Os tratamentos atuais envolvem antibióticos de amplo espectro, suporte hemodinâmico e drogas vasoativas (Rhodes et al., 2017), contudo, a crescente resistência antimicrobiana limita a eficácia desses protocolos, reforçando a urgência na busca por novas estratégias terapêuticas, como a imunoterapia, ainda em investigação (Brunel; Guery, 2017).

Nesse contexto, a exploração de alternativas terapêuticas inovadoras torna-se essencial. Produtos naturais têm recebido crescente atenção devido à presença de compostos bioativos capazes de atuar como adjuvantes aos tratamentos convencionais, com propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e imunomoduladoras relevantes no combate à sepse (Shang et al., 2019). Entre esses produtos, a própolis destaca-se pelo seu potencial clínico e amplo espectro farmacológico (Garbis et al., 2024).

A própolis é uma substância resinosa produzida por abelhas a partir de exsudatos vegetais, cera e secreções salivares, cuja composição química, rica em flavonoides, ácidos fenólicos e terpenos, confere-lhe propriedades anti-inflamatórias (Korish; Arafa, 2011), antioxidantes (Diniz et al., 2020), imunomoduladoras (Ito, Degawa, Okumura, 2023), leishmanicidas (Dutra et al., 2023), antivirais (Berretta et al., 2020) e antimicrobianas (De

Castro et al., 2011; Berretta et al., 2012; Zhang et al., 2022). Essas atividades são particularmente importantes no controle do estresse oxidativo e na regulação da resposta imunológica, ambos processos centrais na evolução da sepse (Bankova et al., 2019).

No campo terapêutico, evidências demonstram que a própolis exerce atividade antimicrobiana contra cepas resistentes e, no contexto da sepse, compostos como os flavonoides têm potencial para reduzir citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-6 (Gómez-Caravaca et al., 2020). Estudos pré-clínicos indicam que sua administração pode melhorar a sobrevida, modular a resposta imunológica e reduzir a falência de órgãos (Farias et al., 2014; Libério et al., 2009; Machado et al., 2012), consolidando-se como uma promissora terapia adjuvante (Araujo et al., 2011; Sforcin, 2016; El-Kersh et al., 2024).

Dessa forma, a presente revisão tem por objetivo compilar e analisar as evidências científicas acerca do potencial terapêutico da própolis no manejo da sepse. Buscou-se compreender como a interação dos seus agentes bioativos pode atuar de forma adjuvante aos protocolos clínicos vigentes, visando a redução da resposta inflamatória exacerbada e o enfrentamento da resistência antimicrobiana, consolidando, assim, a base teórica para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas contra condições inflamatórias sistêmicas de alta complexidade.

2. Material e métodos

Foi realizada uma revisão integrativa da literatura com o objetivo de fornecer uma análise abrangente do potencial terapêutico da própolis no tratamento de infecções. O desenvolvimento da revisão seguiu as seguintes etapas: definição do tema e formulação da questão norteadora; seleção e extração criteriosa dos dados; categorização dos estudos; análise detalhada dos dados; síntese dos resultados; e apresentação final da revisão integrativa (Whittemore & Knafl, 2005).

A estratégia de pesquisa adotou o modelo PICO, seguindo as diretrizes do Joanna Briggs Institute (JBI), em que “P” representa a população (própolis), “I” o interesse (atividade antimicrobiana) e “Co” o contexto (sepse). Com base nisso, formulou-se a seguinte questão norteadora: “Quais as evidências científicas do efeito da própolis e/ou seus isolados em infecções generalizadas *in vivo*?” A partir dessa questão, foram selecionadas palavras-chave específicas para realizar a busca nas bases de dados relevantes (Santos, Pimenta & Nobre, 2007).

Para localizar estudos relevantes, foram selecionadas cinco bases de dados de ampla cobertura e relevância científica: PubMed, Scopus, Web of Science, Embase e ScienceDirect. As buscas foram realizadas utilizando palavras-chave e descritores controlados pelo Medical Subject Headings (MeSH), como “sepsis,” “propolis,” além de termos não controlados, como “infectious”. Os operadores booleanos "AND" e "OR" foram aplicados para refinar as pesquisas, ajustando-os conforme necessário para cada base de dados específica.

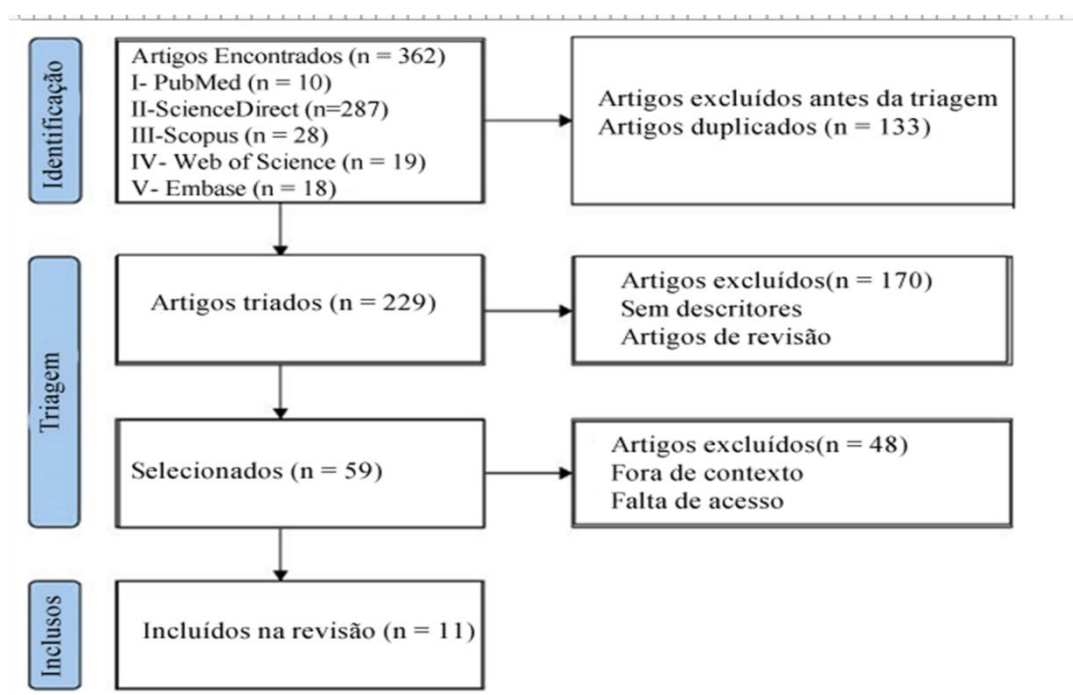
A plataforma Rayyan foi utilizada para organizar os artigos encontrados e facilitar a remoção de duplicatas e revisões (Ouzzani et al., 2016). Os critérios de inclusão limitam-se a estudos que investigam os efeitos da própolis em modelos *in vivo* de infecções generalizadas. Serão considerados apenas estudos publicados em inglês, português e espanhol, desde que estejam disponíveis na íntegra. Artigos que não atendam aos descritores propostos, bem como duplicados, revisões narrativas, integrativas ou sistemáticas, meta-análises, e trabalhos como teses e dissertações, serão excluídos da revisão, assim como aqueles que não estejam acessíveis na íntegra.

Foi adotada uma adaptação do fluxograma Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) para ilustrar as etapas de seleção dos artigos (Paje et al., 2021). Os dados foram coletados a partir das seguintes informações: ano de publicação, título, objetivo, tipo de estudo, tipo de própolis, dose, via de administração, esquema de tratamento e resultados. Após a extração desses dados, o potencial terapêutico da própolis será avaliado para proporcionar uma compreensão mais clara e detalhada do tópico.

3. Resultados

Ao pesquisar nas bases de dados, foram encontrados 362 estudos. Destes, 133 eram duplicados e foram excluídos, restando 229 estudos. Então, 170 estudos foram excluídos por estarem sem os descritores, serem artigos de revisão, teses e dissertação e/ou não estarem de acordo com o que foi proposto para o artigo. Resultando em 59 estudos selecionados. Após a triagem dos estudos, os outros 49 foram excluídos por falta de acesso ou estar fora de contexto. Portanto, 11 artigos foram incluídos nesta revisão .

Figura 1 - Fluxograma dos artigos selecionados



Fonte: Autor 2026

Os aspectos mais relevantes destes estudos foram resumidos em uma tabela, incluindo informações sobre o tipo de própolis, região, solvente de extração, agente infeccioso, tipo de infecção, dose/concentração, via de administração, duração do tratamento e atividade biológica (Tabela 1).

Os estudos selecionados utilizaram diferentes tipos de própolis, incluindo a própolis verde brasileira, compostos químicos isolados de própolis como pinocebrina e CAPE (éster fenetílico do ácido cafeico) própolis egípcia, iraquiana, iraniana, chinesa e europeia. As doses variaram de 10 $\mu\text{M/kg}$ a 500 mg/kg, com vias de administração oral, intravenosa e subcutânea. Os modelos de sepse incluíram ligadura e punção cecal (CLP), administração de lipopolissacarídeo (LPS) e infecção por *Escherichia coli*.

Tabela 1 - Resumo dos estudos selecionados

Título	Tipo de Estudo	Tipo de Própolis	Região/ País	Solvente de Extração	Agente Infecioso	Tipo de Infecção	Dose/ Concentração	Via de Administração	Duração do Tratamento	Atividade Biológica
Green propolis extract attenuates acute kidney injury and lung injury in a rat model of sepsis Silveira et al. (2021)	<i>in vivo</i> (Ratos Wistar machos)	Verde brasileira	Brasil	Etanol 70%	CLP (2 punções, Calibre 16)	Sistêmica	500 mg/kg/dia	IP	6 h após o procedimento	↑ Taxa de sobrevivência 70% CLP+GP. ↑ TFG, GSH. ↓ a regulação positiva da via de sinalização TLR4/NF-κB; ↓ de IFN-γ, IL-1β, IL-12p70, IL-17A e TNF-α no tecido renal. ↓ infiltração de macrófagos e apoptose no tecido renal. ↓ MPO, infiltração de macrófagos e apoptose no tecido pulmonar.
Propolis derivatives inhibit the systemic inflammatory response and protect hepatic and neuronal cells in acute septic shock Korish & Arafa (2011)	<i>in vivo</i> (Ratos Wistar machos)	CAPE	Europa	Etanol	LPS (Escherichia coli O55:B5, Sigma-Aldrich)	Sistêmica	10 µM/kg	IP	14 dias antes e 30 minutos após LPS	↓ de TNF-α, IL-1α, IL-1β, IL-6 e sICAM-1. ↑ de IL-4 e IL-10.
The Comparison between Curcumin and Propolis against Sepsis-Induced Oxidative Stress, Inflammation and Apoptosis in Kidney of Adult Male Rat Abd-Elrazek et al. (2020)	<i>in vivo</i> (Ratos Wistar albinos machos)	Não especificado	Não especificado	Etanol	Suspensão cecal	Sistêmica	250 mg/kg/dia	Oral	14 dias antes	↑ GSH, GPx, GR, CAT e SOD, ↓ LPO, NO, Bax/Bcl2, IL-1β, TNF-α e PGE2, ↓ cognição e hemorragia intersticial do tecido renal

Iraqi propolis increases degradation of IL-1 β and NLR4 by autophagy following Pseudomonas aeruginosa infection	<i>in vitro / in vivo (Female C57/BL6 mice)</i>	Própolis iraquiana (derivado aquoso)	Al-Tarmiyia, Iraque	Etanol 96% + L-lisina (derivado aquoso)	Pseudomonas aeruginosa (PA103, PAO1)	Sistêmica (peritonite)	5 μ g/mL (in vitro); 1,5 mg/kg (in vivo)	in vitro: cultura celular; in vivo: IP	in vitro: 4 h; in vivo: dose única, avaliação após 6 h	↑ autogafia (LC3-II); ↓ IL-1 β e caspase-1; ↓ ativação do inflamassoma NLR4; ↓ CFU (in vitro)
Jabir et al. (2017)										
Protective effects of propolis on female rats' histopathological, biochemical and genotoxic changes during LPS induced endotoxemia	<i>in vivo (Sprague Dawley female rats)</i>	Própolis de álamo (Populus nigra)	Kayseri, Turquia	Etanol 80%	LPS (Escherichia coli O111:B4)	Sistêmica (endotoxemia)	250 mg/kg (propolis); 30 mg/kg (LPS)	Propolis: oral; LPS: IP	Propolis: dose única 1h antes ou depois do LPS; avaliação 6h após LPS	↓ MDA hepático; proteção contra dano hepático induzido por LPS; ↓ dano histopatológico fígado (menor congestão, infiltração neutrofílica e necrose); manutenção da estabilidade genômica (GTS%); menor hipometilação global do DNA;
Doğanyigit et al. (2013)										
Pinocembrin alleviates lipopolysaccharide-induced myocardial injury and cardiac dysfunction in rats by inhibiting p38/JNK MAPK pathway	<i>in vivo (male Sprague-Dawley rats)</i>	Pinocembrina (flavonoide da própolis)	(China)	Não aplicável (composto isolado)	LPS de Escherichia coli O55:B5	Sistêmica (modelo de sepse)	LPS: 5 mg/kg IP; Pinocembrina : 5 mg/kg IV	LPS: IP; Pinocembrina: IV (cauda)	5 dias (administração diária; pinocembrina 1h antes do LPS)	↑ função cardíaca (LVEF, LVFS); ↓ volumes ventriculares (LVESV, LVEDV); ↓ TNF- α , IL-6 e LDH; ↓ temperatura corporal; ↓ apoptose cardíaca; ↓ remodelamento elétrico ventricular (QT, QTc, APD90, ERP/APD90); ↓ incidência e duração de arritmias ventriculares; ↓ fosforilação de p38 e JNK (MAPK); ↓ desarranjo e infiltração linfocitária no miocárdio; efeito protetor cardíaco por inibição da via p38/JNK MAPK.
Li et al. (2021)										
Value of Caffeic Acid Phenethyl Ester Pretreatment in Experimental Sepsis Model in Rats	<i>in vivo (Ratos Wistar machos)</i>	CAPE	(Turquia)	(composto isolado-CAPE was synthesized by standard method of Grunberger)	Escherichia coli ATCC 25922	Sistêmica (sepse experimental)	10 μ mol/kg	IP	Dose única 6h após indução da sepse; avaliação em 24h	↓ ET-1, ↓ TNF- α , ↓ MDA, ↑ SOD em comparação ao grupo sepse; CAPE ↓ os níveis de endotelina-1, TNF- α e MDA, e ↑ a atividade de SOD, indicando efeito anti-inflamatório e antioxidante.
Ozlem Alici et al. (2015)										

Fonte: Autores 2025.

IP: intraperitoneal; **IV:** Intravenosa; **SC:** Subcutânea; **MDA:** Malondialdeído; **SOD:** superoxide dismutase; **LPS:** Lipopolissacarídeo; **CLP:** Ligadura e punção cecal ; **TGF:** taxa

de filtração glomerular; **GSH**: glutathione; **MPO**: mieloperoxidase; **CAPE**: éster fenetílico do ácido cafeico; **GPx**: glutathione peroxidase; **GR**: glutathione reductase; **CAT**: catalase; **NO**: nitric oxide; **LPO**: lipid peroxidation; **TLC**: Contagem global de leucócitos; **PCR**: C-reactive protein; **SOFA**: sequential organ failure assessment; **APACHE II**: acute physiology and chronic health evaluation II; **NUTRIC**: nutrition risk in the critically ill; **AST**: aspartato transaminase; **ALT**: alanina aminotransferase, **IL-1 β** : interleucina-1 beta; **IL-10**: interleucina-10; **TNF- α** : fator de necrose tumoral- α ; **IL-6**: interleucina-6;

4. Discussão

Os estudos selecionados nesta revisão integrativa revelaram o significativo potencial Biotecnológico da própolis em *in vitro* e em modelos murinos experimentais de sepse, destacando seus efeitos anti-inflamatório, antimicrobiano, antioxidante e imunomodulador. A diversidade geográfica das amostras de própolis analisadas (brasileira, egípcia, Turca, iraniana, iraquiana, chinesa e europeia) e seus respectivos componentes bioativos demonstraram uma notável consistência nos efeitos benéficos contra a resposta inflamatória excessiva característica da sepse, apesar das diferentes composições químicas.

A composição química da própolis varia consideravelmente dependendo da região geográfica, fontes botânicas e espécies de abelhas coletoras (Sforcin e Bankova, 2011). Entretanto, essa diversidade composicional não prejudica seu potencial terapêutico, uma vez que diferentes tipos de própolis apresentaram resultados promissores no controle da resposta inflamatória exacerbada e nos processos infecciosos. A própolis verde brasileira, rica em artemisinina e ácido cafeico (Silveira et al., 2021), a própolis chinesa, rica em flavonoides como crisina, galangina e pinocembrina (Wang et al., 2015), e a própolis iraquiana (Jabir et al., 2017) demonstraram efeitos benéficos em diferentes quadros infecciosos.

Um dos componentes mais estudados é o éster fenetílico do ácido cafeico (CAPE), encontrado principalmente na própolis europeia, que demonstrou potente capacidade de supressão do NF- κ B (Korish e Arafat, 2011). Similarmente, a pinocembrina, um flavonóide presente na própolis europeia, mostrou-se eficaz na redução da lesão miocárdica em ratos Sprague-Dawley com sepse induzida por LPS através da inibição da via MAPK p38/JNK (Li et al., 2021).

A crisina, outro flavonóide encontrado na própolis, reduziu significativamente os níveis séricos de IL-1 β , IL-6, TNF- α , além de aumentar a atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GSH-Px em tecidos de ratos com sepse (Koc et al., 2020). Yang et al. (2018)

demonstraram, em um experimento onde usaram carragenina para causar inflamação, que a crisina reduziu a pleurisia e lesão pulmonar via ativação da via SIRT1/NRF2, destacando o potencial desse componente na proteção pulmonar durante estados inflamatórios sistêmicos.

Os estudos analisados revelam que a própolis atua através de múltiplos mecanismos para controlar a cascata inflamatória das infecções. Um dos principais mecanismos identificados foi a modulação da via de sinalização TLR4/NF- κ B, crucial no desenvolvimento da resposta inflamatória exacerbada (Silveira et al., 2021; Wang et al., 2015).

Wang et al. (2015) demonstraram que extratos de própolis ricos em polifenóis da China e Brasil exercem efeitos anti-inflamatórios significativos através da modulação da ubiquitinação de TRAF6 durante a ativação do NF- κ B. Este mecanismo previne a translocação nuclear do NF- κ B, reduzindo consequentemente a transcrição de genes inflamatórios. De forma complementar, Jabir et al. (2017) revelaram um mecanismo inovador pelo qual a própolis iraquiana aumenta a degradação de IL-1 β e NLRC4 por autofagia após infecção por *Pseudomonas aeruginosa*, demonstrando que a própolis pode atuar em processos celulares fundamentais para controlar a inflamação.

A ativação dos inflamassomas, especialmente o NLRC4, é um processo crítico no desenvolvimento da sepse induzida por bactérias Gram-negativas. Os achados de Jabir et al. (2017) são particularmente relevantes por demonstrarem que a própolis pode regular negativamente essa via, resultando em menor produção de IL-1 β , uma citocina pró-inflamatória central na fisiopatologia da sepse.

A própolis verde brasileira demonstrou capacidade de modular significativamente a microbiota intestinal, reduzir a endotoxemia e a expressão da via TLR4 em camundongos alimentados com dieta rica em gordura (Roquette et al., 2015). Este achado é extremamente relevante no contexto da sepse, uma vez que a translocação bacteriana intestinal e a endotoxemia são fatores agravantes nesta síndrome.

Um aspecto notável dos estudos revisados é a capacidade da própolis de proteger múltiplos órgãos durante a sepse, particularmente os pulmões e rins, que são frequentemente acometidos desta síndrome. Garbis et al. (2024) demonstraram que o uso profilático de extrato padronizado de própolis de *Apis mellifera* (EPP-AF®) reduz significativamente a inflamação pulmonar e melhora a sobrevida em modelo de sepse letal experimental. Os autores observaram que o EPP-AF® reduziu hemorragia, necrose, infiltrado inflamatório e edema no parênquima pulmonar, sem necessariamente reduzir a carga bacteriana, sugerindo um efeito predominantemente anti-inflamatório e não antibacteriano direto.

Silveira et al. (2021) demonstraram que o extrato de própolis verde atenuou significativamente a lesão renal aguda e a lesão pulmonar em um modelo de sepse em ratos, aumentando a taxa de sobrevivência em 70%. O mecanismo proposto envolve a redução da regulação positiva da via de sinalização TLR4/NF- κ B e diminuição dos níveis de IFN- γ , IL-1 β , IL-12p70, IL-17A e TNF- α no tecido renal, além de reduzir a infiltração de macrófagos e apoptose no tecido renal e pulmonar.

Doğanyigit et al. (2013) evidenciaram o papel antioxidante da própolis em dano renal induzido por LPS, demonstrando que o tratamento com própolis reduziu os níveis de malondialdeído (MDA) sérico e melhorou as alterações histopatológicas renais induzidas pelo LPS, incluindo dano tubular, lesão isquêmica e atrofia glomerular. De forma complementar, Abd-Elrazek et al. (2020) compararam os efeitos da própolis e da curcumina contra estresse oxidativo, inflamação e apoptose induzidos por sepse no rim, constatando que a própolis foi eficaz na redução de marcadores inflamatórios e oxidativos.

Um achado interessante foi demonstrado por Li et al. (2021), onde a pinocembrina, um flavonoide da própolis, aliviou a lesão miocárdica e disfunção cardíaca induzidas por LPS em ratos Sprang-Dawley. Este estudo mostrou que a pinocembrina melhorou significativamente a função cardíaca, reduziu os volumes ventriculares e diminuiu a incidência e duração de arritmias ventriculares, ampliando o espectro de órgãos protegidos pela própolis durante a sepse.

Um aspecto importante observado nos estudos foi a eficácia da própolis tanto em abordagens preventivas quanto terapêuticas. Garbis et al. (2024) demonstraram que o uso profilático do extrato padronizado de própolis (EPP-AF®) 6 horas antes da indução da sepse aumentou significativamente a sobrevivência dos animais. Este achado sugere um potencial papel da própolis como adjuvante na profilaxia de sepse em situações de alto risco, como procedimentos cirúrgicos.

Em contraste, Silveira et al. (2021) administraram própolis verde brasileira 6 horas após a indução da sepse, mimetizando um cenário mais próximo da prática clínica, onde o paciente já apresenta a síndrome instalada. Mesmo nesta abordagem terapêutica, a própolis demonstrou eficácia significativa, aumentando a sobrevivência e reduzindo danos orgânicos. Ozlem Alici et al. (2015) avaliaram o valor do pré-tratamento com CAPE em modelo experimental de sepse em ratos, demonstrando redução significativa nos níveis de endotelina-1, TNF- α e MDA, além de aumento na atividade da superóxido dismutase (SOD), indicando um potente efeito antioxidante e anti-inflamatório.

Apesar da predominância de estudos pré-clínicos, os resultados consistentes e promissores apontam para um potencial translacional significativo. O estudo de Pahlavani et al. (2022), embora não focado exclusivamente na própolis, avaliou os efeitos da suplementação combinada de melatonina e própolis na inflamação, estresse oxidativo e desfechos clínicos em pacientes com pneumosepse primária. Os resultados mostraram que a combinação reduziu significativamente os níveis de IL-6 e proteína C-reativa, além de melhorar os escores APACHE II, SOFA e NUTRIC. Este ensaio clínico randomizado e controlado, ainda que preliminar, fornece evidências iniciais do potencial benefício da própolis em cenários clínicos de sepse, corroborando os achados pré-clínicos. A capacidade da própolis de modular múltiplas vias inflamatórias e proteger diferentes órgãos simultaneamente representa uma vantagem significativa sobre abordagens monoterapêuticas.

A própolis apresenta ainda a vantagem de possuir um perfil de segurança estabelecido, com poucos efeitos adversos relatados em doses terapêuticas (Sforcin, 2016). Esta característica é particularmente relevante no contexto da sepse, onde pacientes frequentemente apresentam disfunção orgânica múltipla e requerem diversos medicamentos concomitantes.

Apesar dos resultados promissores, algumas limitações precisam ser consideradas. A variabilidade na composição química da própolis dependendo da origem geográfica dificulta a padronização e pode impactar a reprodutibilidade dos resultados. A utilização de extratos padronizados, como o EPP-AF® utilizado por Garbis et al. (2024), representa um avanço importante nesse sentido.

A maioria dos estudos utilizou modelos animais de sepse, que, embora valiosos, podem não refletir completamente a complexidade da sepse humana. Mais estudos clínicos são necessários para confirmar os achados pré-clínicos e estabelecer protocolos de dosagem e administração.

Os mecanismos moleculares precisos pelos quais a própolis e seus componentes exercem seus efeitos protetores ainda não estão completamente elucidados, necessitando de investigações mais aprofundadas. Particularmente, estudos com componentes isolados como CAPE versus extratos completos poderiam ajudar a identificar os princípios ativos mais relevantes. Pesquisas futuras poderiam focar no desenvolvimento de formulações otimizadas de própolis para uso em sepse, estudos de fase I e II em humanos para estabelecer segurança e eficácia preliminar, e investigações sobre potenciais interações com antibióticos e outros medicamentos comumente utilizados no manejo da sepse.

5. Conclusão

Esta revisão integrativa evidenciou que a própolis apresenta expressivo potencial terapêutico no tratamento da sepse, destacando-se por sua capacidade de modular a resposta inflamatória exacerbada, reduzir o estresse oxidativo e promover equilíbrio imunológico. Independentemente da origem botânica ou composição química, os diferentes tipos de própolis demonstraram efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e imunomoduladores consistentes em modelos experimentais, tanto em abordagens preventivas quanto terapêuticas. Esses achados reforçam seu potencial como agente adjuvante promissor no manejo da sepse, especialmente diante do aumento da resistência antimicrobiana e da elevada mortalidade associada à síndrome.

As perspectivas futuras apontam para a necessidade de padronização dos extratos, desenvolvimento de formulações farmacológicas seguras e estudos clínicos robustos que validem sua eficácia em contextos hospitalares. A incorporação da própolis em protocolos terapêuticos e de suporte imunológico pode representar um avanço significativo na terapêutica da sepse, integrando conhecimentos tradicionais à medicina baseada em evidências. Assim, a consolidação científica do uso da própolis poderá contribuir para estratégias mais eficazes e sustentáveis no enfrentamento de infecções graves e na redução da mortalidade associada à sepse.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – bem como a Universidade Federal do Maranhão (UFMA) pela disposição dos laboratórios para realização das pesquisas.

Conflito de Interesses

Os autores declaram não haver conflitos de interesses em relação à publicação deste artigo. A pesquisa foi conduzida na ausência de quaisquer relações comerciais ou financeiras que pudessem ser interpretadas como um potencial conflito de interesses.

Referencia

Abd-Elrazek, A.M., El-Sayed, A.M., El-Shafey, M. et al. (2020). The comparison between curcumin and propolis against sepsis-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in

kidney of adult male rat. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 13(10), 7514–7523.

Abo-Zaid, M.A. (2024). Propolis as an immunomodulatory agent: evaluation of antioxidant activity, cytokine modulation, and hematological parameters in albino rats infected with *Escherichia coli*. *Journal of King Saud University – Science*, 36(3), 102379.

Araujo, M.A.R., Libério, S.A., Guerra, R.N.M., Ribeiro, M.N.S. & Nascimento, F.R.F. (2012). Mechanisms of action underlying the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of propolis: a brief review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22, 208–219.

Berretta, A.A., Silveira, M.A.D., Córdor Capcha, J.M. & De Jong, D. (2020). Propolis and its potential against SARS-CoV-2 infection mechanisms and COVID-19 disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110622.

Berretta, A.A., Nascimento, A.P., Bueno, P.C., Vaz, M.M. & Marchetti, J.M. (2012). Propolis standardized extract (EPP-AF®), an innovative chemically and biologically reproducible pharmaceutical compound for treating wounds. *International Journal of Biological Sciences*, 8(4), 512–521.

Brunel, A. & Guery, B. (2017). Multidrug-resistant pathogens – alternatives to new antibiotics? *Swiss Medical Weekly*, 147, w14553.

Castaldo, S. & Capasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 73, S1–S6.

Castano, P., Plaza, M., Molina, F., Hincapie, C., Maya, W., Catano, J., Gonzalez, J., Leon, A. and Jaimes, F., (2019). Antimicrobial agent prescription: a prospective cohort study in patients with sepsis and septic shock. *Tropical Medicine & International Health*, 24(2), pp.175-184.

De Castro, P.A., Savoldi, M., Bonatto, D., Malavazi, I., Goldman, M.H.S. & Goldman, G.H. (2011). Molecular characterization of propolis-induced cell death in *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryotic Cell*, 10(3), 398–411.

Diniz, D.P., Lorencini, D.A., Berretta, A.A. et al. (2020). Antioxidant effect of standardized extract of propolis (EPP-AF®) in healthy volunteers: a before-and-after clinical study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 1–8.

Doğanyigit, Z., Küpeli Akkol, E., Demirel, M.A. et al. (2013). Protective effects of propolis on histopathological, biochemical and genotoxic changes in LPS-induced endotoxemia in rats. *Phytomedicine*, 20(7), 632–639.

Dutra, R.P., Bezerra, J.L., da Silva, M.C.P., Batista, M.C.A., Patrício, F.J.B., Nascimento, F.R.F., Ribeiro, M.N.S. and Guerra, R.N.M., (2019). Antileishmanial activity and chemical composition from Brazilian geopropolis produced by stingless bee *Melipona fasciculata*.

Revista Brasileira de Farmacognosia, 29(3), pp.287-293.

El-Kersh, D.M., Abou El-Ezz, R.F., Ramadan, E. and El-Kased, R.F., 2024. In vitro and in vivo burn healing study of standardized propolis: Unveiling its antibacterial, antioxidant and anti-inflammatory actions in relation to its phytochemical profiling. *Plos one*, 19(5), p.e0302795.

Farias, J.H.C., Ribeiro, M.N.S., Libério, S.A. et al. (2014). Effects of stingless bee propolis on experimental asthma. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 951478.

Ferrer, R., Martin-Loeches, I., Phillips, G. et al. (2014). Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour. *Critical Care Medicine*, 42(8), 1749–1755.

Garbis, D.V.O., Silveira, M.A.D., Berretta, A.A. et al. (2024). Prophylactic use of standardized extract of propolis of *Apis mellifera* (EPP-AF®) reduces lung inflammation and improves survival in experimental lethal sepsis. *Journal of Ethnopharmacology*, 331, 118294.

Hotchkiss, R.S., Moldawer, L.L., Opal, S.M., Reinhart, K., Turnbull, I.R. & Vincent, J.L. (2016). Sepsis and septic shock. *Nature Reviews Disease Primers*, 2, 16045.

Jabir, M.S., Saleh, Y.M., Sulaiman, G.M. et al. (2017). Iraqi propolis increases degradation of IL-1 β and NLR4 by autophagy following *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Microbes and Infection*, 19(11), 414–424.

Kasote, D., Bankova, V. and Viljoen, A.M., 2022. Propolis: Chemical diversity and challenges in quality control. *Phytochemistry Reviews*, 21(6), pp.1887-1911.

Koc, A.N., Silici, S., Mutlu-Sagdic, O. et al. (2020). The effects of chrysin on lipopolysaccharide-induced sepsis in rats. *Microbial Pathogenesis*, 148, 104463.

Korish, A.A. & Arafa, M.M. (2011). Propolis derivatives inhibit the systemic inflammatory response and protect hepatic and neuronal cells in acute septic shock. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 15(4), 332–338.

Kumar, A., Roberts, D., Wood, K.E. et al. (2009). Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Critical Care Medicine*, 37(5), 1268–1274.

La Via, L., Sangiorgio, G., Stefani, S. et al. (2024). The global burden of sepsis and septic shock. *Epidemiologia*, 5, 456–478.

Levy, M.M., Evans, L.E. & Rhodes, A. (2018). The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 update. *Intensive Care Medicine*, 44(6), 925–928.

Libério, S.A., Pereira, A.L.A., Dutra, R.P. et al. (2009). The potential use of propolis as a

cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. *Journal of Ethnopharmacology*, 125(1), 1–9.

Li, C., Zhou, H., Zhang, Y. et al. (2021). Pinocembrin alleviates lipopolysaccharide-induced myocardial injury and cardiac dysfunction in rats by inhibiting the p38/JNK MAPK pathway. *Life Sciences*, 277, 119430.

Machado, J.L., Assunção, A.K.M., da Silva, M.C.P. et al. (2012). Brazilian green propolis: anti-inflammatory property by an immunomodulatory activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 157652.

Naramoto, K., Kato, M. and Ichihara, K., 2014. Effects of an ethanol extract of Brazilian green propolis on human cytochrome P450 enzyme activities in vitro. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(46), pp.11296-11302.

Özlem Alici, O., Arabaci, T., Kara, A. et al. (2015). Value of caffeic acid phenethyl ester pretreatment in an experimental sepsis model in rats. *Mediators of Inflammation*, 2015, 810948.

Pahlavani, N., Navashenag, J.G., Rezaei, M. et al. (2022). Effects of melatonin and propolis supplementation on inflammation, oxidative stress and clinical outcomes in patients with primary pneumosepsis: a randomized controlled clinical trial. *Antioxidants*, 11(11), 2204.

Queiroga, M.C., Fernandes, F.H.A., Silva, A.F. et al. (2023). Propolis and its potential against biofilms formed by staphylococci associated with small ruminant mastitis. *Veterinary Sciences*, 10(4), 246.

Reinhart, K., Daniels, R., Kissoon, N., Machado, F.R., Schachter, R.D. & Finfer, S. (2017). Recognizing sepsis as a global health priority – a WHO resolution. *New England Journal of Medicine*, 377(5), 414–417.

Rhodes, A., Evans, L.E., Alhazzani, W. et al. (2017). Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. *Intensive Care Medicine*, 43(3), 304–377.

Roquette, A.R., Monteiro, N.E.S., Moura, C.S. et al. (2015). Green propolis modulates gut microbiota, reduces endotoxemia and expression of the TLR4 pathway in mice fed a high-fat diet. *Food Research International*, 76, 796–803.

Rudd, K.E., Johnson, S.C., Agesa, K.M. et al. (2020). Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017. *The Lancet*, 395(10219), 200–211.

Sforcin, J.M. (2016). Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytotherapy Research*, 30(6), 894–905.

Sforcin, J.M. & Bankova, V. (2011). Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 253–260.

- Silveira, M.A.D., Capcha, J.M.C., Berretta, A.A. et al. (2021). Green propolis extract attenuates acute kidney injury and lung injury in a rat model of sepsis. *Scientific Reports*, 11, 5925.
- Singer, M., Deutschman, C.S., Seymour, C.W. et al. (2016). The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*, 315(8), 801–810.
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A. et al. (2018). Discovery, research and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318–327.
- Wang, K., Ping, S., Huang, S. et al. (2015). Polyphenol-rich propolis extracts from China and Brazil exert anti-inflammatory effects by modulating ubiquitination of TRAF6 during activation of NF- κ B. *Journal of Functional Foods*, 19, 464–478.
- Yang, Z., Liu, Y., Liao, J. et al. (2018). Chrysin attenuates carrageenan-induced pleurisy and lung injury via activation of the SIRT1/NRF2 pathway in rats. *European Journal of Pharmacology*, 837, 112–120.
- Zhang, W., Margarita, G.E., Wu, D. et al. (2022). Antibacterial activity of Chinese red propolis against *Staphylococcus aureus* and MRSA. *Molecules*, 27(5), 1693.

6. CAPÍTULO II

Artigo visa ser submetido a revista.

Journal of Ethnopharmacology

Link de Acesso: <https://www.sciencedirect.com/journal/journal-of-ethnopharmacology>

Qualis A1 Fator de impacto 5.4

Avaliação do potencial imunomodulador, antimicrobiano e anti-inflamatório de uma bebida do tipo kombucha a base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba no tratamento da sepse

Resumo / Abstract

Relevância etnofarmacológica: A kombucha é uma bebida fermentada tradicional conhecida por seus potenciais benefícios à saúde, incluindo propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias. A própolis vermelha amazônica e o mel de tiúba, amplamente utilizados na etnomedicina da Amazônia, são reconhecidos por seus efeitos imunomoduladores e terapêuticos. No entanto, o efeito sinérgico da kombucha desenvolvida a base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba sobre a sepse ainda não havia sido explorado. *Objetivo do estudo:* Investigar os efeitos imunomoduladores, antimicrobianos e anti-inflamatórios de uma bebida do tipo kombucha enriquecida com própolis vermelha amazônica e mel de tiúba em um modelo in vivo de sepse. *Materiais e métodos:* A bebida foi preparada por meio da fermentação da kombucha com própolis vermelha amazônica e mel de tiúba. Ensaios *in vitro* avaliaram sua citotoxicidade em macrófagos e a produção de óxido nítrico. A sepse foi induzida em camundongos, que foram posteriormente tratados com a bebida. Os efeitos foram avaliados por meio da quantificação da carga bacteriana peritoneal, análises hematológicas, contagem de células inflamatórias na medula óssea e peritônio, perfil de citocinas (IFN- γ , IL-2, IL-4, IL6, IL-10, IL-17A e TNF) e análise por citometria de fluxo das populações CD4⁺, CD4⁺CD3⁻ e CD11c⁺. *Resultados:* A formulação de kombucha apresentou baixa citotoxicidade e redução significativa da produção de óxido nítrico *in vitro*. O tratamento *in vivo* diminuiu expressivamente a carga bacteriana peritoneal e a celularidade inflamatória na medula óssea e no peritônio. Os parâmetros hematológicos indicaram redução nos leucócitos e granulócitos segmentados. A bebida aumentou os níveis de IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-10 e IL-17A, elevou linfócitos CD4⁺ e modulou as subpopulações CD4⁺CD3⁻ e CD11c⁺, sugerindo respostas imunes inata e adaptativa balanceadas. *Conclusões:* A kombucha desenvolvida a base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba demonstrou efeitos imunomoduladores, antimicrobianos e anti-inflamatórios multifatoriais em modelo de sepse, sugerindo seu potencial como terapia adjuvante na gestão da sepse.

Palavras Chaves: Sepse; Imunomodulação; Própolis vermelha amazônica; Kombucha,

1. Introdução

A sepse é uma síndrome potencialmente fatal resultante de uma resposta desregulada do hospedeiro à infecção, caracterizada por disfunção orgânica e, em casos mais graves, por choque séptico, representando um grave problema de saúde pública mundial. Estima-se que a sepse afete cerca de 49 milhões de pessoas anualmente, resultando em 11 milhões de mortes e sendo responsável por aproximadamente 20% dos óbitos globais, com taxas ainda mais elevadas em países de baixa e média renda (Singer et al., 2016; Levy et al., 2003; Hotchkiss et al., 2016; Rudd et al., 2020; Evans et al., 2021).

Além da elevada mortalidade, a sepse apresenta-se como um desafio crítico para os sistemas de saúde devido à crescente resistência antimicrobiana e aos custos hospitalares expressivos. O tratamento demanda cuidados intensivos prolongados, suporte ventilatório, intervenções cirúrgicas e longas permanências em Unidades de Terapia Intensiva, além de custos adicionais relacionados à reabilitação e cuidados de longo prazo, devido às frequentes sequelas físicas, cognitivas e emocionais dos pacientes (Paoli et al., 2018; Iwashyna et al., 2010; Fleischmann et al., 2016). Diante desse cenário, surge a necessidade de novas abordagens terapêuticas, alternativas e/ou complementares, capazes de mitigar a carga infecciosa, modular a resposta inflamatória exacerbada e reduzir os custos associados ao tratamento da sepse.

Nesse contexto, produtos naturais com propriedades imunomoduladoras, antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes têm sido amplamente investigados como alternativas promissoras para o tratamento adjuvante da sepse. Entre esses produtos, destaca-se a kombucha, bebida fermentada tradicionalmente obtida a partir do chá preto ou verde adoçado e fermentado por um consórcio simbiótico de bactérias e leveduras (SCOBY), que tem ganhado destaque devido à produção de compostos bioativos durante a fermentação, os quais apresentam potencial antimicrobiano e imunomodulador (Mendonça et al., 2020; Nyiew; Kwong; Yow, 2022). Estudos demonstram que a kombucha pode melhorar distúrbios da função imunológica em modelos experimentais de sepse, promover o crescimento de bactérias benéficas e exercer efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, especialmente quando associada a outros subprodutos naturais (Wang et al., 2021; Su et al., 2023).

Outro produto natural de relevância no contexto das terapias adjuvantes é a própolis, substância resinosa produzida por abelhas, cuja composição química varia conforme a origem botânica, mas que apresenta atividades antibacteriana e antifúngica (De Castro et al., 2011; Berretta et al., 2012; Zhang et al., 2022), antiviral (Berretta et al., 2020), antiparasitária (Dutra

et al., 2023), anti-inflamatória (Korish; Arafa., 2011) e antioxidante (Diniz et al., 2020; Rufato et al., 2017; Przybyłek et al., 2017). A própolis vermelha amazônica brasileira, recentemente caracterizada, destaca-se por sua rica composição em isoflavonóides e outros compostos fenólicos, conferindo-lhe propriedades funcionais relevantes (Dutra et al., 2023). Estudos *in vitro* demonstram que extratos de própolis não são citotóxicos e podem estimular a proliferação celular, além de apresentarem atividade antimicrobiana contra patógenos associados à sepse (Sforcin et al., 2011; Dos Santos Loiola et al., 2020).

Somando-se a esses produtos, o mel de abelhas sem ferrão, especialmente do gênero *Melipona*, também tem sido investigado por suas propriedades terapêuticas, destacando-se pelo elevado teor de compostos fenólicos e flavonoides, que contribuem para suas atividades antimicrobiana, antioxidante e imunomoduladora (Vit et al., 2013). Evidências recentes apontam que o mel pode exercer efeitos anti-inflamatórios e bactericidas em modelos de inflamação e sepse, além de atuar contra patógenos resistentes a antibióticos e fortalecer o sistema imunológico (Tsavea et al., 2022; Mandal e Mandal, 2011; Ahmed et al., 2023).

Apesar do amplo reconhecimento dos benefícios individuais da kombucha, própolis e mel, não há relatos na literatura sobre a investigação da associação sinérgica desses produtos, especialmente na forma de uma kombucha desenvolvida a base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba, como alternativa inovadora para o tratamento adjuvante da sepse. A combinação desses produtos pode potencializar os efeitos imunomoduladores, antimicrobianos, anti-inflamatórios e antioxidantes, criando uma nova abordagem funcional e promissora para a prevenção e o tratamento da sepse (Kowalski; Makarewicz, 2017). Assim, o presente estudo propôs investigar, de forma inédita, o efeito imunomodulador, antimicrobiano e anti-inflamatório de uma kombucha preparada com própolis vermelha amazônica e mel de tiúba frente a uma sepse subletal induzida *in vivo*.

2. Material e métodos

2.1 Kombucha a base de própolis vermelha e mel

O preparo da bebida do tipo kombucha à base de própolis e mel foi feito no laboratório de Química de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão no *Campus* de Imperatriz. Após o processo de preparação e fermentação, as bebidas foram armazenadas sob congelamento (-18 °C). O sobrenadante foi obtido por centrifugação a 8.000 rpm por 10 minutos a 4°C para posterior realização dos experimentos *in vitro* e *in vivo*.

2.2 Análises *in vitro*

2.2.1 Cultura de macrófagos RAW 264.7

Foram usados para os testes *in vitro* macrófagos da linhagem murina RAW 264.7 mantidos em garrafas de cultivo celular estéreis com meio RPMI-1640 contendo penicilina (100 µg/mL), estreptomicina (100 U/mL), anfotericina B (0,25 µg/mL) e suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB) em estufa a 5% de CO₂ e temperatura de 37 °C.

2.2.2 Ensaio de citotoxicidade

Um ensaio de MTT (brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio) foi realizado para avaliar a viabilidade das células expostas à bebida. Foram preparadas placas de 96 poços com uma suspensão de macrófagos RAW 264.7 com 10⁵ de células por poço e incubada por 2 horas para adesão dos macrófagos ao fundo da placa. A bebida foi então diluída em uma proporção de 1/1 em meio RPMI 1640 sendo uma parte utilizada pura e outra e em seguida foi diluída de forma seriada. As células foram incubadas com 100 µL das diluições (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) por 24 horas, em seguida o sobrenadante foi substituído por 90 µL de um novo meio e 10 µL de MTT, e incubadas novamente ao abrigo de luz por 3 horas. Após a incubação, o meio foi retirado com cuidado para não remover os cristais de formazan gerados pela metabolização do MTT por células vivas, e 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) adicionados como diluente. A placa foi levada para agitação por 10 minutos e a absorbância avaliada por espectrofotômetro a 540nm em leitor de microplaca da marca BioTek®.

2.2.3 Dosagem do Óxido Nítrico

Os macrófagos foram ativados através da incubação com 1 µg/mL de LPS. Uma suspensão de células foi preparada e distribuída em uma microplaca de 96 poços com 10⁵ de macrófagos por poço, e incubado por 2 horas para a adesão das células à placa. O sobrenadante das bebidas foi diluído de forma seriada (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) no meio RPMI-1640. As células foram então incubadas por 24 horas com 100 µL do meio com as diluições da bebida e 100µL de meio com LPS. Após a incubação, 50µL do sobrenadante de

cada um dos poços foi transferido para uma nova placa onde foi adicionado mais 50 µL do reagente de Griesse incubada por 10 minutos ao abrigo da luz. A leitura da absorbância foi realizada por espectrofotômetro a 540nm em leitor de microplaca BioTek®. Os valores obtidos foram analisados com base em uma curva de concentração preparada previamente seguindo a metodologia de Noh *et al.* (2022).

2.3 Experimentos *in vivo*

2.3.1 Animais

Para esse estudo foram usados, camundongos fêmeas Swiss (8 – 12 semanas de idade, pesando 25 g). Os animais foram obtidos do Biotério da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brazil, foram mantidos a $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e 40% – 60% de umidade relativa, sob um ciclo de luz-escuridão de 12 horas, com livre acesso a alimentos e água, durante todo o estudo. O presente estudo obedeceu às diretrizes institucionais e foi aprovado sob o número nº 23115.031277/2019-19, pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal do Maranhão.

2.3.2 Indução de sepse

A sepse polimicrobiana foi induzida pelo método de ligadura e perfuração cecal (CLP) descrito por Benjamim *et al.* (2000), com pequenas modificações. Todos os camundongos foram anestesiados por via intraperitoneal com uma solução anestésica contendo 100 mg/kg de cloridrato de cetamina e 10 mg/kg de cloridrato de xilazina. Foi realizada uma laparotomia, e o ceco foi mobilizado, ligado abaixo da válvula cecal e perfurado cinco vezes com uma agulha de calibre 18 para induzir sepse subletal (Ceron *et al.*, 2018; Rodrigues *et al.*, 2025). O ceco foi reposicionado na cavidade peritoneal e o abdômen fechado em duas camadas. Foi administrado salina (0,5 mL/10 g de peso corporal) subcutaneamente como fluido de hidratação.

2.3.3 Desenho experimental

Um total de cinco camundongos Swiss fêmeas foram aleatoriamente atribuídos a cada grupo experimental: sendo o grupo Sham (grupo controle), onde os camundongos foram

anestesiados e passaram por laparotomia sem ligadura e perfuração cecal; grupo CLP (Operado e não tratado), onde o ceco foi feito a ligadura e perfuração; e grupo KPM (Tratado com a bebida 15 dias e depois operado), onde os camundongos foram pré tratados via gavagem (Hoggatt et al., 2010) com solução de kombucha (200ul/dia adaptado Ponte et al., 2007) por 15 dias antes da indução da sepse. Foram realizadas avaliações de parâmetros celulares/imunológicos/funcionais. Amostras biológicas foram coletadas 24 horas após CLP, quando os camundongos foram eutanasiados com uma overdose de anestésico (150 mg/kg de cloridrato de cetamina e 120 mg/kg de cloridrato de xilazina) (Oliveira et al., 2019). Sangue, células e órgãos foram coletados para avaliar as propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e imunológicas (Sousa et al., 2019).

2.3.4 Avaliação de parâmetros hematológicos

Após a anestesia, amostras de sangue foram coletadas do plexo retro-orbital e transferidas para tubos plásticos cônicos contendo EDTA. Esfregaços sanguíneos foram preparados com 10 µL de sangue e corados utilizando o kit Instant-Prov (Newprov, Pinhais, Brasil). As lâminas foram examinadas em um microscópio óptico comum com aumento de 100×. A porcentagem das subpopulações celulares (contagem diferencial de leucócitos) foi calculada com base na contagem de 100 células. A contagem de hemácias (RBC), o volume corpuscular médio (MCV), a amplitude de distribuição das hemácias medida como coeficiente de variação (RDW-CV), a amplitude de distribuição das hemácias medida como desvio-padrão (RDW-SD), o hematócrito (HCT), a contagem de plaquetas (PLT), o volume plaquetário médio (MPV), a amplitude de distribuição plaquetária (PDW), o plaquetócrito (PCT) e a razão de plaquetas grandes (P-CSF) foram determinados utilizando o Hemogram® Hemacounter 60 (São Paulo, Brasil) (Rodrigues et al., 2025).

2.3.5 Determinação de unidades formadoras de colônias (CFU)

Para determinação de crescimento bacteriano foi feita a análise do líquido peritoneal, onde 10 µL do líquido foram usados para a quantificação. A amostra do líquido peritoneal foi diluída em série (10^2 CFU/mL) em 90 µL de PBS em cada poço de uma placa de 96 poços. Aliquotas (100 µL) da amostra foram dispostas em ágar Brain Heart Infusion (Difco Laboratories, Detroit) e semeadas usando alça de Drigalski. As CFUs da análise foram

contadas após incubação durante a noite a 37°C. Os resultados foram expressos como CFU/mL (Sousa et al., 2019).

2.3.6 Contagem de células do baço e da medula óssea

Após a eutanásia, o fêmur e o baço foram removidos. O fêmur foi perfundido com 1 mL de PBS para a obtenção das células da medula óssea. O baço foi lavado com 5 mL de PBS e macerado por meio de peneira de seda. As células foram coradas com violeta cristal a 0,05% (em ácido acético a 30%) e quantificadas utilizando-se câmara de Neubauer do tipo bright-line (Sigma–Aldrich), sob microscópio óptico convencional, com aumento de 400× (De Trovão et al., 2023).

2.3.7 Coleta e contagem de células peritoneais

As células peritoneais foram obtidas por meio da lavagem da cavidade peritoneal com 5 mL de PBS estéril, mantido em gelo. As células foram coradas com violeta cristal a 0,05% (em ácido acético a 30%) e quantificadas utilizando-se câmara de Neubauer do tipo bright-line (Sigma–Aldrich), sob microscópio óptico convencional, com aumento de 400× (De Trovão et al., 2023).

2.3.8 Quantificação de citocinas

A quantificação de citocinas séricas foi realizada através do kit BD™ Cytometric Bead Array (CBA), Mouse Th1/Th2/Th17, Número do Catálogo nº 560485, para a detecção de interleucina-2 (IL-2), interleucina-4 (IL-4), interleucina-6 (IL-6), Interferon gama (IFN- γ), Fator de Necrose Tumoral (TNF- α), interleucina-17A (IL-17A), e interleucina 10 (IL-10) de acordo com as normas do fabricante. Após a leitura no FACSCalibur (Becton Dickinson, USA) dos padrões e das amostras, os níveis de citocinas foram expressos em pg/mL após análise no software FCAP ARRAY Versão 3.0 (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA).

2.4 Análises estatísticas

Os resultados foram expressos como médias e desvio padrão. A normalidade dos dados foi avaliada usando o teste de D’Agostino–Pearson. A análise estatística foi realizada

usando ANOVA (testes post hoc: Tukey) usando o software GraphPad Prism versão 5.0. Diferenças serão consideradas estatisticamente significativas em $p < 0,05$. Todos os experimentos foram repetidos pelo menos duas vezes.

3. Resultados

3.1. Avaliação Citotóxica In Vitro

A viabilidade celular dos macrófagos RAW 264.7 expostos à bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel foi avaliada pelo ensaio de MTT. Observou-se que, nas diluições de 1:32, 1:16 e 1:8, não houve citotoxicidade significativa, promovendo a viabilidade celular acima de 100% em relação ao controle. Apenas nas maiores concentrações (1:4 e 1:2) houve redução significativa da viabilidade, indicando segurança do uso experimental nas concentrações mais baixas conforme figura 1.

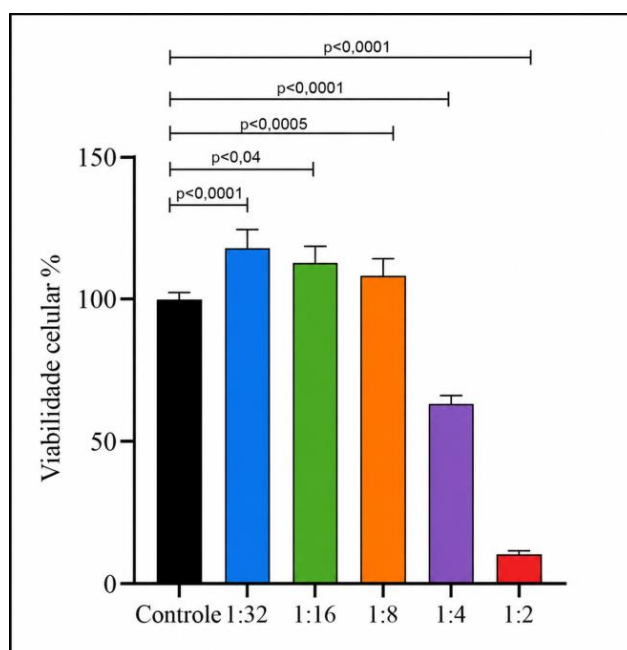


Figura 1 – Avaliação da viabilidade celular após exposição a diferentes concentrações da bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba. O gráfico apresenta a porcentagem de viabilidade celular nos grupos Controle e nas diluições 1:32, 1:16, 1:8, 1:4 e 1:2. Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey. Diferenças estatísticas foram consideradas significativas para $p < 0,05$, conforme indicado nas barras superiores.

3.2. Atividade Anti-inflamatória In Vitro

A produção de óxido nítrico (NO) pelos macrófagos ativados com LPS foi

significativamente reduzida em todas as diluições testadas da bebida, em comparação ao controle. Na análise de 0 horas (figura 2) a maior inibição foi observada nas diluições 1:8 e 1:4, sugerindo potente efeito anti-inflamatório.

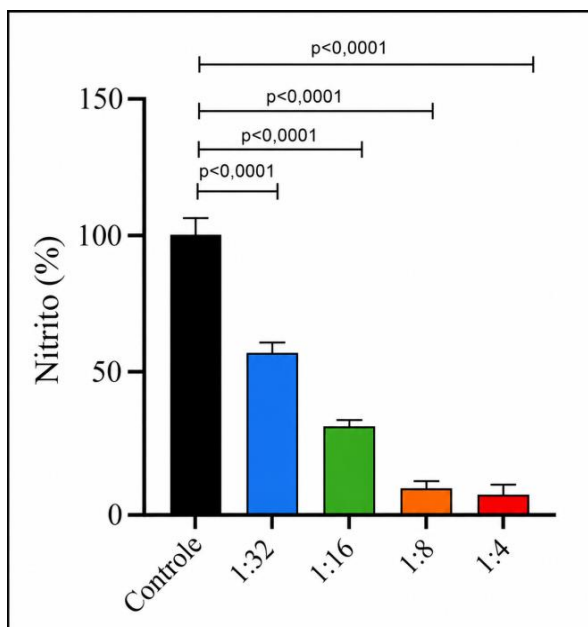


Figura 2 – Efeito da bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba sobre a produção de nitrito. O gráfico apresenta a porcentagem de nitrito nos grupos Controle e nas diferentes diluições da bebida (1/32, 1/16, 1/8 e 1/4). Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey. Observa-se redução significativa na produção de nitrito em todas as concentrações testadas em relação ao controle, com $p < 0,0001$.

Já na análise de 24 horas (Figura 3), a redução foi ainda mais expressiva em todas as diluições comparadas ao controle.

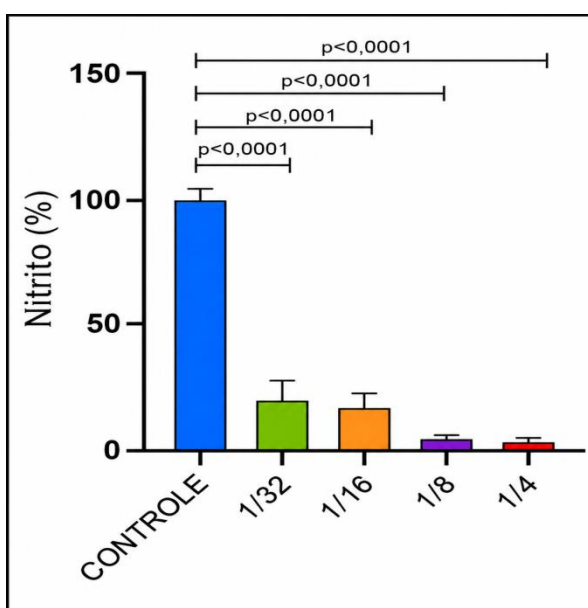


Figura 3 – Efeito da bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba sobre

a produção de nitrito após 24 horas de exposição. O gráfico apresenta a porcentagem de nitrito nos grupos Controle e nas diluições 1:32, 1:16, 1:8 e 1:4. Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey. Observa-se uma redução significativa na produção de nitrito em todas as concentrações testadas em comparação ao controle, com $p < 0,0001$.

3.3. Alterações Hematológicas

O tratamento com KPM reduziu significativamente ($p < 0,01$) a contagem de leucócitos totais em comparação ao CLP. Além disso, o tratamento com KPM aumentou a população de células segmentadas em comparação aos grupos SHAM ($p < 0,002$) e CLP ($p < 0,01$) (Figura 4). Os demais parâmetros não apresentaram diferença estatística entre os grupos.

Tabela 1. Parâmetros hematológicos em amostras sanguíneas de camundongos

	SHAM	CLP	KPM
Parâmetros Hematológicos	MÉD $\pm$ DP	MÉD $\pm$ DP	MÉD $\pm$ DP
WBC (10 ⁶ / μ L)	2,70 $\pm$ 1,13	4,53 $\pm$ 0,45*	2,56 $\pm$ 1,50
RBC (10 ⁶ / μ L)	4,84 $\pm$ 0,18	5,56 $\pm$ 0,46	5,18 $\pm$ 0,84
HBG (g/dL)	13,9 $\pm$ 0,56	13,7 $\pm$ 0,36	14,03 $\pm$ 0,76
HCT (%)	42,2 $\pm$ 1,13	42,07 $\pm$ 1,55	44,67 $\pm$ 3,23
MCV (fL)	47,8 $\pm$ 2,26	49,13 $\pm$ 0,92	48,7 $\pm$ 1,37
MCH (pg)	15,75 $\pm$ 0,91	16,00 $\pm$ 0,55	16,4 $\pm$ 0,85
MCHC (g/dL)	32,95 $\pm$ 0,49	32,57 $\pm$ 0,58	33,67 $\pm$ 0,81
PLT (10 ³ / μ L)	850,00 $\pm$ 24,7	780,00 $\pm$ 31,9	750,00 $\pm$ 19,0
RDWCV (%)	14,40 $\pm$ 0,28	13,87 $\pm$ 0,55	13,60 $\pm$ 0,43
RDWSD (fL)	27,55 $\pm$ 0,77	27,27 $\pm$ 1,51	26,50 $\pm$ 1,05
PCT (%)	0,56 $\pm$ 0,01	0,53 $\pm$ 0,03	0,52 $\pm$ 0,01
MPV (fL)	4,80 $\pm$ 0,00	4,83 $\pm$ 0,15	4,66 $\pm$ 0,15
PDW (%)	21,30 $\pm$ 0,00	21,9 $\pm$ 0,52	21,10 $\pm$ 0,43

SHAM: grupo controle; CLP: Grupo operado sem tratamento; KPM Grupo operado tratado com a bebida; WBC: contagem de glóbulos brancos; RBC: Contagem de Glóbulos Vermelhos; HBG: hemoglobina ; HCT: Hematócrito; MCV: Volume Corpuscular Médio; MCH: hemoglobina corpuscular média ; MCHC: concentração de hemoglobina corpuscular média ; PLT: Contagem de Plaquetas; RDW-CV: Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos medida como Coeficiente de Variação; RDW-SD: Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos medida como Desvio Padrão; PCT: Plaquetócrito; MPV: Volume Plaquetário Médio; PDW: Amplitude de Distribuição Plaquetária. Utilizou-se os testes estatísticos ANOVA seguido de pós teste Tukey's onde * mostra as diferenças significativas. Os dados representam a média $\pm$ SD adotando $p < 0,05$ como significância.

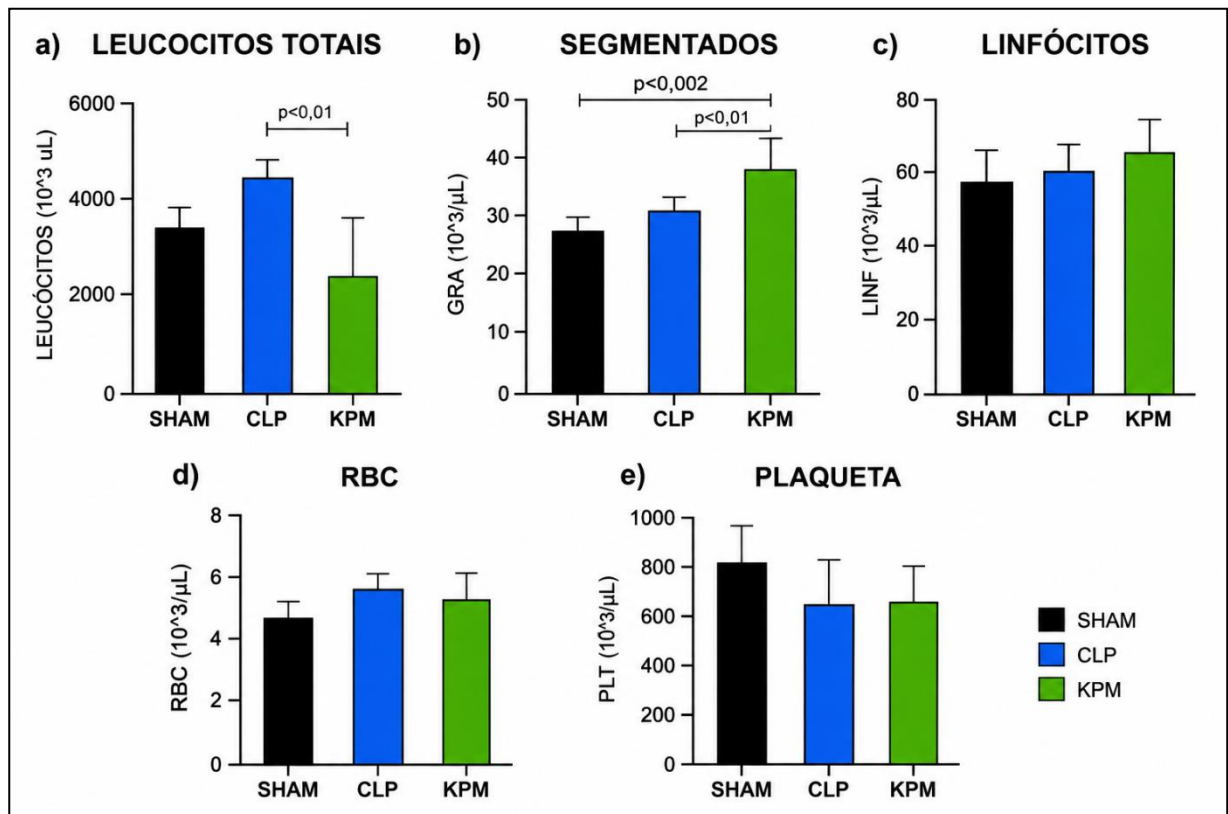


Figura 4 – Avaliação dos efeitos da bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba sobre parâmetros hematológicos. (a) Leucócitos Totais: Elevação significativa no grupo CLP, com redução no grupo KPM ($p < 0,01$). **(b) Segmentados:** Aumento significativo de granulócitos segmentados no grupo KPM em relação ao SHAM e CLP ($p < 0,002$ e $p < 0,01$). **(c) Linfócitos (LINE):** Não houve diferença significativa entre os grupos. **(d) Eritrócitos (RBC):** Não houve diferença significativa entre os grupos. **(e) Plaquetas (PLT):** Não houve diferença significativa entre os grupos. Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey. Diferenças estatísticas consideradas significativas estão indicadas nos gráficos individuais.

3.4. Avaliação das unidades formadoras de colônia (UFC) no lavado peritoneal.

O grupo tratado (KPM) apresentou potencial antimicrobiano *in vivo* significativo, evidenciado pela redução da carga bacteriana peritoneal (CFU) em comparação ao grupo CLP (Figura 5).

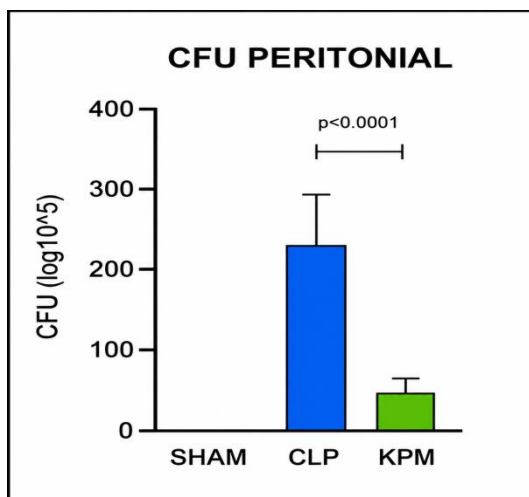


Figura 5 – Avaliação dos efeitos da bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba sobre a carga bacteriana em modelo experimental de sepse. CFU Peritoneal: Redução significativa das unidades formadoras de colônia (CFU) no lavado peritoneal do grupo KPM em relação ao grupo CLP ($p < 0,0001$). Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey. Diferenças estatísticas consideradas significativas estão indicadas nos gráficos individuais.

3.5. Alterações na celularidade do lavado peritoneal, baço e medula óssea

O tratamento com KPM apresentou aumento significativo no número de células no lavado peritoneal quando comparado ao SHAM ($p < 0,007$) e CLP ($p < 0,02$), e no baço em relação ao SHAM ($p < 0,01$). Além disso, houve uma redução no número de células na medula óssea no grupo KPM em comparação ao CLP ($p < 0,0001$) (figura 6).

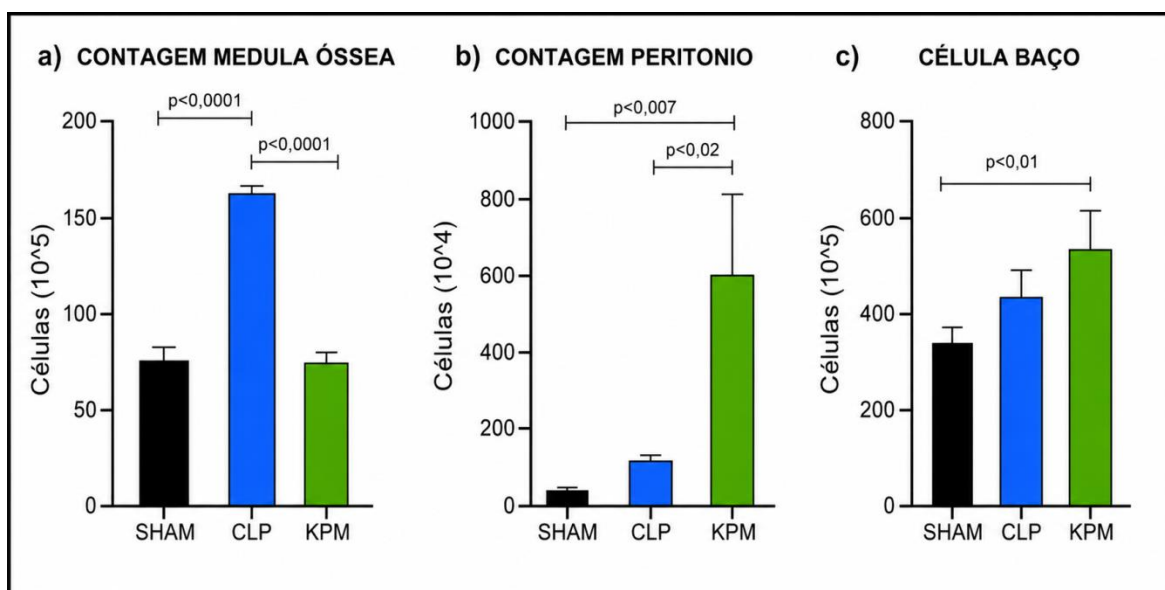


Figura 6 – Avaliação dos efeitos da bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba sobre células em modelo experimental de sepse. (a) Contagem Medula Óssea: Aumento significativo da contagem de células na medula óssea no grupo CLP, com redução no grupo KPM ($p < 0,0001$). **(b) Células Baço:** Aumento significativo na contagem de células do baço no grupo KPM em comparação com o

grupo SHAM ($p < 0,01$). **(c) Contagem Peritônio:** Aumento significativo de células no lavado peritoneal do grupo KPM, com redução no grupo CLP ($p < 0,02$). Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey. Diferenças estatísticas consideradas significativas estão indicadas nos gráficos individuais.

3.4. Perfil de Citocinas *in vivo*

A análise dos níveis séricos de citocinas inflamatórias demonstrou que o tratamento com a bebida (grupo KPM) resultou em aumento significativo de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6) em comparação ao SHAM e elevação das citocinas reguladoras (IL-10) em relação ao grupo CLP. Houve também elevação das citocinas (IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-17A), indicando uma modulação imunológica favorável (Figura 7).

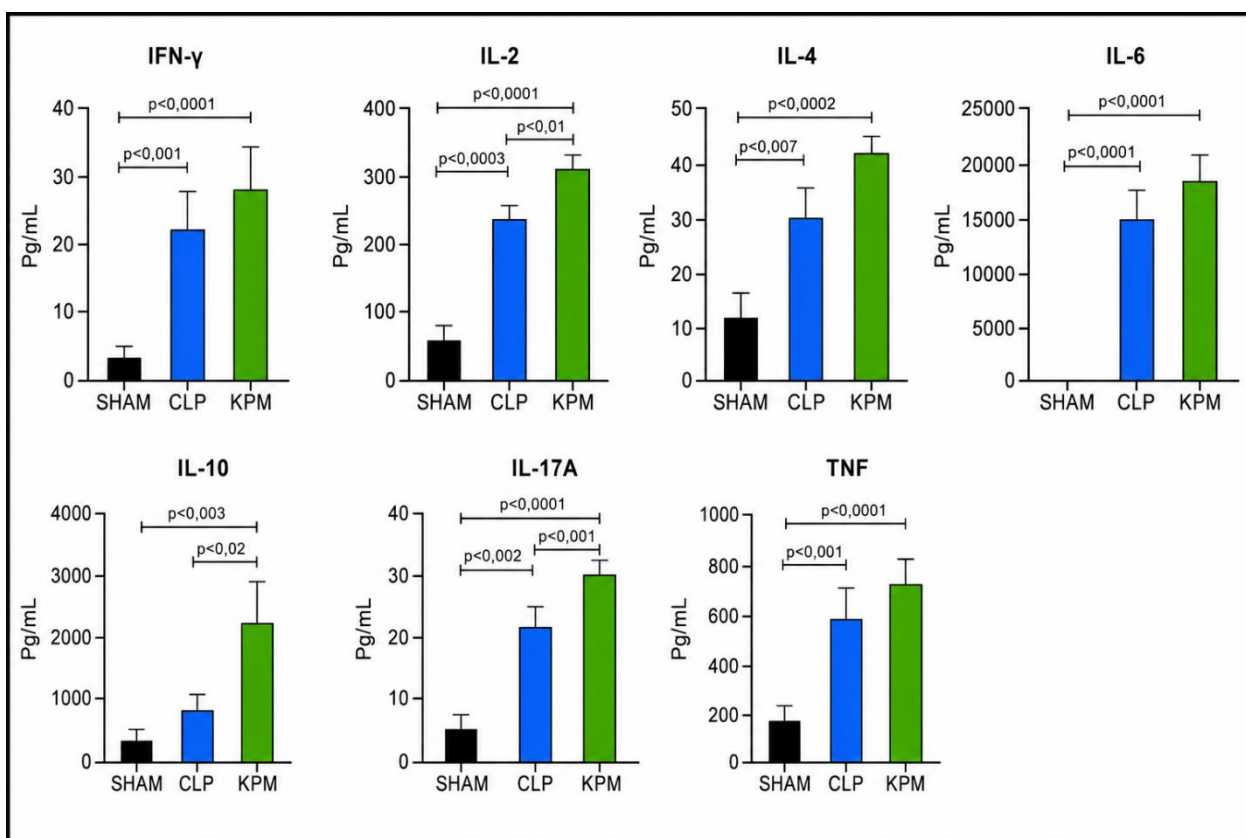


Figura 7 – Perfil de citocinas inflamatórias em modelo experimental de sepse após tratamento com bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba. Níveis séricos das citocinas IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A e TNF nos grupos SHAM, CLP e KPM. Observa-se aumento significativo das concentrações de todas as citocinas analisadas nos grupos CLP e KPM em comparação ao grupo SHAM, com destaque para elevações adicionais no grupo KPM em relação ao CLP. Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, sendo consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$, conforme indicado nos gráficos individuais.

3.5. Perfil de Linfócitos T (CD3+, CD4+) no baço

A análise dos linfócitos T demonstrou que o grupo tratado com kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel (KPM) apresentou alterações significativas em relação aos grupos controle (SHAM) e operado (CLP). No CD3 (MFI) Total, não houve diferença estatística significativa entre os grupos, indicando que a expressão global de CD3+ permaneceu estável. Já CD4 (MFI) Total, apresentou aumento significativo na expressão de CD4+ no grupo KPM em relação ao grupo SHAM ($p < 0,05$), sugerindo potencial efeito imunomodulador na ativação de linfócitos T auxiliares. Em CD4+ CD3+ (%) foi observado uma redução significativa no grupo CLP em relação ao SHAM ($p < 0,004$), enquanto o grupo KPM apresentou tendência de recuperação desses linfócitos. CD4+ CD3- (%) o grupo CLP apresentou aumento significativo dessa população em relação ao SHAM ($p < 0,001$), enquanto o KPM reduziu significativamente em relação ao CLP ($p < 0,001$), indicando modulação da resposta imune. CD4- CD3+ (%) e CD4- CD3- (%), não foram observadas diferenças estatísticas relevantes entre os grupos (figura 8).

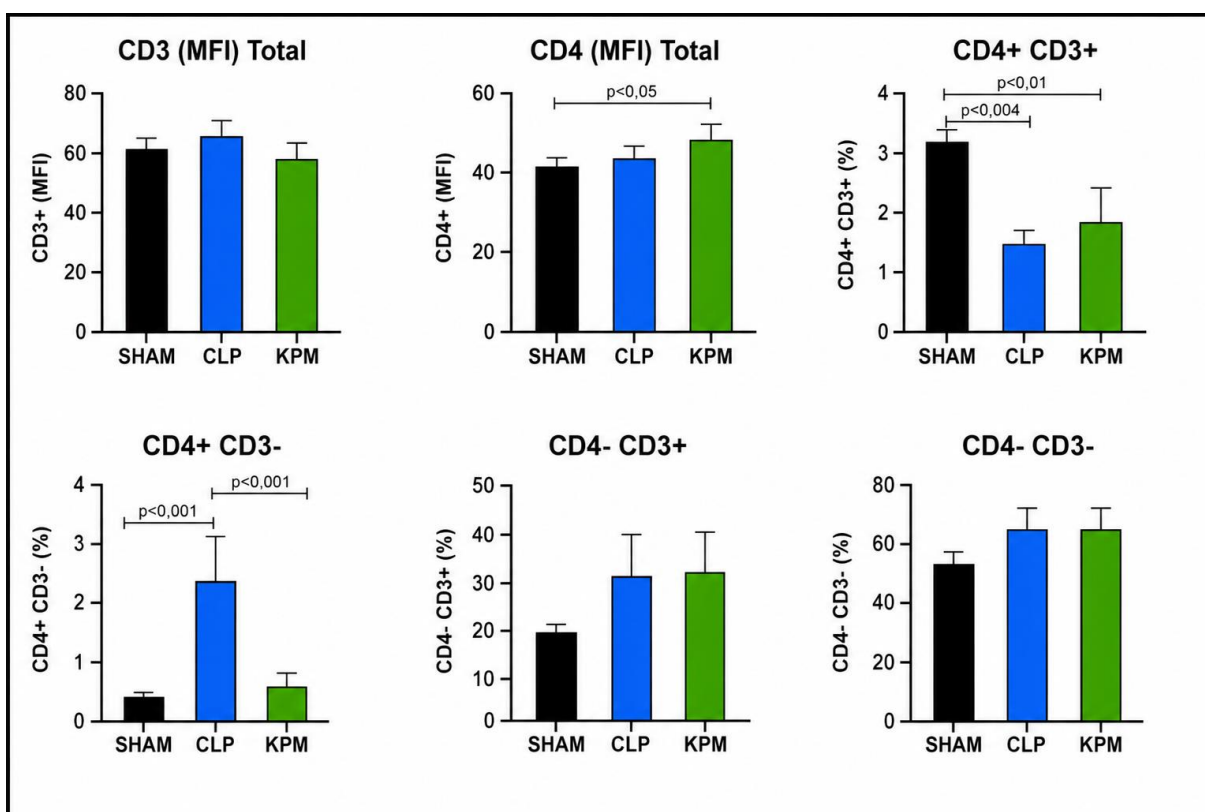


Figura 8 – Perfil de subpopulações linfocitárias CD3⁺ e CD4⁺ em modelo experimental de sepse após tratamento com bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba. **CD3 (MFI) Total:** Não houve diferença significativa entre os grupos SHAM, CLP e KPM na intensidade média de fluorescência (MFI) de CD3⁺. **CD4 (MFI) Total:** Observou-se aumento significativo da expressão de CD4 (MFI) no grupo KPM em relação ao grupo SHAM ($p < 0,05$). **CD4⁺CD3⁺ (%):** Houve redução significativa da porcentagem de células CD4⁺CD3⁺ no grupo CLP em comparação ao grupo SHAM ($p < 0,01$), com aumento parcial no grupo KPM ($p < 0,004$). **CD4⁺CD3⁻ (%):** O grupo CLP apresentou aumento significativo na

frequência de células $CD4^+CD3^-$ em relação ao grupo SHAM ($p < 0,001$), enquanto o grupo KPM apresentou redução significativa em relação ao CLP ($p < 0,001$). **$CD4^+CD3^+$ (%) e $CD4^+CD3^-$ (%)**: Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos para essas subpopulações. Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas por ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, sendo consideradas diferenças estatisticamente significativas para $p < 0,05$, conforme indicado nos gráficos individuais.

3.6. Perfil de Células Dendríticas ($CD11c^+$)

$CD11c^+$ (%) o grupo KPM apresentou redução significativa na porcentagem de células $CD11c^+$ em relação aos grupos SHAM e CLP ($p < 0,005$ e $p < 0,01$, respectivamente), sugerindo possível regulação da resposta imune inata. $CD11c^+$ (MFI) não houve diferença estatística significativa entre os grupos, indicando que a intensidade de expressão do marcador permaneceu estável (Figura 9).

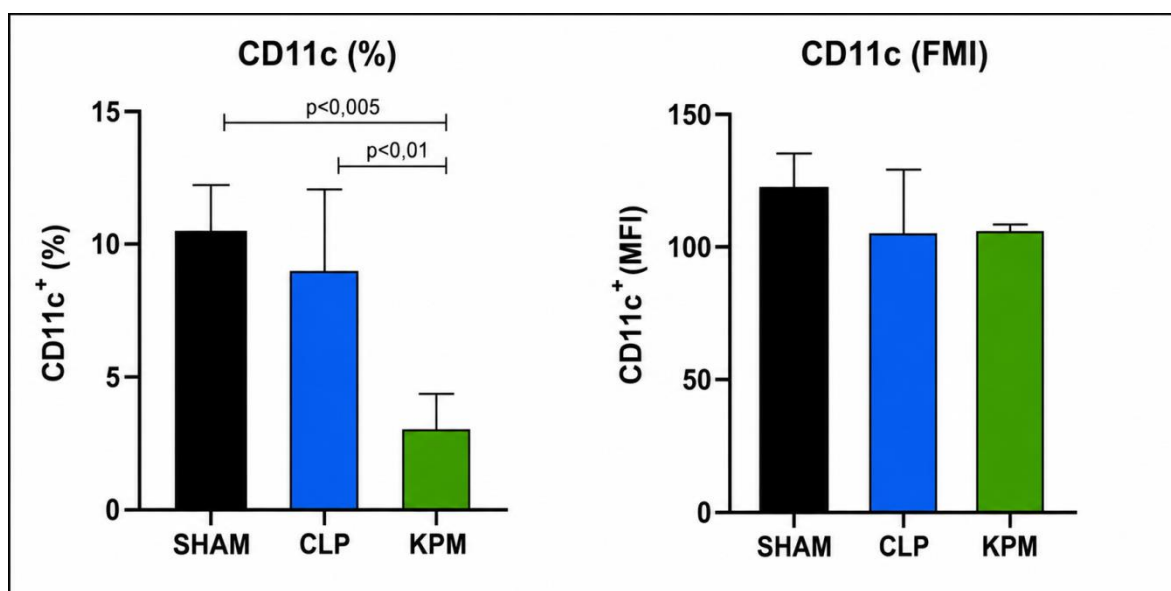


Figura 9 – Perfil de células $CD11c^+$ em modelo experimental de sepse após tratamento com bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba. $CD11c^+$ (%): Observa-se redução significativa na porcentagem de células $CD11c^+$ no grupo KPM em comparação aos grupos SHAM ($p < 0,005$) e CLP ($p < 0,01$). $CD11c^+$ (MFI): Não foram observadas diferenças significativas na intensidade média de fluorescência (MFI) de $CD11c^+$ entre os grupos SHAM, CLP e KPM. Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, sendo consideradas diferenças estatisticamente significativas para $p < 0,05$, conforme indicado nos gráficos individuais.

4. Discussão

Os resultados deste estudo evidenciam que a bebida do tipo kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba apresenta um perfil multifuncional, atuando de forma significativa sobre parâmetros imunológicos, antimicrobianos e anti-inflamatórios em modelo experimental de sepse. A robustez desses achados fundamenta-se na complexa

composição química da própolis vermelha, caracterizada pela presença de marcadores biológicos como formononetina, biochanina A e liquiritigenina. É importante destacar que a própolis vermelha produzida na região amazônica compartilha uma composição química e botânica muito semelhante à encontrada no Nordeste brasileiro, o que justifica a correlação de dados entre ambas as regiões.

Inicialmente, a avaliação citotóxica *in vitro* demonstrou que a formulação é segura para uso experimental, uma vez que não apresentou toxicidade relevante em macrófagos RAW 264.7 nas diluições mais baixas. Esses achados corroboram estudos recentes, como o de Su et al. (2023), que demonstraram a ausência de citotoxicidade significativa em diferentes tipos de kombucha, e o de Dutra et al. (2023), que relataram baixa toxicidade de extratos de própolis vermelha amazônica em modelos celulares. A segurança biológica deste produto é reforçada por avaliações toxicológicas e de genotoxicidade em modelos pré-clínicos de roedores, os quais demonstram que a ingestão oral da própolis vermelha não induz danos ao DNA ou toxicidade sistêmica significativa (ALDANA-MEJÍA et al., 2023), confirmando o potencial de uso seguro em produtos de ingestão oral. Além disso, Oliveira et al. (2023) reforçam a segurança do uso de produtos naturais como própolis em concentrações não citotóxicas, ampliando a aplicabilidade clínica dessas substâncias.

Na atividade anti-inflamatória, a bebida promoveu redução expressiva da produção de óxido nítrico (NO) por macrófagos ativados, tanto em 0 horas quanto após 24 horas de exposição. Este efeito é consistente com a literatura sobre kombucha e própolis, cujos compostos fenólicos e flavonoides são reconhecidos pela capacidade de modular a expressão de enzimas pró-inflamatórias, como a iNOS, e de suprimir a produção de NO (Su et al., 2023; Wang et al., 2021). Estudos recentes também demonstram que a fermentação potencializa a atividade anti-inflamatória da kombucha, aumentando a concentração de metabólitos bioativos (Sornkayasit et al., 2024). O mel, por sua vez, apresenta efeito anti-inflamatório comprovado, mediado por sua riqueza em compostos fenólicos e pela capacidade de modular vias como NF- κ B, reduzindo a expressão de citocinas inflamatórias (Romário-Silva et al., 2022; Barazesh et al., 2025).

A atividade antimicrobiana *in vivo* foi evidenciada pela redução significativa da carga bacteriana peritoneal (CFU) nos animais tratados. Essa ação antibacteriana direta é uma característica marcante da própolis vermelha amazônica, que tem sido descrita como um recurso sustentável eficaz inclusive na síntese verde de nanopartículas de prata com alto potencial bactericida frente a patógenos Gram-positivos e Gram-negativos (Santos et al., 2025). Kombuchas de diferentes substratos têm demonstrado potente ação antibacteriana,

atribuída à presença de ácidos orgânicos, polifenóis e outros metabólitos gerados durante a fermentação (Anantachoke et al., 2023; Liu et al., 2022). Da mesma forma, a própolis é amplamente reconhecida por sua atividade antimicrobiana contra patógenos associados à sepse, como demonstrado por Przybyłek & Karpiński (2019) e por estudos com o extrato padronizado EPP-AF® (Garbis et al., 2024). O mel também apresenta efeito bactericida e antibiofilme, inclusive frente a cepas resistentes (Ahmed et al., 2023; Nagy-Radványi et al., 2024).

No que tange à modulação da resposta inflamatória sistêmica, a bebida não mostrou alteração significativa nos níveis de citocinas TNF- α , IL-6, IFN- γ e IL-4 entre os grupos KPM e CLP, mas teve diferença significativa entre esses grupos em IL-2, IL-10 e IL-17A. Esses resultados encontram respaldo em trabalhos recentes sobre própolis, que demonstram redução de marcadores inflamatórios e aumento de IL-10 (Hou et al., 2025; Korish & Arafa, 2011; Abo-Zaid, 2024). Kombucha também tem sido associada à supressão de TNF- α e IL-6 e à promoção de citocinas adaptativas, potencializando a resposta imune e reduzindo danos teciduais (Su et al., 2024; Liu et al., 2021). O mel, por sua vez, é reconhecido por estimular tanto a imunidade inata quanto adaptativa, promovendo equilíbrio entre respostas pró e anti-inflamatórias (Barazesh et al., 2025; Majtan, 2014).

A análise das subpopulações linfocitárias revelou elevação de linfócitos CD4⁺, além de modulação das subpopulações CD4⁺CD3⁻ e CD11c⁺, sugerindo efeito positivo sobre a resposta imune adaptativa e inata. A relevância da expressão de CD11c em neutrófilos e células dendríticas tem sido discutida por Hou et al. (2025), que associam sua regulação à maturação e funcionalidade dessas células na sepse. Nesse sentido, a redução da porcentagem de CD11c⁺ pode refletir uma regulação positiva da inflamação exacerbada. Kombucha fermentada com cúrcuma foi capaz de restaurar a homeostase imune via ativação de células T auxiliares e regulação de linfócitos em sepse (Su et al., 2024). O mel, por sua vez, contribui para a proliferação e diferenciação de linfócitos T e B, além de favorecer a modulação da resposta inflamatória crônica (Ahmed et al., 2023).

O estudo conduzido por Orsi e Sforzin (2000), demonstrou que a própolis apresenta efeito imunomodulador significativo, promovendo alterações na atividade funcional de células esplênicas, incluindo linfócitos e macrófagos, em modelo murino. Os autores observaram modulação da resposta imune celular associada ao baço, evidenciando o potencial da própolis em influenciar a dinâmica imunológica sistêmica. De forma semelhante, em nossa pesquisa, conforme ilustrado no gráfico, verificou-se aumento significativo da celularidade esplênica no grupo KPM em comparação ao grupo SHAM ($p < 0,01$), indicando expansão

quantitativa das células do baço após o tratamento. Enquanto Orsi e Sforcin (2000) enfatizam principalmente a modulação funcional das células esplênicas, os dados obtidos em nosso estudo evidenciam aumento no número total de células (10^5), sugerindo que o efeito imunomodulador pode envolver tanto ativação funcional quanto expansão celular. Assim, os resultados encontrados corroboram a literatura e reforçam o potencial da própolis como agente modulador da resposta imune esplênica.

Por fim, a sinergia entre os componentes naturais da formulação parece atuar por múltiplos mecanismos complementares: supressão de vias inflamatórias (NF- κ B, iNOS), regulação do sistema antioxidante, indução de citocinas imunomoduladoras e reequilíbrio de subpopulações imunes. A composição química peculiar da própolis vermelha amazônica, aliada à segurança toxicológica comprovada (ALDANA-MEJÍA et al., 2023) e à sua eficácia antibacteriana (Santos et al., 2025), confere à bebida um potencial significativo como adjuvante terapêutico em infecções sistêmicas como a sepse.

5. Conclusão

A formulação de kombucha à base de própolis vermelha amazônica e mel de tiúba demonstrou efeito imunomodulador promissor, com melhora da resposta imune adaptativa e controle da inflamação em modelo de sepse. Os efeitos foram evidenciados por aumento de células T auxiliares, redução de óxido nítrico e perfil equilibrado de citocinas pró e anti-inflamatórias.

A ausência de citotoxicidade nas concentrações mais diluídas e a resposta imune mais eficaz sugerem que a bebida possui segurança e potencial terapêutico. A sinergia da kombucha desenvolvida com própolis e mel pode representar uma nova estratégia adjuvante contra sepse, necessitando validação em estudos clínicos futuros.

Declaração de Interesse

Os autores declaram que não há conflito de interesse.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – A rede FitoAmazonia, bem como a Universidade Federal

do Maranhão (UFMA) pela disposição dos laboratórios para realização das pesquisas.

Referências

AHMED, A. *et al.* Effect of honey on cardiometabolic risk factors: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews*, v. 81, n. 7, p. 758–774, 2023.

BENJAMIM, C. F.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q. Role of nitric oxide in the failure of neutrophil migration in sepsis. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 182, n. 1, p. 214–223, 2000.

BARAZESH, P. *et al.* Unlocking the healing potential: a comprehensive review of ecology and biology of medical-grade honey in wound management and tissue regeneration. *Health Science Reports*, v. 8, n. 1, p. e70240, 2025.

CECONI, M. *et al.* Sepsis and septic shock. *The Lancet*, v. 392, n. 10141, p. 75–87, 2018.

CERON, C. S.; VALE, G. T.; SIMPLICIO, J. A. *et al.* Chronic ethanol consumption increases vascular oxidative stress and the mortality induced by sub-lethal sepsis: potential role of iNOS. *European Journal of Pharmacology*, v. 825, p. 39–47, 2018.

DEĞİRMENCIOĞLU, N. *et al.* Fermentasyon süresinin kombu çayı mikrobiyotası ve canlılık oranları üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, v. 17, n. 2, p. 200–211, 2019.

TROVÃO, L. O. *et al.* The immunomodulatory activity of *Punica granatum* L. peel extract increases the lifespan of mice with lethal sepsis. *Journal of Immunology Research*, v. 2023, p. 2868707, 2023.

DOS SANTOS LOIOLA, N.; ETHUR, E. M.; WEBER, A. C. Atividade antimicrobiana in vitro de extrato etanólico de própolis da abelha *Scaptotrigona aff.* *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, v. 11, n. 6, p. 614–622, 2020.

DUTRA, R. P. *et al.* Brazilian Amazon red propolis: leishmanicidal activity and chemical composition of a new variety of red propolis. *Metabolites*, v. 13, n. 9, p. 1027, 2023.

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.

EVANS, L. *et al.* Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Medicine*, v. 47, p. 1181–1247, 2021.

FLEISCHMANN, C. *et al.* Hospital incidence and mortality rates of sepsis: an analysis of hospital episode statistics in Germany from 2007 to 2013. *Deutsches Ärzteblatt International*, v. 113, n. 10, p. 159, 2016.

GARBIS, D. V. O. *et al.* Prophylactic use of standardized extract of propolis of *Apis mellifera* (EPP-AF®) reduces lung inflammation and improves survival in experimental lethal sepsis. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 331, p. 118294, 2024.

HOTCHKISS, R. S. *et al.* Sepsis e choque séptico. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 2, n. 1, p. 1–21, 2016.

HOGGATT, A. F.; HOGGATT, J.; HONERLAW, M.; PELUS, L. M. A spoonful of sugar helps the medicine go down: a novel technique to improve oral gavage in mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, v. 49, n. 3, p. 329–334, 2010.

HOU, L.; KOUTSOGIANNAKI, S.; YUKI, K. Multifaceted, unique role of CD11c in leukocyte biology. *Frontiers in Immunology*, v. 16, p. 1556992, 2025.

IWASHYNA, T. J. *et al.* Long-term cognitive impairment and functional disability among survivors of severe sepsis. *JAMA*, v. 304, n. 16, p. 1787–1794, 2010.

KORISH, A. A.; ARAFA, M. M. Propolis derivatives inhibit the systemic inflammatory response and protect hepatic and neuronal cells in acute septic shock. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 15, n. 4, p. 332–338, 2011.

KOWALSKI, S.; MAKAREWICZ, M. Functional properties of honey supplemented with bee bread and propolis. *Natural Product Research*, v. 31, n. 22, p. 2680–2683, 2017.

KUMAR, P. *et al.* Insecticidal properties of *Mentha* species: a review. *Industrial Crops and Products*, v. 34, n. 1, p. 802–817, 2011.

LEVY, M. M. *et al.* 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference. *Critical Care Medicine*, v. 31, n. 4, p. 1250–1256, 2003.

LIMA, C. H. B. *et al.* Mel de tiúba (*Melipona fasciculata*). *Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro*, v. 2, n. 1, p. 58–79, 2024.

LIU, C. *et al.* Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from fermented vegetables in Shaanxi, China. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, p. 774903, 2022.

LIU, Y. *et al.* Functional properties and sensory characteristics of kombucha analogs prepared with alternative materials. *Trends in Food Science & Technology*, v. 129, p. 608–616, 2022.

MAJTAN, J. *et al.* Fir honeydew honey flavonoids inhibit TNF- α -induced MMP-9 expression in human keratinocytes. *Archives of Dermatological Research*, v. 305, p. 619–627, 2013.

MANDAL, M. D.; MANDAL, S. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 1, p. 154–160, 2011.

MENDONÇA, G. R. *et al.* Propriedades antioxidantes e efeitos antimicrobianos da kombucha: revisão da evidência científica. *Revista Contexto & Saúde*, v. 20, n. 40, p. 244–251, 2020.

NAGY-RADVÁNYI, L. *et al.* Antibacterial activity of Hungarian varietal honeys against respiratory pathogens as a function of storage time. *Scientific Reports*, v. 14, n. 1, p. 10200, 2024.

NEMZEK, J. A.; XIAO, H. Y.; MINARD, A. E.; BOLGOS, G. L.; REMICK, D. G. Humane endpoints in shock research. *Shock*, v. 21, n. 1, p. 17–25, 2004.

NOH, Hye-Ji et al. Immunostimulatory effect of heat-killed probiotics on RAW264. 7 macrophages. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 32, n. 5, p. 638, 2022.

NYIEW, K. Y.; KWONG, P. J.; YOW, Y. Y. An overview of antimicrobial properties of kombucha. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 21, n. 2, p. 1024–1053, 2022.

OLIVEIRA JÚNIOR, J. B. et al. In vitro activity of riparin III in combination with antimicrobials against multidrug-resistant clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter baumannii*. *Phytomedicine Plus*, p. 100414, 2023.

ORSI, R. O.; SFORCIN, J. M. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, v. 6, n. 2, p. 205–219, 2000.

PAOLI, C. J. et al. Epidemiology and costs of sepsis in the United States. *Critical Care Medicine*, v. 46, n. 12, p. 1889–1897, 2018.

PONTE, F. L. R.; SILVA, A. A. R.; MAIA, M. B. S. Preclinical toxicity study of the phytomedicine – bee honey, propolis and *Mikania glomerata* extract in rodents. *Pharmacognosy Magazine*, v. 3, n. 12, p. 204–212, 2007.

PRZYBYŁEK, I.; KARPÍŃSKI, T. M. Antibacterial properties of propolis. *Molecules*, v. 24, n. 11, p. 2047, 2019.

RODRIGUES, L. D. S. et al. Antimicrobial and immunomodulatory effects of punicalagin and meropenem in a murine model of sublethal sepsis. *Antibiotics*, v. 14, n. 7, p. 626, 2025.

ROMÁRIO-SILVA, D. et al. Antimicrobial activity of honey against oral microorganisms. *Microorganisms*, v. 10, n. 12, p. 2325, 2022.

RUDD, K. E. et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality. *The Lancet*, v. 395, n. 10219, p. 200–211, 2020.

RUFATTO, L. C. et al. Red propolis: chemical composition and pharmacological activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 7, n. 7, p. 591–598, 2017.

SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, v. 133, n. 2, p. 253–260, 2011.

SINGER, M.; DEUTSCHMAN, C. S.; SEYMOUR, C. W. et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*, v. 315, n. 8, p. 801–810, 2016.

SORNKAYASIT, K. et al. Immunomodulatory potentials of modified kombucha with pineapple by-products in aging. *Journal of Functional Foods*, v. 112, p. 105933, 2024.

SOUSA, N. C.; ARAUJO, M. C.; FERNANDES, F. I. S. F. *Punica granatum* leaf lipophilic fraction favours mortality by attenuating inflammation in mice with polymicrobial sepsis. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 7, n. 7, p. 355–367, 2019.

STEINKRAUS, K. H. *et al.* Investigations into the antibiotic activity of tea fungus/kombucha beverage. *Acta Biotechnologica*, v. 16, n. 2–3, p. 199–205, 1996.

SU, J. *et al.* Application of kombucha fermentation broth for antibacterial, antioxidant, and anti-inflammatory processes. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 18, p. 13984, 2023.

TSAVEA, E. *et al.* Physicochemical characterization and biological properties of pine honey produced across Greece. *Foods*, v. 11, n. 7, p. 943, 2022.

UPADHYAY, R. *et al.* Antioxidant property of aerial parts and root of *Phyllanthus fraternus*. *The Scientific World Journal*, v. 2014, 2014.

VINCENT, J. L.; JONES, G.; DAVID, S. *et al.* Frequency and mortality of septic shock in Europe and North America. *Critical Care*, v. 23, p. 1–11, 2020.

VIT, P.; MEDINA, M.; ENRIQUEZ, M. E. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. *Bee World*, v. 90, n. 2, p. 51–54, 2013.

WANG, P. *et al.* Kombucha ameliorates LPS-induced sepsis in a mouse model. *Food & Function*, v. 12, n. 20, p. 10263–10280, 2021.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desta dissertação demonstram que a kombucha enriquecida com própolis vermelha amazônica e mel de tiúba apresenta atividade imunomoduladora, antimicrobiana e anti-inflamatória significativa em modelo experimental de sepse. A formulação exibiu baixa citotoxicidade *in vitro*, reduziu a produção de óxido nítrico por macrófagos ativados e, no modelo *in vivo*, promoveu redução da carga bacteriana peritoneal, modulação de parâmetros hematológicos e regulação equilibrada do perfil de citocinas, com aumento concomitante de mediadores associados à imunidade inata e adaptativa. Esses achados indicam que a matriz fermentativa atuou como sistema potencializador da bioatividade dos compostos fenólicos da própolis vermelha amazônica e do mel de tiúba, favorecendo uma resposta imune mais controlada frente à inflamação sistêmica induzida.

No contexto da sepse, conforme definida pelo consenso da Surviving Sepsis Campaign, os dados sugerem que a bebida pode exercer papel adjuvante ao tratamento convencional, contribuindo para a modulação da resposta inflamatória exacerbada e para o controle da disseminação bacteriana. A interação entre metabólitos fermentativos, compostos fenólicos e possíveis microrganismos benéficos da kombucha configura um mecanismo multifatorial, envolvendo regulação de citocinas, redução do estresse oxidativo e modulação de populações celulares imunológicas.

Como perspectivas futuras, destacam-se a caracterização metagenômica das bactérias e leveduras presentes na kombucha, a padronização do processo fermentativo e a avaliação da segurança microbiológica da bebida para uso clínico. Estudos farmacocinéticos, análises mecanísticas em nível molecular e ensaios clínicos controlados serão fundamentais para validar sua aplicação translacional como terapia adjuvante em sepse e outras condições inflamatórias sistêmicas. Esses avanços poderão consolidar a formulação como produto biotecnológico inovador derivado da biodiversidade amazônica com potencial aplicação em saúde.