

Utilização do mel como terapia complementar: uma revisão sobre as propriedades biológicas associadas ao mel

Use of honey as a complementary therapy: a review of the biological properties related to honey

DOI:10.34115/basrv5n2-030

Recebimento dos originais: 08/03/2021

Aceitação para publicação: 08/04/2021

Marcella Silva Borges

Graduanda em medicina

Centro Universitário Estácio de Ribeirão Preto

Endereço: Rua Cel. Arnoud Antunes Maciel 185 – Jardim América, Ribeirão Preto – SP

E-mail: msborgees@hotmail.com

Franciane Iasmin Gomes Peres

Graduanda em enfermagem

Centro Universitário Barão de Mauá

Endereço: Rua Alcina Arantes nogueira 548 – Parque Industrial Tanquinho, Ribeirão Preto – SP

E-mail: peresyasminar19@gmail.com

Diego Moure-Oliveira

Doutor em Entomologia

Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Endereço: Av. Bandeirantes, 3900 - Vila Monte Alegre, Ribeirão Preto - SP

E-mail: dmoureoliveira@gmail.com

Andresa Aparecida Berretta e Silva

Doutora em ciências

Apis Flora Industrial e Comercial Ltda

Endereço: R. Triunfo, 945 - Subsetor Sul - 3 (S-3), Ribeirão Preto - SP, 14020-670

E-mail: andresa.berretta@apisflora.com.br

Juliana Issa Hori

Doutora em ciências

Centro Universitário Estácio Ribeirão Preto

Endereço: Rua Abrahão Issa Halach, 980 - Ribeirânia, Ribeirão Preto - SP, 14096-160

E-mail: hori.juliana@estacio.br

RESUMO

Dentre as matérias primas extraídas da apicultura, o mel é considerado o produto mais fácil de ser explorado, sendo também aquele com maiores possibilidades de comercialização pois, além de ser um alimento, pode também ser utilizado na indústria farmacêutica e cosmética devido às suas conhecidas ações terapêuticas. Sabe-se que são diversas as propriedades medicinais dos méis, nesse sentido, essa revisão procurou avaliar a literatura científica da última década a respeito das propriedades biológicas associadas

ao mel e foi verificado que este produto vem sendo utilizado em diversos tipos de linhas terapêuticas, notadamente devido às suas atividades antimicrobiana, antioxidante e cicatrizante. Além disso, há também estudos demonstrando seus efeitos antiproliferativos e antimetastáticos em tumores cerebrais bem como estudos sugerindo um efeito sinérgico de diferentes atividades biológicas quando se usa a combinação de méis de origens distintas.

Palavras-Chave: mel, propriedades biológicas.

ABSTRACT

Among raw materials extracted from beekeeping, honey is considered the easiest product to be explored, and it is also the one with the greatest commercialization possibilities once it is a food and can also be used in the pharmaceutical and cosmetic industry due to its well-known therapeutic properties. It is known that the medicinal properties of honeys are diverse. In this context, this review sought to evaluate the scientific literature of the last decade regarding the biological properties associated with honey and it was found that this product has been used in several types of therapeutic lines, notably due to its antimicrobial, antioxidant and wound-healing activities. In addition, there are also studies demonstrating its antiproliferative and antimetastatic effects on brain tumors, as well as studies suggesting a synergistic effect of different biological activities when using the combination of distinct honeys origins.

keywords: honey, biological properties.

1 INTRODUÇÃO

A apicultura brasileira começou oficialmente por volta de 1839, quando o padre Antônio Carneiro importou da região do Porto (Portugal), 100 colônias de abelhas da espécie *Apis mellifera*¹. Entretanto, nesta época, a apicultura era bastante rudimentar, com poucas técnicas de manejo e com exploração, principalmente proveniente da cera produzida pelas abelhas. Atualmente, a apicultura representa uma renda importante para muitos trabalhadores do campo, pois é uma atividade de fácil manutenção e baixo custo inicial se comparada às demais atividades agropecuárias⁵². Dentre as matérias primas extraídas da apicultura, o mel é considerado o produto mais tradicionalmente explorado, sendo também aquele com maiores possibilidades de comercialização pois, além de ser um alimento, pode também ser utilizado na indústria farmacêutica e cosmética devido às suas conhecidas ações terapêuticas⁵².

Por definição, o mel é um produto natural produzido por algumas espécies de abelhas, obtido a partir do néctar das flores (mel floral), de secreções de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de partes vivas das plantas (mel de melato)². Ele pode ser fluido, viscoso ou até mesmo sólido.

O mel é um alimento de elevado valor energético, consumido mundialmente e de extrema importância para a saúde humana por apresentar diversas propriedades biológicas associadas como, antimicrobiana, curativa, calmante, cicatrizante, estimulante, dentre outras³. A ação do mel sobre o organismo humano deve-se não só à sua alta ação energética, mas especialmente às enzimas, vitaminas e a presença de elementos químicos importantes como o selênio, manganês, zinco, cromo e alumínio⁸.

A composição química exata de qualquer mel depende, principalmente, das fontes vegetais das quais ele é derivado, mas também do clima, solo e da espécie da abelha que o produz. Portanto, o mel varia muito de uma região para outra, tanto em conteúdo polínico, características físico-químicas, sensoriais e aromáticas⁴. Um ponto importante na produção de mel é a certificação da sua origem botânica. Apesar de não possuir uma legislação específica para esse parâmetro e da não obrigatoriedade para a sua comercialização, esse conhecimento permite inferir quais espécies de plantas foram exploradas pelas abelhas para confecção do mel e, conseqüentemente, inferir sobre as características do produto, como coloração, sabor e propriedades medicinais⁵.

Por fim, diversos artigos demonstram que o mel pode apresentar propriedades biológicas associadas como, por exemplo, atividade cicatrizante, propriedades antifúngicas, antioxidantes, antiviral, antiparasitária, anti-inflamatória e, em especial, antimicrobiana⁶. Neste sentido, é válido ressaltar também que no Brasil a Portaria nº702 de 21 de março de 2018, regulamentou a apiterapia como uma das “Práticas Integrativas e Complementares” (PICS) ao Sistema Único de Saúde (SUS), o que pode proporcionar, em situações específicas, benefícios complementares às terapias convencionais para alguns pacientes⁵³.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

De acordo com a Instrução Normativa nº 11/2000 do Ministério da Agricultura, o mel é definido como substância natural produzida pelas abelhas melíferas a partir do néctar das plantas, de secreções de partes vivas de plantas ou de excreções de insetos sugadores que ficam sobre as partes vivas de plantas⁷. As abelhas recolhem, transformam, as combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam no favo para amadurecer.

A composição do mel é variada e contém carboidratos como a glicose, frutose e maltose; ácidos graxos como os ácidos palmíticos, oleicos e linoleicos; proteínas e aminoácidos como a alanina, arginina, ácido glutâmico e aspártico; sais minerais como o

cobre, manganês, ferro, enxofre, boro e fósforo e vitaminas A, C, D, K e as do complexo B. Já a sua diversidade é decorrente, principalmente, da biodiversidade da flora em que a abelha faz a coleta bem como de fatores como o solo, a espécie da abelha, o estado fisiológico da colônia, o estado de maturação do mel, as condições meteorológicas da colheita, entre outros⁸.

Há milênios, o mel é reconhecido por ter propriedades medicinais. Gregos e egípcios aplicavam mel topicamente em feridas e queimaduras de pele e registros obtidos em documentos persas corroboram com a eficácia do mel no tratamento de feridas, eczemas e inflamações⁹. Na era cristã, Celsius afirmava que o mel possuía propriedades aglutinantes sobre os ferimentos⁹.

No Brasil é muito comum o uso de fitoterápicos e xaropes caseiros com o uso do mel em terapias populares, principalmente por indígenas e nas zonas rurais, devido às suas propriedades curativas^{10,11}. Dentre as suas propriedades medicinais, a sua aplicação tópica na pele, incluindo o tratamento de feridas e queimaduras é uma das mais interessantes. O mel é higroscópico o que significa que ele tem a capacidade de retirar a umidade do meio ambiente e, dessa forma, desidratar bactérias com o auxílio de suas propriedades hiperosmolares⁹. Além disso, o mel também tem um papel importante no desbridamento autolítico rápido e desodorização de feridas profundas^{12,13,14}. Isso se deve ao baixo pH deste produto (pH médio de 4.4), uma vez que, é sabido que a acidificação de feridas acelera o processo de cicatrização, reduz a colonização por microrganismos e melhora o carregamento de oxigênio da hemoglobina nos capilares sanguíneos^{2,15,16}. O mel também estimula a angiogênese, granulação e epitelização, o que ajuda a acelerar o processo de cicatrização de feridas^{9,17,18}.

Somado a todas essas propriedades, o mel ainda se destaca por sua atividade antimicrobiana. Inúmeras características do mel contribuem para essa sua atividade, por exemplo, a ação da enzima glicose-oxidase. Esta enzima, secretada por glândulas presentes nas cabeças das abelhas, é a responsável pela conversão da glicose, na presença de água e oxigênio, em ácido glucônico e peróxido de hidrogênio, ambos considerados fortes agentes antioxidantes que atacam o envoltório dos microrganismos, preservando e mantendo a esterilidade do mel durante a sua maturação⁸. Adicionalmente, a presença de alguns minerais no mel, como ferro e cobre, associados com o peróxido de hidrogênio, podem conduzir a geração de radicais hidroxila altamente reativos e com propriedade antimicrobiana¹⁹. Outras substâncias encontradas no mel, embora em pequenas quantidades, também contribuem para sua atividade antimicrobiana como: pinocembrina,

terpenos, álcool benzol, ácido 3,5-dimetoxi- 4-hidroxibenzeno; metil-3,5-dimetoxi-4-hidroxibenzoato; ácido 3,4,5-trimetoxibenzoico; ácido 2-hidroxi-3- penilpropriônico; ácido 2-hidroxibenzoico e 1,4- dihidroxibenzeno¹⁸. Por fim, outros fatores que podem contribuir para a propriedade antimicrobiana do mel são: elevada pressão osmótica, baixa atividade de água, baixo conteúdo proteico, baixo potencial redox devido ao alto teor de açúcares redutores, alta viscosidade que limita a solubilidade do oxigênio e outros agentes químicos e fitoquímicos²⁰.

Vale a pena ressaltar que nos últimos anos, o perfil de resistência bacteriana vem sendo agravado pelo uso indiscriminado de antimicrobianos na produção animal e na saúde humana. Portanto, em função da preocupação generalizada pela crescente emergência de patógenos resistentes, há a necessidade de se buscar novas alternativas de terapias. Nesse contexto, o mel vem se destacando como uma alternativa aos antimicrobianos contra microrganismos resistentes a antibióticos, principalmente por ser um produto de origem natural^{21,22}.

Diante disso, diversos estudos vêm buscando identificar as propriedades biológicas de méis de diferentes espécies de abelhas no intuito de utilizá-los na prática clínica como um composto complementar às práticas já realizadas. Nesse sentido, esta revisão pretende compilar os atuais achados envolvendo esse composto e descrever as suas propriedades biológicas cientificamente comprovadas.

3 METODOLOGIA

O presente artigo é do tipo exploratório descritivo e, para a obtenção dos dados, utilizou-se o levantamento bibliográfico de artigos completos em língua inglesa realizado na base de dados PubMed. Os artigos foram selecionados utilizando-se os descritivos “*honey bee*”, “*anti-inflammatory*”, “*wound healing*” e “*antibacterial*” de forma combinada dois a dois. Além disso, foi preconizado um intervalo temporal de 10 anos (2010 a 2020) e excluídos artigos de revisão.

4 RESULTADOS

A busca na literatura resultou em um total de 100 publicações. A primeira seleção dos artigos foi realizada mediante leitura do título e análise dos resumos, excluindo-se artigos que não abordavam nenhuma das palavras-chave no título, que não estavam publicados na íntegra, que se apresentavam fora do período de tempo delimitado e que

estavam em idiomas não elencados nos critérios de inclusão. Dessa forma, 29 artigos compuseram o corpo de análise deste trabalho e foram então lidos na íntegra.

As conclusões principais de cada um dos artigos selecionados estão resumidas nas tabelas abaixo.

Tabela 1. Lista de artigos selecionados nas bases de dados entre os anos 2010 a 2015

Título do artigo e ano	Conclusão
<i>The antibacterial activity of honey derived from Australian flora, 2011</i> ²³	Este estudo forneceu uma ampla visão geral da atividade antibacteriana do mel australiano frente a <i>Staphylococcus aureus</i> , gram-positiva, e mostrou que muitos méis têm potencial para uso terapêutico como agentes antibacterianos.
<i>Two Major Medicinal Honeys Have Different Mechanisms of Bactericidal Activity, 2011</i> ²⁴	Foi avaliada a atividade bactericida e o mecanismo de ação do mel de origem Revamil® (RS) e do mel de manuka (Nova Zelândia). O peptídeo Defensina-1 e peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) foram os principais fatores envolvidos na rápida atividade bactericida do mel RS, enquanto o metilglioxal foi um fator bactericida importante no mel manuka, porém, mesmo após a neutralização deste composto, o mel manuka ainda reteve a sua atividade bactericida. Os méis discutidos possuem composições altamente distintas de fatores bactericidas, resultando em grandes diferenças na atividade bactericida.
<i>Re-examining the role of hydrogen peroxide in bacteriostatic and bactericidal activities of honey, 2011</i> ²⁵	Concluiu-se que o peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) presente nas amostras de méis cru não pasteurizados canadenses, exerceu um estresse oxidativo causando inibição do crescimento bacteriano e degradação do DNA bacteriano de <i>E. coli</i> e <i>B. subtilis</i> . Os resultados demonstraram pela primeira vez que os efeitos bacteriostáticos do H ₂ O ₂ endógeno versus exógeno são marcadamente diferentes devido à presença de outros componentes do mel
<i>Synergistic Effects of Honey and Propolis toward Drug Multi-Resistant Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli and Candida Albicans Isolates in Single and Polymicrobial Cultures, 2012</i> ²⁶	O estudo mostrou que a presença de mel, potencializou o efeito antimicrobiano da própolis testados em culturas simples ou polimicrobianas. Isso pode revelar sinergismo entre eles. O mel aumentou os produtos finais de óxido nítrico em vários animais e fluidos biológicos humanos e diminuiu a concentração de prostaglandina.
<i>Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil, 2013</i> ²⁷	Amostras de méis produzidas por abelhas Uruçu boca de renda (<i>Melipona seminigra merrillae</i>), no nordeste brasileiro, possuem atividade antioxidante proporcionalmente a quantidade de composto fenólicos, apresentando assim, uma melhor atividade antimicrobiana quando presente altos teores

	fenólicos. Além disso, foi relatado presença de catecol pela primeira vez em amostras de mel brasileiro e a presença do flavonóide taxifolina em méis de abelhas sem ferrão.
<i>Antimicrobial activity and rutin identification of honey produced by the stingless bee Melipona compressipes manausensis and commercial honey, 2013²⁸</i>	Amostras de méis brasileiros produzidas por uma espécie de abelha sem ferrão <i>M. compressipes manausensis</i> (Apidae, Meliponinae) e por <i>Apis</i> sp, mostraram atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.
<i>Combined antibacterial activity of stingless bee (Apis mellipodae) honey and garlic (Allium sativum) extracts against standard and clinical pathogenic bacteria, 2013²⁹</i>	Estudos <i>in vitro</i> demonstraram que o alho em combinação com o mel Tazma (Tasmânia) pode servir como um medicamento antimicrobiano natural alternativo para o tratamento de infecções bacterianas patogênicas. Mais estudos <i>in vivo</i> são recomendados para se chegar a uma conclusão abrangente.
<i>Antibacterial Compounds of Canadian Honeys Target Bacterial Cell Wall Inducing Phenotype Changes, Growth Inhibition and Cell Lysis That Resemble Action of β-Lactam Antibiotics, 2014³⁰</i>	O artigo conclui que o mel canadense, assim como a ampicilina, causou mudanças no formato das células que resultaram na perda da integridade da parede celular da bactéria <i>E. coli</i> . O direcionamento da parede celular e da membrana externa do lipopolissacarídeo por compostos de mel é, sem dúvida, o achado mais importante deste estudo.
<i>Polish Natural Bee Honeys Are Anti-Proliferative and Anti-Metastatic Agents in Human Glioblastoma multiforme U87MG Cell Line, 2014³¹</i>	Os resultados sugerem que os méis poloneses têm um efeito antiproliferativo e antimetastático na linha celular U87MG. Portanto, o mel a pode ser considerado um tratamento adjuvante promissor para tumores cerebrais.
<i>Honey Glycoproteins Containing Antimicrobial Peptides, Jelleins of the Major Royal Jelly Protein 1, Are Responsible for the Cell Wall Lytic and Bactericidal Activities of Honey, 2015³²</i>	O artigo relata que a parede celular bacteriana foi identificada como o alvo dos compostos antibacterianos do mel; entretanto, a natureza química desses compostos ainda não foi elucidada. Usando a cromatografia de afinidade com concavalina A, descobriram que as frações de glicoproteína isoladas (glps), mas não as frações de fluxo, exibiram fortes propriedades bactericidas e inibidoras do crescimento.

Fonte: Os autores (2021)

Tabela 2. Lista de artigos selecionados nas bases de dados entre os anos 2016 a 2020

Título do artigo e ano	Conclusão
<i>Synergistic Effect of Honey and Propolis on Cutaneous Wound Healing in Rats, 2016³³</i>	A aplicação da combinação de mel de região montanhosa de Damavand, no Irã, e própolis acelerou o processo de cicatrização de feridas, encurtou a fase inflamatória e aumentou a granulação e angiogênese dos tecidos.
<i>Antibacterial synergic effect of honey from two stingless bees: Scaptotrigona</i>	O estudo <i>in vitro</i> demonstrou que a combinação de méis brasileiros de duas

<p><i>bipunctata</i> Lepeletier, 1836, and <i>S. postica</i> Latreille, 1807, 2016³⁴</p>	<p>abelhas sem ferrão: <i>Tubuna</i> (<i>Scaptotrigona bipunctata</i>) e Mandaguari (<i>Scaptotrigona postica</i>) possui atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo cepas multirresistentes; esta combinação foi patenteada.</p>
<p><i>Enhanced electroscalpel incisional wound healing potential of honey in wistar rats</i>, 2017³⁵</p>	<p>O mel multifloral, de uma colmeia de abelhas em Ibadan – Nigéria, pode ser aplicado à ferida cirúrgica de eletroescala para facilitar a cicatrização rápida durante o tratamento cirúrgico de tumores com rede vascular. Desta forma, o conhecimento do uso do mel no manejo do eletroescalpo induzido permitirá plena exploração da eletrocirurgia.</p>
<p><i>Honey Bee as Alternative Medicine to Treat Eleven Multidrug-Resistant Bacteria Causing Urinary Tract Infection during Pregnancy</i>, 2018³⁶</p>	<p>O mel de abelha melífera, coletado de diferentes localidades do leste da Argélia, pode ser uma alternativa promissora que pode substituir os antibióticos usados no tratamento de infecções urinárias em mulheres grávidas; essa escolha constituiu um tratamento eficaz e seguro tanto para a mãe quanto para o feto.</p>
<p><i>Phytochemicals-mediated production of hydrogen peroxide is crucial for high antibacterial activity of honeydew honey</i>, 2018³⁷</p>	<p>As amostras de mel de melato, de origem eslovaco, que foram testadas mostraram atividade antibacteriana equivalente ou, em alguns casos, superior em comparação com o mel Kanuka e Manuka, que são usados como mel de grau médico, ambos os tipos de mel da Nova Zelândia foram mais eficazes contra <i>S. aureus</i> do que <i>P. aeruginosa</i>.</p>
<p><i>Anti-Cancer Properties of Heterotrigona itama sp. Honey Via Induction of Apoptosis in Malignant Glioma Cells</i>, 2019³⁸</p>	<p>Esse trabalho demonstrou atividades anticâncer promissoras do mel de abelha sem ferrão da Malásia (<i>Heterotrigona itama</i> sp.) via inibição da proliferação de células e indução de apoptose precoce em linhagens de células de glioma maligno.</p>
<p><i>Exosome-like vesicles in Apis mellifera bee pollen, honey and royal jelly contribute to their antibacterial and pro-regenerative activity</i>, 2019³⁹</p>	<p>Foi verificada a hipótese de que vesículas semelhantes a exossomos estão presentes em produtos secretados da glândula hipofaríngea de <i>Apis mellifera</i> (mel, geléia real e pólen de abelha) e participam de seus conhecidos efeitos antibacterianos e pró-regenerativos. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar a carga de exossomos e as diferenças funcionais entre os ELVs derivados do pólen de abelha, do mel e da geléia real, para compreender completamente seu papel no efeito biológico dessas substâncias.</p>
<p><i>Himalayan honey loaded iron oxide nanoparticles: synthesis, characterization and study of antioxidant and antimicrobial activities</i>, 2019⁴⁰</p>	<p>A atividade biológica de mel do Himalaia (HH-Himalayan honey) é aumentada significativamente após o carregamento em nanopartículas de óxido de ferro (IO-NPs). Assim, as nanopartículas de óxido de</p>

	ferro carregadas com mel do Himalaia seriam uma alternativa promissora para agentes antioxidantes e antimicrobianos.
<i>Biological Characterization and Inhibition of Streptococcus pyogenes ZUHI Causing Chronic Cystitis by Crocus sativus Methanol Extract, Bee Honey Alone or in Combination with Antibiotics: An In Vitro Study, 2019⁴¹</i>	Já se sabe que as flores de <i>Crocus sativus</i> contêm compostos bioativos com propriedades antimicrobianas contra patógenos orais, particularmente estreptococos, estes atualmente já são usados para preparar enxaguatórios bucais e medicamentos. Assim, o estudo analisou o sinergismo entre antibióticos e <i>Crocus sativus</i> (Açafrão-oriental ou açafrão-verdadeiro), mel de abelha (amostra coletada e fornecida por apicultor da área de Kafr-Sakr, Egito) e glicoproteína na inibição do patógeno estreptococo do grupo <i>S. pyogenes ZUHI</i> .
<i>Antibacterial potential of some Saudi honeys from Asir region against selected pathogenic bacteria, 2019⁴²</i>	O potencial antibacteriano de amostras de mel coletadas em uma região da Arábia Saudita foi investigado em diferentes concentrações. O mel saudita atribui uma atividade antibacteriana considerável devido a fatores de origem botânica, características geográficas, espécies de abelha e fitoquímicos vegetais no mel, e, que futuramente, estudos que sigam essa linha de pesquisa poderá isolar e sintetizar o agente antibacteriano presente no mel como medicamento.
<i>Anti-biofilm effects and characterisation of the hydrogen peroxide activity of a range of Western Australian honeys compared to Manuka and multiflora honeys, 2019⁴³</i>	O artigo conclui que os méis da Austrália Ocidental são comparáveis ao mel de manuka (Nova Zelândia) no que diz respeito à atividade antibacteriana e aos efeitos sobre os biofilmes bacterianos. Os méis foram testados contra as gram positivas <i>S. aureus</i> e <i>E. faecalis</i> , e contra as gram negativas <i>P. aeruginosa</i> e <i>E. coli</i> . Além disso, foi ressaltado a necessidade de estudos complementares sobre a temática, incluindo uma exploração mais aprofundada do papel da membrana externa das bactérias gram negativas; a investigação do possível potencial antibacteriano da defensina presente no mel e estudos clínicos para comparar o tratamento convencional com o tratamento terapêutico associado a diferentes méis que possuem atividade antibacteriana significativa.
<i>Antioxidant and antibacterial activities of multiflora honey extracts from the Indonesian Apis cerana bee, 2020⁴⁴</i>	Os extratos de méis multiflora da abelha <i>Apis cerana</i> da Indonésia, apresentaram atividades antioxidantes e antibacterianas relacionadas principalmente às propriedades qualitativas e quantitativas de fenóis e flavonóides.
<i>Antioxidant, cytotoxic and antibacterial potentials of biosynthesized silver nanoparticles using bee's honey from two different floral sources in Saudi Arabia, 2020⁴⁵</i>	A síntese de AgNPs (nanopartículas de prata biossintetizadas) usando mel de duas fontes florais diferentes é uma técnica eficiente. AgNPs mostraram um efeito citotóxico contra células HepG2 (hepatocarcinoma) e

	antibacteriano contra algumas bactérias Gram (-) e Gram (+).
<i>Stingless Bee Honey: Evaluating Its Antibacterial Activity and Bacterial Diversity, 2020</i> ⁴⁶	O mel de abelhas sem ferrão que habitam o sudeste asiático da espécie <i>Homotrigona fimbriata</i> , apresentou a atividade antimicrobiana contra cinco bactérias: <i>Serratia marcescens</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Alcaligenes faecalis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> .
<i>Physical characteristics and antimicrobial properties of Apis mellifera, Frieseomelitta nigra and Melipona favosa bee honeys from apiaries in Trinidad and Tobago, 2020</i> ⁴⁷	Os méis de abelhas sem ferrão foram bactericidas para <i>H. influenzae</i> e <i>S. aureus</i> . A única atividade inibitória registrada para o mel de <i>A. mellifera</i> (abelha com ferrão), foi contra <i>S. aureus</i> ATCC 25923.
<i>The Antibacterial Potential of Honeydew Honey Produced by Stingless Bee (Heterotrigona itama) against Antibiotic Resistant Bacteria, 2020</i> ⁴⁸	Os isolados bacterianos (<i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>) mostraram vários graus de suscetibilidade aos méis de flor e melato produzidos pela abelha melífera asiática (<i>Apis cerana</i>) e abelha sem ferrão (<i>Heterotrigona itama</i> e <i>Genuotrigona thoracica</i>). Concluindo que o mel de melato de abelha sem ferrão exibiu maiores propriedades antibacterianas com efeitos inibitórios e bactericidas. Sendo observado um efeito sinérgico entre este mel com antibióticos na inibição de bactérias resistentes. Os resultados do estudo revelaram o potencial do mel de melato produzido pela abelha sem ferrão <i>H. itama</i> , que pode servir como agente antibacteriano no espectro da área da saúde.
<i>Development and validation of a new microplate assay that utilizes optical density to quantify the antibacterial activity of honeys including Jarrah, Marri and Manuka, 2020</i> ⁴⁹	O ensaio de equivalência de fenol é o teste atualmente adotado pela indústria usado para quantificar a atividade antibacteriana de méis na Austrália e na Nova Zelândia. A atividade é medida com base na difusão do mel através do ágar e na zona de inibição de crescimento resultante. Devido às diferenças nas solubilidades aquosas de compostos antibacterianos encontrados em méis, este método pode não ser ideal para quantificar a atividade. Portanto, um novo método foi desenvolvido com base no ensaio de microdiluição em caldo existente que é amplamente utilizado para determinar as concentrações inibitórias mínimas (CIMs). Assim, foi desenvolvido um novo ensaio que quantifica com precisão a atividade antibacteriana dos méis, incluindo aqueles com atividade relativamente baixa. A adoção do novo protocolo de teste pelos participantes da indústria, laboratórios de testes comerciais e pesquisadores teria amplos benefícios, fornecendo uma medição unificada da atividade antibacteriana de todos os méis.
<i>Natural Phenolic Acid, Product of the Honeybee, for the Control of Oxidative Stress,</i>	O ácido gálico (ácido 3,4,5-triidroxibenzóico, GA) e o ácido caféico (CA) são polifenóis

<p><i>Peritoneal Angiogenesis, and Tumor Growth in Mice, 2020</i>⁵⁰</p>	<p>vegetais endógenos abundantemente encontrados em produtos de abelhas, chá, uvas, bagas e outras frutas, bem como no vinho. Esses compostos possuem atividades antioxidante, anti-inflamatória, antimutagênica, anticancerígena, antineoplásica e apoptótica. Além disso, GA e CA também demonstraram suprimir a viabilidade celular, proliferação, invasão e angiogênese em muitas linhas de células cancerosas humanas e animais e em modelos animais. Assim, com base nos resultados obtidos no estudo somado a de outros autores, acreditam-se que CA e GA têm um grande potencial contra a ascite tumoral (tumor de Ehrlich) por meio de mecanismo de ação molecular pleiotrópico.</p>
<p><i>Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Safflower (Carthamus tinctorius L.) Honey Extract, 2020</i>⁵¹</p>	<p>O mel de cártamo é um tipo único de mel monofloral coletado do néctar de <i>Carthamus tinctorius</i> nas colônias de <i>Apis mellifera</i> no noroeste da China. Apesar de haver poucas informações a respeito da composição química e atividades biológicas, o presente estudo, pela primeira vez, investigou as características físico-químicas avaliando a atividade antioxidante e anti-inflamatória in vitro, fornecendo informações básicas para o desenvolvimento deste mel no futuro.</p>

Fonte: Os autores (2021)

5 DISCUSSÃO

O levantamento bibliográfico realizado neste trabalho demonstrou que as pesquisas da última década sobre as propriedades biológicas do mel têm se concentrado principalmente nos estudos das propriedades antibacterianas deste produto, sendo que alguns desses estudos levantaram a questão de que essa ação antimicrobiana pode estar relacionada com alguns fatores relativos à composição do mel. Fatores bióticos, como espécies vegetais exploradas e espécies de abelhas que produziram o mel, e fatores abióticos, como regiões geográficas e clima, influenciam diretamente nas características físico-química desse produto e, conseqüentemente, em suas propriedades medicinais⁴⁵.

A atividade antibacteriana observada é resultado da ação de algumas substâncias químicas presentes no mel as quais interferem no crescimento da flora microbiana²². O peróxido de hidrogênio (H₂O₂), substância presente no mel, está relacionado ao dano oxidativo nas células bacterianas, e concentrações acima de 2,5 mM foram suficientes para clivar o DNA bacteriano²⁵. Por exemplo, foi reportado em um estudo uma correlação positiva entre taxas de concentração de compostos fenólicos totais e respostas antimicrobianas²⁷. Compostos fenólicos como o flavonóide taxifolina são compostos

presentes em méis tanto de abelhas *Apis mellifera* e abelhas nativas sem ferrão, ou meliponíneos, e que além das propriedades antibacterianas, possuem alta atividade antioxidante. Porém, diferente da taxifolina, que é um composto presente no mel que aparentemente independe da espécie de abelha produtora ou das espécies de plantas exploradas, a presença de outros compostos fenólicos varia dependendo da flora explorada, podendo ser um dos fatores responsáveis pela variação observada nas propriedades medicinais de cada tipo distinto de mel²⁷.

Apesar dessa notória atividade antimicrobiana e antioxidante, o mel também é indicado para utilização em outras linhas terapêuticas, como por exemplo no processo de cicatrização de feridas. Essa propriedade é amplamente fundamentada na literatura científica e considerada uma das propriedades medicinais mais antigas descobertas na utilização dessa matéria-prima no âmbito medicinal. Tal propriedade está relacionada com as atividades imunoestimuladoras do mel no crescimento celular epitelial e do tecido conjuntivo, além de também atuar no desenvolvimento de novos capilares³⁵. Outra linha terapêutica que vem sendo indicada como potencial para utilização do mel é a do tratamento adjuvante para tumores cerebrais uma vez que a utilização desse produto apresentou resultados promissores em um efeito antiproliferativo e antimetastático das células tumorais³¹.

Além das atividades químicas resultantes de compostos que compõem o próprio mel, outros estudos focaram no sinergismo existente entre o mel em união com outros produtos. Por exemplo, foi analisada a ação sinérgica entre o mel e a própolis, ambos produtos de origem apícola com ampla gama de propriedades medicinais e biológicas. A união desses produtos resultou em um efeito antimicrobiano potencializado, tanto sobre culturas de microrganismos individuais como em policulturas²⁶. Curiosamente, também foi observado em outro estudo a ocorrência de um processo de cicatrização mais eficiente quando combinado o mel com a própolis³³. Em outra investigação observou-se a atividade antibacteriana sinérgica entre mel e alho contra bactérias gram positivas e gram negativas. Os resultados se revelaram positivos a respeito de tal atividade terapêutica associada, e os autores concluíram que a combinação entre esses produtos pode servir como um medicamento antimicrobiano natural alternativo para o tratamento de infecções bacterianas patogênicas²⁹.

Além do sinergismo observado entre a combinação de mel com outros produtos, também é possível ocorrer a existência de sinergismo entre méis de origens distintas. Esse fato pode ser resultado das diferentes combinações entre compostos fenólicos por

exemplo, presentes nas diferentes composições dos méis, podendo ocasionar no desenvolvimento de novos antibacterianos de amplo espectro, com potencial de prevenir o surgimento de cepas bacterianas resistentes³⁴.

Apesar deste trabalho ter resultado em artigos que focaram mais nas atividades anti-inflamatórias e antimicrobianas do mel, é importante mencionar que também existem outras formas de utilização deste produto como uma alternativa no tratamento de algumas doenças. Nazir e colaboradores (2014) verificaram que baixas doses de mel pode ser um substituto valioso do açúcar para pacientes com diabetes, uma vez que o mel possui um efeito hipoglicemiante, o que pode levar ao desenvolvimento de novos tratamentos no campo da diabetologia⁵⁵. Abdulrhman e colaboradores (2016) também demonstraram que o consumo de mel, apesar de resultar em uma hiperglicemia nos pacientes do estudo, não desenvolveu cetoacidose diabética ou estado hiperosmolar hiperglicêmico e a longo prazo resultou em uma redução de peso e controle da pressão arterial nos pacientes que possuíam hipertensão antes da intervenção com mel. Adicionalmente, verificou-se também melhora no estado cardiovascular dos pacientes que apresentavam doença coronariana prévia⁵⁶.

Somado a todas essas considerações é importante ressaltar que a apiterapia foi implementada no Sistema Único de Saúde do Brasil em 2018. Essa prática integrativa refere-se ao uso de subprodutos das abelhas (mel, apitoxinas ou própolis) para promoção da saúde ou como um tratamento de doenças. Além das propriedades biológicas dos méis já citadas neste trabalho, e que poderiam beneficiar os pacientes atendidos pelo SUS, outras atividades vinculadas, como por exemplo, o uso do mel para redução da tosse em crianças e veneno de abelha para prevenir reações alérgicas a picadas de insetos já são amplamente utilizadas em outros países⁵⁴.

Dessa forma, fica clara a necessidade de maiores investimentos em pesquisas a respeito das propriedades dos méis brasileiros haja visto ser uma matéria-prima de baixo custo e que está inserida no Sistema Público de Saúde do Brasil. Além de movimentar a economia do país, o investimento científico e tecnológico neste produto também proporcionaria maiores suportes e investimentos nos pequenos produtores e poderia até reduzir gastos de esfera governamental com tratamentos médicos convencionais.

6 CONCLUSÃO

Essa revisão demonstrou que a literatura científica da última década vem indicando a importância da utilização do mel em diversos tipos de linhas terapêuticas,

notadamente devido à suas múltiplas propriedades biológicas, como atividades antimicrobiana e antioxidante, efeito cicatrizante em determinados grupos celulares, além dos promissores efeitos antiproliferativo e antimetastático em tumores cerebrais; e que a combinação do mel com demais produtos e entre méis de distintas origens também pode ser uma alternativa para diversos tratamentos. Entretanto, algumas dessas atividades ainda possuem mecanismos de ação desconhecidos, retratando a importância de experimentos e de mais estudos com esse produto apícola a fim de compreender e desvendar a pluralidade de suas propriedades terapêuticas as quais podem contribuir para a criação de medicamentos contra superbactérias, assim como bioativos facilitadores da cicatrização.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio da Estácio Ribeirão Preto, pela bolsa oferecida ao docente JIH no “Programa Pesquisa e Produtividade”.

REFERÊNCIAS

1. GONÇALVES, Lionel Segui. O estudo atual da apicultura brasileira e suas perspectivas face ao desenvolvimento da apicultura mundial. **SEMINÁRIO SUL-BRASILEIRO DE APICULTORES**, v. 2, p. 29-40, 2000.
2. CAMPOS, Gisélia; DELLA MODESTA, Regina Célia. Diferenças sensoriais entre mel floral e mel de melato. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, p. 7-14, 2000.
3. BIZZARIA, D. K.; FILGUEIRAS, C. T. Análise microbiológica de mel de abelha, consumido no município de Campo Grande-MS. **Hig. Alim**, v. 17, p. 104-105, 2003.
4. MONTENEGRO, S.; BIANCHI, E.; AVALLONE, C. Caracterización de mieles del Parque Chaqueño: determinación de hidroximetilfurfural, plomo y antibióticos. **Facultad de Agroindustrias, Chaco**, 2003.
5. BARTH, Ortrud Monika. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 3, p. 342-350, 2004.
6. IRISH, Julie et al. Honey has an antifungal effect against Candida species. **Medical Mycology**, v. 44, n. 3, p. 289-291, 2006.
7. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. MAPA, Brasília. 2000
8. SILVA, RA da et al. Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 17, n. 1, p. 113-120, 2008.
9. MOLAN, Peter C. The evidence supporting the use of honey as a wound dressing. **The international journal of lower extremity wounds**, v. 5, n. 1, p. 40-54, 2006.
10. POSEY, Darrell Addison. Etnobiologia: teoria e prática. **Suma etnológica brasileira**, v. 1, p. 15-25, 1987.
11. MADALENO, Isabel Maria. Plantas medicinais consumidas em Cochim, no século XVI e na atualidade. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, v. 10, n. 1, p. 109-142, 2015.
12. AL-WAILI, Noori S. et al. Honey and microbial infections: a review supporting the use of honey for microbial control. **Journal of medicinal food**, v. 14, n. 10, p. 1079-1096, 2011.
13. MOLAN, Peter C. Re-introducing honey in the management of wounds and ulcers-theory and practice. 2002.

14. ORYAN, A.; ZAKER, S. R. Effects of topical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 45, n. 1-10, p. 181-188, 1998.
15. AURELI, Paolo; FRANCIOSA, Giovanna; FENICIA, Lucia. Infant botulism and honey in Europe: a commentary. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 21, n. 9, p. 866-868, 2002.
16. MOLAN, Peter C. The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity. **Bee world**, v. 73, n. 1, p. 5-28, 1992.
17. GUPTA, S. K. et al. Therapeutic efficacy of honey in infected wounds in buffaloes. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 62, n. 6, p. 521-523, 1992.
18. BERGMAN, Arieh et al. Acceleration of wound healing by topical application of honey: an animal model. **The American journal of surgery**, v. 145, n. 3, p. 374-376, 1983.
19. ALJADI, A. M.; KAMARUDDIN, M. Y. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. **Food chemistry**, v. 85, n. 4, p. 513-518, 2004.
20. TAORMINA, Peter J.; NIEMIRA, Brendan A.; BEUCHAT, Larry R. Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. **International journal of food microbiology**, v. 69, n. 3, p. 217-225, 2001.
21. BOORN, K. L. et al. Antimicrobial activity of honey from the stingless bee *Trigona carbonaria* determined by agar diffusion, agar dilution, broth microdilution and time-kill methodology. **Journal of applied microbiology**, v. 108, n. 5, p. 1534-1543, 2010.
22. DE QUEIROZ PIMENTEL, Renah Boanerges et al. Antimicrobial activity and rutin identification of honey produced by the stingless bee *Melipona compressipes manausensis* and commercial honey. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 1-14, 2013.
23. IRISH, Julie; BLAIR, Shona; CARTER, Dee A. The antibacterial activity of honey derived from Australian flora. **PloS one**, v. 6, n. 3, p. e18229, 2011.
24. KWAKMAN, Paulus HS et al. Two major medicinal honeys have different mechanisms of bactericidal activity. **PloS one**, v. 6, n. 3, p. e17709, 2011.
25. BRUDZYNSKI, Katrina; ABUBAKER, Kamal; CASTLE, Alan. Re-examining the role of hydrogen peroxide in bacteriostatic and bactericidal activities of honey. **Frontiers in microbiology**, v. 2, p. 213, 2011.
26. NOORI, A. L. et al. Synergistic effects of honey and propolis toward drug multi-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolates in

- single and polymicrobial cultures. **International journal of medical sciences**, v. 9, n. 9, p. 793, 2012.
27. DA SILVA, Isnandia Andréa Almeida et al. Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil. **Food chemistry**, v. 141, n. 4, p. 3552-3558, 2013.
 28. DE QUEIROZ PIMENTEL, Renah Boanerges et al. Antimicrobial activity and rutin identification of honey produced by the stingless bee *Melipona compressipes manaosensis* and commercial honey. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 1-14, 2013.
 29. ANDUALEM, Berhanu. Combined antibacterial activity of stingless bee (*Apis mellipodae*) honey and garlic (*Allium sativum*) extracts against standard and clinical pathogenic bacteria. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 3, n. 9, p. 725-731, 2013.
 30. BRUDZYNSKI, Katrina; SJAARDA, Calvin. Antibacterial compounds of Canadian honeys target bacterial cell wall inducing phenotype changes, growth inhibition and cell lysis that resemble action of β -lactam antibiotics. **PLoS One**, v. 9, n. 9, p. e106967, 2014.
 31. MOSKWA, Justyna et al. Polish natural bee honeys are anti-proliferative and anti-metastatic agents in human glioblastoma multiforme U87MG cell line. **PLoS one**, v. 9, n. 3, p. e90533, 2014.
 32. BRUDZYNSKI, Katrina; SJAARDA, Calvin. Honey glycoproteins containing antimicrobial peptides, Jelleins of the Major Royal Jelly Protein 1, are responsible for the cell wall lytic and bactericidal activities of honey. **PLoS One**, v. 10, n. 4, p. e0120238, 2015.
 33. TAKZAREE, Nasrin et al. Synergistic effect of honey and propolis on cutaneous wound healing in rats. 2016.
 34. NISHIO, E. K. et al. Antibacterial synergic effect of honey from two stingless bees: *Scaptotrigona bipunctata* Lepeletier, 1836, and *S. postica* Latreille, 1807. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2016.
 35. EYAREFE, David O. et al. Enhanced electroscalpel incisional wound healing potential of honey in wistar rats. **International journal of veterinary science and medicine**, v. 5, n. 2, p. 128-134, 2017.
 36. BOUACHA, Mabrouka; AYED, Hayette; GRARA, Nedjoud. Honey bee as alternative medicine to treat eleven multidrug-resistant bacteria causing urinary tract infection during pregnancy. **Scientia pharmaceutica**, v. 86, n. 2, p. 14, 2018.
 37. BUCEKOVA, Marcela et al. Phytochemicals-mediated production of hydrogen peroxide is crucial for high antibacterial activity of honeydew honey. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2018.

38. AHMAD, Farizan et al. Anti-cancer properties of *Heterotrigona itama* sp. honey via induction of apoptosis in malignant glioma cells. **The Malaysian journal of medical sciences: MJMS**, v. 26, n. 2, p. 30, 2019.
39. SCHUH, Christina MAP et al. Exosome-like vesicles in *Apis mellifera* bee pollen, honey and royal jelly contribute to their antibacterial and pro-regenerative activity. **Journal of Experimental Biology**, v. 222, n. 20, 2019.
40. NEUPANE, Bishnu Prasad et al. Himalayan honey loaded iron oxide nanoparticles: synthesis, characterization and study of antioxidant and antimicrobial activities. **International journal of nanomedicine**, v. 14, p. 3533, 2019.
41. ABDEL-SHAFI, Seham et al. Biological characterization and inhibition of streptococcus pyogenes ZUH1 causing chronic cystitis by crocus sativus methanol extract, bee honey alone or in combination with antibiotics: An in vitro study. **Molecules**, v. 24, n. 16, p. 2903, 2019.
42. GHRAMH, Hamed A.; KHAN, Khalid Ali; ALSHEHRI, Ali Mohammed A. Antibacterial potential of some Saudi honeys from Asir region against selected pathogenic bacteria. **Saudi journal of biological sciences**, v. 26, n. 6, p. 1278-1284, 2019.
43. SINDI, Azhar et al. Anti-biofilm effects and characterisation of the hydrogen peroxide activity of a range of Western Australian honeys compared to Manuka and multifloral honeys. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-17, 2019.
44. NAYAKA, Ni Made DMW et al. Antioxidant and antibacterial activities of multiflora honey extracts from the Indonesian *Apis cerana* bee. **Journal of Taibah University Medical Sciences**, v. 15, n. 3, p. 211-217, 2020.
45. AL-BRAHIM, Jehan S.; MOHAMMED, Afrah E. Antioxidant, cytotoxic and antibacterial potentials of biosynthesized silver nanoparticles using bee's honey from two different floral sources in Saudi Arabia. **Saudi journal of biological sciences**, v. 27, n. 1, p. 363-373, 2020.
46. ROSLI, Farah Nadiah et al. Stingless bee honey: evaluating its antibacterial activity and bacterial diversity. **Insects**, v. 11, n. 8, p. 500, 2020.
47. BROWN, Elijah et al. Physical characteristics and antimicrobial properties of *Apis mellifera*, *Frieseomelitta nigra* and *Melipona favosa* bee honeys from apiaries in Trinidad and Tobago. **BMC complementary medicine and therapies**, v. 20, n. 1, p. 1-9, 2020.
48. NG, Wen-Jie et al. The Antibacterial Potential of Honeydew Honey Produced by Stingless Bee (*Heterotrigona itama*) against Antibiotic Resistant Bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n. 12, p. 871, 2020.
49. GREEN, Kathryn J.; DODS, Kenneth; HAMMER, Katherine A. Development and validation of a new microplate assay that utilises optical density to quantify the

- antibacterial activity of honeys including Jarrah, Marri and Manuka. **PLoS One**, v. 15, n. 12, p. e0243246, 2020.
50. ORŠOLIĆ, Nada et al. Natural Phenolic Acid, Product of the Honey Bee, for the Control of Oxidative Stress, Peritoneal Angiogenesis, and Tumor Growth in Mice. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5583, 2020.
 51. SUN, Li-Ping et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) honey extract. **Foods**, v. 9, n. 8, p. 1039, 2020.
 52. FREITAS, Débora Gaspar Feitosa; KHAN, Ahmad Saeed; SILVA, Lúcia Maria Ramos. Nível tecnológico e rentabilidade de produção de mel de abelha (*Apis mellifera*) no Ceará. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 42, n. 1, p. 171-188, 2004.
 53. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. **Portaria** nº 702, de 21 de março de 2018. Brasília, 2018.
 54. RIERA, Rachel et al. What do Cochrane systematic reviews say about new practices on integrative medicine? **Sao Paulo Medical Journal**, v. 136, n. 3, p. 251-261, 2018.
 55. NAZIR, Lubna et al. Comparison of glycaemic response to honey and glucose in type 2 diabetes. **J. Pak. Med. Assoc**, v. 64, n. 1, p. 69-71, 2014.
 56. ABDULRHMAN, M. A. Honey as a sole treatment of type 2 diabetes mellitus. **Endocrinol Metab Syndr**, v. 5, n. 232, p. 2161-1017.1000232, 2016.