

CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DE PRÓPOLIS VERMELHA E VERDE FRENTE A MICRORGANISMOS CAUSADORES DE MASTITE

Charline Marchioro¹, Denise Nunes de Araujo², Quezia Longhini Machado³, Islane Lorraine Carvalho Fagundes³, Guilherme Luiz Deolindo⁴, Aleksandro Schafer da Silva⁵, Fernanda Picoli⁶, Lenita de Cássia Moura Stefani⁷

Vinculado ao projeto “Efeitos da aplicação intramamária de própolis vermelha em ovelhas com mastite subclínica sobre eficiência produtiva, qualidade do leite e eficácia curativa”

¹Acadêmico (a) do Curso de Zootecnia – CEO – Bolsista Iniciação Científica PROBIC/UDESC

²Orientadora Denise Nunes de Araújo. Departamento de Zootecnia – CEO / UDESC Oeste – E-mail: denise.araujo@udesc.br

³ Mestranda em Zootecnia, PPGZOO / UDESC Oeste.

⁴ Doutorando em Zootecnia, PPGZOO / UDESC Oeste.

⁵ Professor do Programa de Pós-Graduação da UDESC Oeste – PPGZOO.

⁶ Professora do Departamento de Zootecnia, UDESC Oeste.

⁷ Professora, UDESC, Florianópolis, SC, Brazil.

A mastite subclínica em ovelhas é uma inflamação da glândula mamária desencadeada por microrganismos patogênicos, que inclui bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, e Gram-negativas, como *Escherichia coli*. É uma das doenças mais comuns em ovelhas durante a lactação. A própolis é uma mistura complexa formada por material resinoso e balsâmico, coletado pelas abelhas dos ramos, flores, pólen, brotos e exsudatos de árvores; além desses, na colmeia, as abelhas adicionam secreções salivares e enzimas (Pereira et al., 2002; Franco et al., 2000). Dessa forma, existem diversas variedades de própolis, entre as quais se destacam a própolis vermelha, originada a partir da planta *Dalbergia ecastophyllum*, e a própolis verde, derivada da planta *Baccharis dracunculifolia*. Este estudo visa avaliar a atividade antibacteriana da própolis vermelha e verde com diferentes diluições, através do método de concentração inibitória mínima em caldo. Para esse estudo, utilizou-se isolados bacterianos (uma bactéria Gram positiva e uma bactéria Gram negativa), provenientes da bacterioteca do Laboratório de Biologia Molecular, Imunologia e Microbiologia da UDESC – Universidade do Estado de Santa Catarina. Dentre os isolados, foram selecionadas bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e gram negativa (*Escherichia coli*). As bactérias foram reativadas em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) e incubadas a 37° C por 24 horas. Após a incubação, emulsionaram-se os inóculos em água ultrapura, sendo a turvação ajustada à escala 0,5 de McFarland equivalente a 10⁻⁸ células/ml. O teste de escolhido para avaliação da eficácia da própolis vermelha e verde consistiu na determinação da concentração inibitória mínima (MIC). Foram testadas as seguintes substâncias: I - Extrato de própolis vermelha; II - Extrato de própolis verde. As amostras de própolis foram adquiridas da Empresa Bee Própolis Brasil, no município de Bambuí do estado de Minas Gerais. A concentração empregada, que corresponde a 100% de própolis, foi preparada mediante o seguinte procedimento: inicialmente, a própolis bruta foi triturada até ser reduzida a pequenos grânulos. Em seguida, 500 gramas desse material processado foram pesados e diluídos em 500 ml de álcool a 70 °GL. A solução resultante foi então submetida a banho-maria por 5 horas a uma temperatura de 25°C. Após esse período, a solução foi peneirada e filtrada para remover os resíduos mais finos. Finalmente, a própolis foi

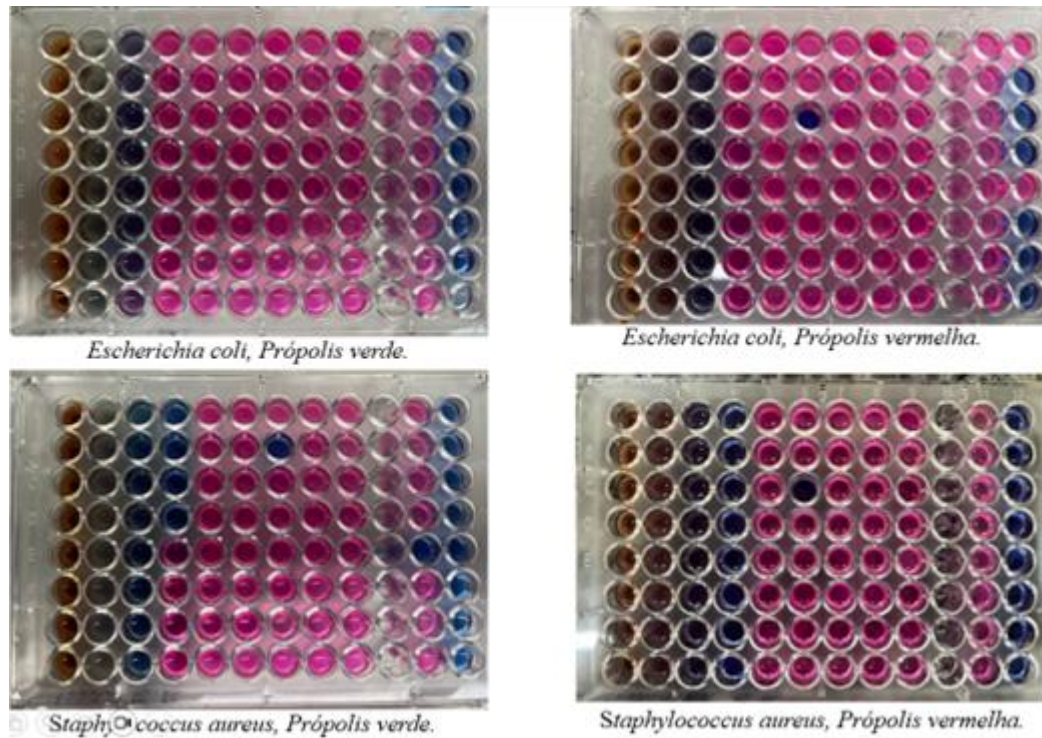
acondicionada em um frasco de vidro âmbar autoclavado e mantida sob refrigeração. Dessa forma, foi realizada a MIC em quatro microplacas de 96 poços (Kasvi) através de diluições do extrato de própolis em caldo MH (Mueller Hinton Broth). Foram realizadas as seguintes diluições: 1×10^{-1} , 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5} , 1×10^{-6} , 1×10^{-7} , 1×10^{-8} . O meio inoculado foi usado como controle positivo (controle de crescimento), e apenas o meio de cultura foi usado como controle negativo (controle de esterilidade). As placas foram incubadas a $35,4 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas. Após o período de incubação das diferentes diluições do agente antimicrobiano com o inóculo bacteriano, foi utilizado o método colorimétrico da resazurina 0,1% para realizar a leitura visual dos resultados. Em que a cor azul caracterizou a inatividade bacteriana e a cor rosa o crescimento das bactérias. Portanto, a CIM foi determinada a partir da menor diluição capaz de inibir o crescimento bacteriano. Os resultados obtidos da MIC para o extrato de própolis demonstraram sua significativa eficácia frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Observa-se que o *Staphylococcus aureus* apresentou sensibilidade (S) à própolis vermelha na diluição seriada de 1×10^{-3} , conforme evidenciado na Tabela 1. Em contrapartida, o isolado de *Escherichia coli* mostrou-se sensível (S) à própolis vermelha em uma diluição seriada de 1×10^{-2} . Os resultados do CIM da própolis no presente estudo apontaram que a própolis é eficaz contra *S. aureus*. A análise dos mecanismos da própolis permite interferir seu efeito sobre a permeabilidade da membrana celular do microrganismo (Przybyłek, 2019). De acordo com Bankova et al. (1999) e Marcucci et al. (2001), esta maior atividade da própolis sobre as bactérias Gram positivas deve-se aos flavonoides, ácidos e ésteres aromáticos presentes na resina, que atuam sobre a estrutura bacteriana da parede celular desses microrganismos, através de um mecanismo de ação ainda não elucidado; confirmando, portanto, a melhor eficiência sobre as bactérias Gram-positivas aqui testadas. Bankova et al. (2005) não encontraram nenhuma atividade antibacteriana do extrato de própolis sobre os isolados de *Escherichia coli*. A ação da própolis em micro-organismos patogênicos é atribuída, possivelmente, à sua habilidade de formar complexos com proteínas extracelulares e solúveis, além de se ligar às paredes celulares bacterianas, provocando alterações na membrana celular dos micro-organismos. O mecanismo bactericida é devido ao vazamento de conteúdo citoplasmático, perda potencial de membrana, alteração da permeabilidade da membrana, distribuição de lipídios, entrada de peptídeos ou desencadeamento de enzimas autolíticas (Zasloff, 2002; Busani et al., 2012). Os dados preliminares indicam que a própolis vermelha pode representar uma alternativa promissora aos antibióticos no tratamento da mastite, embora mais informações sejam necessárias para corroborar sua eficácia em larga escala. A continuidade da pesquisa, especialmente a aplicação em campo, será crucial para confirmar o uso da própolis como um tratamento natural e seguro, promovendo a redução de resíduos de antibióticos no leite e ajudando no controle da resistência microbiana.

Tabela 1 – Resultado da Concentração Inibitória Mínima para as amostras testadas.

Isolados	Própolis	Diluição seriada							
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
<i>S. aureus</i>	Verde	-	-	-	-	-	-	-	-
	Vermelha	-	-	S	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i>	Verde	-	-	-	-	-	-	-	-
	Vermelha	-	S	-	-	-	-	-	-

Fonte: arquivo pessoal (2024)

Figura 1- Resultado da Concentração Inibitória Mínima para as amostras testadas.



* A coloração rosa indica crescimento da cepa avaliada; a coloração azul indica ausência de crescimento pela aplicação da resazurina.

Fonte: arquivo pessoal (2024)

Palavras-chave: Isolado. Mastite. Própolis.