

MASTITE EM OVELHAS: TESTES DE SUSCEPTIBILIDADE IN VITRO COM DIFERENTES TIPOS DE PRÓPOLIS¹

Juliana Antunes Radwanski², Denise Nunes de Araujo³, Charline Marchioro⁴, Islane Lorraine Carvalho Fagundes⁵, Guilherme Luiz Deolindo⁶, Aleksandro Schafer da Silva⁷, Fernanda Picoli⁸, Lenita de Cássia Moura Stefani⁹

¹ Vinculado ao projeto “Efeitos da aplicação intramamária de própolis vermelha em ovelhas com mastite subclínica sobre eficiência produtiva, qualidade do leite e eficácia curativa”

² Acadêmica do Curso de Zootecnia – CEO / UDESC Oeste – Bolsista PIBIC-Af/CNPq.

³ Professora Dra. Orientadora Denise Nunes de Araújo. Departamento de Zootecnia – CEO / UDESC Oeste – E-mail: denise.araujo@udesc.br

⁴ Acadêmica do Curso de Zootecnia – CEO / UDESC Oeste.

⁵ Mestranda em Zootecnia, PPGZOO - CEO / UDESC Oeste.

⁶ Doutorando em Zootecnia, PPGZOO – CEO / UDESC Oeste.

⁷ Professor do Departamento de Zootecnia – CEO / UDESC Oeste.

⁸ Professora colaboradora do Departamento de Zootecnia – CEO / UDESC Oeste.

⁹ Professora PhD. Departamento de Educação Científica e Tecnológica – CEAD. Florianópolis/Santa Catarina, Brasil.

A mastite em ovelhas é uma inflamação da glândula mamária causada por microrganismos patogênicos, como bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*). Essa condição faz com que haja perdas econômicas devido à redução da produção e qualidade do leite, além de gerar impactos na saúde dos animais e do consumidor (Mota, 2008). Consequentemente, o tratamento envolve o uso de antibióticos, porém o seu uso contínuo levanta preocupações sobre resíduos no leite e o desenvolvimento de resistência microbiana. De acordo com Vargas et al. (2004), a própolis possui propriedades biológicas diversificadas, incluindo atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antibacterianas, antivirais, antifúngicas e até anticancerígenas, sendo utilizada na medicina tradicional desde a antiguidade (Kujumgiev et al., 1999; Banskota et al., 2000; Sforcin et al., 2000; Marcucci et al., 2001). Portanto, este estudo busca verificar a eficácia da própolis vermelha, verde e marrom obtidas de *Apis mellifera*, e de abelha sem ferrão Borá (*Tetragona clavipes*), como uma alternativa aos tratamentos convencionais. Para tal, os métodos escolhidos para avaliar foram o uso de discos embebidos em própolis, a técnica de difusão em poço de ágar e a incorporação direta da própolis no meio de cultura. Foram selecionados os microrganismos Gram-positivo (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativo (*Escherichia coli*) da bacterioteca do Laboratório de Microbiologia e Imunologia (LABMIM). As bactérias foram ressuspensas em caldo BHI (Brain Heart Infusion) durante 24 horas a 37°C. Após o período de crescimento, as amostras foram ajustadas utilizando a escala MacFarland 0,5. Primeiramente procedeu-se a técnica de disco-difusão, na qual foram cortados discos de papel filtro com 4mm de diâmetro e autoclavados para a esterilização. Esses discos foram colocados em placa de Petri previamente identificadas de acordo com o tipo de própolis utilizada. Cada placa continha seis discos e foram identificados e embebidos com as própolis vermelha, verde, marrom e de abelha sem ferrão borá (Figura 1). Após a imersão, os discos foram deixados secar aproximadamente 24 horas em uma cabine de fluxo laminar. As bactérias foram inoculadas em ágar Muller Hilton com o auxílio de um swab estéril, e posteriormente, os discos contendo as própolis foram aplicados na

superfície do ágar utilizando uma pinça estéril. A segunda técnica empregada foi a difusão em poço, com o objetivo de determinar o perfil de sensibilidade das bactérias *E. Coli* e *S. aureus* às própolis. A técnica envolveu a inoculação das bactérias na superfície da placa utilizando um swab estéril, em seguida foram feitas a perfuração de orifícios de 6 mm de diâmetro com auxílio de uma ponteira para micropipeta no meio de cultura ágar Muller Hilton, já solidificado em placas de Petri, totalizando seis poços por placa. Logo após, em cada poço foram distribuídos 100 µL de própolis (vermelha, verde, marrom, borá) em cada placa. A terceira técnica consistiu na incorporação direta da própolis ao meio de cultura ágar Muller Hilton. Este procedimento visa avaliar se a integração da própolis ao meio de cultura pode potencializar sua atividade antimicrobiana. Na sequência, antes da solidificação do meio, foram inseridas 250 µL de cada própolis juntamente ao meio de cultura, e posteriormente, as placas foram inoculadas com as bactérias *E. coli* e *S. aureus* com o uso de swab. Para as três técnicas as placas foram incubadas a 35°C por 24 horas. Em cada placa foram medidos, com uma régua, os halos de inibição do crescimento microbiano. Os resultados iniciais com a técnica de disco-difusão mostraram inibição limitada do crescimento microbiano, com a própolis vermelha inibindo o crescimento em apenas um dos seis discos testados por placa. Na segunda técnica, o método se mostrou eficaz somente para a própolis vermelha, havendo resistência para a bactéria *E. coli*, porém para as demais própolis não tiveram atividade antimicrobiana significativa. No entanto, para a bactéria *S. aureus* o resultado foi inconclusivo. A terceira técnica mostrou eficácia também para a própolis vermelha, onde não houve crescimento bacteriano. No entanto, em placas contendo outras variedades de própolis (verde, marrom, borá), apresentaram crescimento bacteriano, indicando que essas própolis não foram eficazes nas condições testadas. Os resultados preliminares indicam que a própolis vermelha pode ser uma alternativa promissora aos antibióticos para o tratamento da mastite em ovelhas. A continuidade do estudo a campo será essencial para confirmar o uso da própolis como um tratamento seguro e natural, com capacidade para diminuir resíduos de antibióticos no leite e controlar a resistência microbiana.

Tabela 1. Eficácia dos tipos de própolis em função da técnica aplicada para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Própolis	Técnica	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Conclusão
Vermelha	Disco-Difusão	Resistente	Resistente	Inibição limitada
	Difusão em Poço	Resistente	Inconclusivo	Eficácia limitada
	Incorporação no Ágar	Sensível	Sensível	Eficaz
Verde	Todas as Técnicas	Resistente	Resistente	Ineficaz
Marrom	Todas as Técnicas	Resistente	Resistente	Ineficaz
Borá	Todas as Técnicas	Resistente	Resistente	Ineficaz

Fonte: Do autor (2024).

Figura 1 – Discos com diferentes tipos de própolis preparados para a avaliação da atividade antimicrobiana.



Fonte: Do autor (2024).

Palavras-chave: Antibiograma. Mastite. Própolis Vermelha.