



UNIVERSIDADE PARANAENSE

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *in vitro* DE EXTRATO E TINTURA DE PRÓPOLIS
FRENTE A *Staphylococcus* sp. ISOLADOS DE MASTITE BOVINA

ELAINE GIL MORESCHI

UMUARAMA, 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Mestrado em Ciência Animal

Atividade antibacteriana *in vitro* de extrato e tintura de própolis frente a
Staphylococcus sp. isolados de mastite bovina

ELAINE GIL MORESCHI

Dissertação apresentada a
Universidade Paranaense
como parte dos requisitos
para a obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

UMUARAMA-PR

ABRIL - 2010

M 843a M oreschi, Elaine Gil.

A tividade antibacteriana in vitro de extrato e tintura de
própolis frente a Staphylococcus sp. Isolados de mastite ovina
/ Elaine Gil M oreschi. – U m uarama : U niversidade
Paranaense – U NIPAR , 2010.

44 f.

O rientador: Prof. Dr. Lisiane de Almeida M artins.

D issertação (M estrado) - U niversidade Paranaense -
U NIPAR .

1. M edicina veterinária. 2. M astite bovina. 3. Própolis. 4.
Staphylococcus aureus. I. U niversidade Paranaense – U NIPAR . II.
Título.

(21 ed) CDD : 636.214

Bibliotecária Responsável

Inês Gemelli

CRB 9/966



UNIVERSIDADE PARANANSE - UNIPAR

Mestrado em Ciência Animal

ELAINE GIL MORESCHI

**Atividade antibacteriana *in vitro* de extrato e tintura de própolis frente a
Staphylococcus sp. isolados de mastite bovina**

ORIENTADOR: Profa. Dra. Lisiane de Almeida Martins

Aprovada em 16/04/2010

EXAMINADORES:

Prof. Dra. Lisiane de Almeida Martins

Prof. Dra. Sheila Rezler Wosiacki

Prof. Dr. Luiz Sérgio Merlini

Umuarama, 2010

Aos meus pais Claudécir e Verginia pelo
incentivo e apoio para a realização deste
ideal.

A G R A D E C I M E N T O S

Primeiro à Deus, por sempre me direcionar e estar me proporcionando a sabedoria e força nos momentos difíceis.

À minha filha por sempre compreender a minha ausência,

À minha família por esta ajuda, por estar presente em todos os momentos, e por todo amor e afeto.

Ao meus avós que estão sempre presente em minha vida.

À Prof. Dra. Lisiane de Almeida Martins pela orientação para a realização deste trabalho, pela paciência, disponibilidade, e principalmente por sua amizade em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Aristeu Vieira da Silva pelo apoio e atenção que tanto contribuíram para a realização deste estudo.

Aos meus amigos que me apoiaram.

À todos que contribuíram para a realização desta pesquisa, em especial a minha amiga Kelli Cristina Martini que realizou essa parceria comigo, também a ajuda da Renata Agostinis e Mirelly Vitalina Rocha.

À Universidade Paranaense – UNIPAR.



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Mestrado em Ciência Animal

MORESCHI, E.G. . ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *in vitro* DE EXTRATO E TINTURA DE PROPOLIS FRENTE A *Staphylococcus* sp. ISOLADOS DE MASTITE BOVINA. 36f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Paranaense, 2010.

RESUMO

A mastite bovina é uma resposta inflamatória da glândula mamária, considerada a maior enfermidade do gado leiteiro. Entre os principais microrganismos envolvidos na sua etiologia está o *Staphylococcus aureus*, que produz uma variedade de toxinas extracelulares e de fatores de virulência relacionados à sua patogenicidade. O uso de antimicrobianos alternativos, como no caso da própolis, é uma alternativa para o tratamento da mastite, visando à maior eficácia terapêutica, benefícios econômicos e a redução das fontes de infecção. A própolis é colheita de colméias de abelhas, já são identificadas mais de 300 tipos de própolis de acordo com os compostos químicos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade bacteriana da tintura e do extrato de própolis frente a isolados de *Staphylococcus* sp. e se há presença do sinergismo. Foram utilizadas 43 amostras de isoladas de leite com mastite bovina. A atividade antimicrobiana foi realizada pela técnica difusão em discos associando a tintura e o extrato de própolis aos seguintes antibióticos: ampicilina, amoxicilina, estreptomina, enrofloxacina, eritromicina, gentamicina, neomicina e a tetraciclina. Os resultados relacionados a sensibilidades dos isolados estudados frente aos antibióticos isolados mostraram-se bastante positivos, considerando que o alto índice de sensibilidade a maioria das drogas utilizadas, exceto a estreptomina que obteve a faixa intermediária e associada a tintura e ao extrato passou a faixa sensível. Comparando-se a tintura de própolis com o extrato pode-se observar que a tintura apresenta maior atividade bactericida. Concluiu-se que tanto a tintura quanto ao extrato de própolis apresentaram a atividade bactericida um acréscimo na sensibilidade associada a antibióticos frente aos isolados de *Staphylococcus* sp. e sensíveis aos antibióticos testados.

Palavras-chave: Mastite bovina, Tintura, Extrato de própolis, *Staphylococcus aureus*



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Mestrado em Ciência Animal

M O R E S C H I, E. G . Bacterial activity in vitro dye and extract própolis compared isolates from bovine mastitis.....f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Paranaense, 2010.

ABSTRACT

Bovine mastitis is an inflammatory response of the breast gland, considered the major disease of dairy herds. Among the main micro-organisms involved in its etiology the *Staphylococcus aureus* is present, which produces a variety of extracellular toxins and virulence factors, that are related to its pathogenicity. The use of antibiotic, like propolis, is an alternative for mastitis treatment, aiming a better therapeutic efficacy, economic benefits, and the reduction of the infection sources. The propolis is collected from bees hives, and more than 300 of different types are identified, according to chemical compounds. This search aims to assess the bacterial activity of the propolis dye and extract, and verify if there is a presence of synergism. 43 isolated samples of isolated milk with bovine mastitis were used. The antibiotic activity was performed by the disc diffusion technique, associating both propolis dye and extract with the following antibiotics: ampicillin, amoxicillin, streptomycin, enrofloxacin, erythromycin, gentamicin, neomycin and tetracycline. The results concerned to the sensibility of the isolated studied, comparing to the isolated antibiotic, demonstrate a positive response, regarding to the high indices of sensibility to the mostly used drugs. The exception was streptomycin, which obtained the mid-range, and associated with both propolis dye and extract changed to full sensitive range. The propolis dye can promote a greater bactericidal activity than the extract. This research concludes that either propolis dye, or the extract, provided to the bactericidal activity an improvement of the sensibility associated to antibiotics, against the isolated of *Staphylococcus sp.* and sensitive to the antibiotics tested.

Keywords: Bovine mastitis, Dye and propolis, *Staphylococcus aureus*.



UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR

Mestrado em Ciência Animal

Sumário

Atividade antibacteriana <i>in vitro</i> de extrato e tintura de própolis frente a <i>Staphylococcus</i> sp isolados de mastite bovina	
Introdução	12
Material e métodos	17
Resultados	18
Discussão	21
Conclusão	25
Agradecimentos	06
Referências	26
Anexo 01: Certificado do Comitê em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal	29
Anexo 02: Norma do periódico Archives of Veterinary Science (ISSN -1517-784X)	
Anexo 03: Classificação do periódico na Qualis	
Anexo 04: Comprovação de submissão	



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Mestrado em Ciência Animal

Elaine Gil Moreschi¹; Kelli Cristina Martini; Renata Agostinis²; Mirelly Vitalina Rocha²;
Zilda Cristiani Gazim³; Lisiane de Almeida Martins⁴

Resumo:

A mastite é a principal enfermidade dos rebanhos leiteiros e pode se apresentar de forma clínica e subclínica. O principal tratamento utilizado nos animais infectados/enfermos é a administração de antibióticos, porém seu uso inadequado leva a seleção de microrganismos resistentes, além de apresentar altos custos, presença de resíduos de antibióticos no leite e ainda os resíduos tem um efeito inibidor no desenvolvimento de fermentações lácteas. A própolis é uma substância produzida por abelhas melíferas coletadas de diferentes plantas. Essa substância apresenta várias atividades, como antioxidante, antitumoral, antiinflamatória e entre elas antimicrobiana. Considerando esta atividade, este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade bactericida do extrato e tintura de própolis frente a isolados de *Staphylococcus* sp. e também avaliar o sinergismo e antagonismo quando associado aos antibióticos convencionais. Foi testado o perfil de sensibilidade a 8 antibióticos, ampicilina, amoxicilina, estreptomina, enrofloxacina, eritromicina, gentamicina,

¹ Acadêmica do Mestrado em Ciência Animal – UNIPAR – Umuarama – PR.

² Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária – Bolsista de Iniciação Científica – UNIPAR – Umuarama – PR.

³ Docente do Curso de Farmácia da UNIPAR – Umuarama – PR.

⁴ Docente do Curso de Medicina Veterinária e Mestrado em Ciência Animal – UNIPAR – Umuarama – PR.

neomicina e a tetraciclina, de 43 amostras de *Staphylococcus* sp, em duplicata, utilizando-se antibióticos isolados e em associação a tintura e extrato de própolis. Verificou-se que a grande maioria dos isolados foi sensível aos antibióticos testados, com exceção da estreptomicina, a qual apresentou sensibilidade intermediária. Comparando a tintura de própolis com o extrato de própolis pode-se observar que a tintura tem maior sensibilidade, tendo mais atividade bactericida. Portanto, foi possível concluir que a própolis apresenta atividade bactericida frente aos isolados testados.

Palavras-chave: Mastite bovina, Tintura, extrato de própolis, *Staphylococcus* sp.

Abstract:

Abstract 1:

Mastitis is the major disease of dairy herds and may be present in a clinical and subclinical form. The main treatment, used in the infected dairy cattle, is the administration of antibiotics, however it brings up a high cost. Moreover, the inappropriate use of these drugs selects resistant microorganisms, leaves antibiotic residues in milk, that has an inhibitory effect on fermentation milk development. Propolis is a substance produced by honey bees collected from different plants. This substance has many activities like antioxidant, anti-tumour, anti-inflammatory, and among them the antibiotic one. Regarding this activity, this research aims to assess the bacterial activity of both propolis dye and extract, against *Staphylococcus* sp., and also to analyze the synergism and antagonism, when associated to conventional antibiotics. It was tested the sensibility profile to 8 antibiotic: ampicillin, amoxicillin, streptomycin,

enrofloxacin, erythromycin, gentamicin, neomycin and tetracycline of 43 samples of *Staphylococcus* SP, in duplicate, using isolated antibiotic and in association with the propolis extract and dye. It was verified that the most isolated were sensible to the tested antibiotics, except streptomycin, which presented mid-range. The propolis dye also has a higher sensibility power than the extract, therefore, a better bacterial activity. Finally, it is possible to conclude, that propolis presents a bacterial activity against the tested isolated.

Keywords: Bovine mastitis, Dye and propolis, *Staphylococcus aureus*.

INTRODUÇÃO :

A mastite bovina é uma doença complexa que pode ter diferentes causas, graus de intensidade, variação de duração e consequência. Consiste num processo inflamatório da glândula mamária que promove diversas alterações neste tecido afetando a produção leiteira tanto em qualidade quanto em quantidade (Magiéri et al., 2007). O leite é um dos principais alimentos na dieta do homem, em todas as faixas etárias sendo considerado de grande importância para a saúde humana. A qualidade do leite que chega para ser beneficiado nos laticínios depende em grande parte do processo de obtenção nas propriedades. O principal problema na sua qualidade é a infecção das glândulas mamárias, a mastite esta ainda continua sendo a doença mais freqüente nos bovinos leiteiros (Langoni et al., 2009). A inflamação da glândula mamária é geralmente de caráter infeccioso, podendo ser classificado como mastite clínica e subclínica (Mendonça et al., 1999). Na mastite clínica tem como principal característica alteração macroscópica do leite, a qual pode apresentar-se de diferentes formas associadas a lesões inflamatórias de

diferentes graus no úbere. A mastite subclínica ocorre quando há aumento do número de leucócitos (células somáticas), apesar do leite apresentar aspecto macroscópico normal e ausência de sinais visíveis de inflamação no úbere (Coldebella et al., 2003).

Embora possam ser causados por inúmeros microrganismos os *Staphylococcus aureus* são reconhecidos como os agentes etiológicos mais isolados em vários países do mundo (Nader Filho et al., 2007). Esses microrganismos produzem grandes variedades de toxinas extracelulares que estão relacionados a patogenicidade, a resistência bacteriana (Matsunaga et al., 1993), e ainda suas toxinas podem ser eliminadas no leite que é utilizado em laticínios e indústrias acarretando sérios problemas de saúde pública (Pinheiros et al., 2007).

O tratamento da mastite também acarreta problemas na qualidade do leite gerando preocupações tanto para as indústrias quanto para a saúde (Nobrega et al., 2009). A utilização do tratamento com antimicrobianos é uma medida realizada no controle da mastite. As principais metas de uma terapia antimicrobiana são: prevenção da mortalidade nos casos agudos, retorno à composição e produção normal do leite, e prevenção de novas infecções no período seco (Almeida et al., 1999). Esse uso de medicamentos gera um impacto negativo pela resistência bacteriana com baixa taxa de cura e o fator econômico, devido a eliminação do leite. O problema da resistência microbiana é crescente e a perspectiva de uso de drogas antimicrobianas no futuro é incerta (Vargas et al., 2004).

Além dos prejuízos relacionados diretamente com a perda na produção, o custo dos medicamentos empregados no combate a doença (Costa et al., 1995) e ainda o descarte do animal em situações de populações bacterianas resistentes (Longhini et al., 2007).

Segundo Pinto et al. (2001), a mastite é a doença que proporciona maiores perdas econômicas no Brasil e no mundo na exploração do gado leiteiro. Estim a-se mundialmente que as perdas anuais causada pela doença são por volta de 35 bilhões de dólares.

Com o insucesso do tratamento, os altos custos e a presença de resíduos de antibióticos, cresce a busca de métodos alternativos para o tratamento da mastite. Atualmente, observa-se um crescimento na utilização de fitoterápicos pela população brasileira. Alguns fatores poderiam explicar o aumento do uso desses medicamentos, como os avanços ocorridos na área científica que permitem o desenvolvimento de fitoterápicos reconhecidamente seguros e eficazes, como também uma forte tendência de busca, pela população, por terapias menos agressivas destinadas ao atendimento primário à saúde (Ribeiro, 2005). Entre todas as possibilidades de tratamentos com fitoterápicos salienta-se a utilização da própolis.

A própolis é uma substância resinosa de coloração e consistência variada, coletada de exsudatos de plantas, tais como o secreções de árvores, folhas e flores por abelhas melíferas. Essa resina é utilizada pelas abelhas na proteção da colméia contra a proliferação de microrganismos, incluindo fungos e bactérias (Silva et al., 2006).

Segundo Fischer (2008), a composição da própolis é extremamente complexa, mais de 300 substâncias diferentes já foram identificadas. Suas características constituintes podem variar de acordo com a espécie de abelhas e época do ano que é coletada. De maneira geral, a composição da própolis inclui 55% de resinas e bálsamos, 30% de cera, 10% de pólen, ácidos fenólicos, além de minerais (Silva et al., 2006). Ácidos e ésteres alifáticos, ácidos e ésteres aromáticos, açúcares, álcoois, aldeídos, ácidos graxos, aminoácidos, cetonas, flavonóides, proteínas, vitaminas, são os compostos da própolis. destacando em alguns compostos a presença de flavonóides, grande responsável pelo sinergismo segundo Longhini et al., (2007). Nas ações antiviral, antiinflamatório, antioxidante, antiparasitária e entre elas a mais importante a antimicrobiana Fischer, (2008). O extrato etanólico de própolis tem efeito bactericida causado pela presença de ingredientes ativos, sugerindo que sua combinação com antimicrobianos possa permitir a redução da dose clínica de determinados antibióticos e, assim diminuir a incidência de efeitos colaterais e ao mesmo tempo potencializar a antibioticoterapia no tratamento de infecções em que a resistência bacteriana torna-se fator determinante.

De acordo com Castro et al. (2007), a composição química da própolis pode sofrer influências das diferentes zonas de temperatura relacionadas às regiões de coleta pelas abelhas. Entretanto, a atividade biológica da própolis está relacionada. Em zonas temperadas, como na Europa, América do Norte e regiões não tropicais da Ásia, a fonte dominante para a produção da própolis é o exsudato do botão álamo Fischer et al., (2008).

No Brasil Fernandes Júnior et al. (2006) verificaram a variação da atividade do extrato alcoólico própolis de diferentes regiões. Desta forma pode-se verificar que a localização geográfica interferiu significativamente na eficácia inibitória frente a *S.aureus*, *Enterococcus* sp., *E.coli*, *P.aeruginosas* e *C.albicans*.

A coloração da própolis depende de sua procedência. Varia de marrom escuro passando a uma tonalidade esverdeada até o marrom avermelhado. Possui odor característico que pode variar de uma amostra para outra (Vargas, 2008).

Contudo, a origem botânica parece o fator mais importante a ser considerado na tentativa de explicar a variabilidade química entre diferentes amostras de própolis. O extrato etanólico de própolis inibe o crescimento bacteriano por prevenir a divisão celular e por produzir defeitos na estrutura da parede celular, levando à bacteriólise parcial e à formação de bactérias pseudomulticelulares e ainda desorganizar o citoplasma, caracterizando pela presença de espaços vazios ou estruturas fibrosas, além de causar alterações na membrana citoplasmática e inibir a síntese protéica (Pinto et al., 2001).

Considerando a importância do leite para a saúde, a mastite vem sendo uma grande preocupação pelo difícil tratamento. Assim este trabalho teve como objetivo avaliar a ação de antibióticos frequentemente utilizados no tratamento de mastite, de forma isolado e em associação e testar a atividade antibacteriana *in vitro* do extrato e tintura de própolis, em isolados de *Staphylococcus* sp., provenientes de mastite bovina.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo da tintura de própolis:

Utilizou-se 100g de própolis bruto no município de Umuarama-PR, pulverizado em um litro de álcool a 93,7% (p/p). O material foi submetido ao processo de turboextração conforme técnica descrita por Longhini et al. (2007).

Preparo do extrato hidroglicólico de própolis:

Própolis bruto do município de Umuarama-PR, (50%) foi submetido à técnica adaptada da FARMACOPÉIA BRASILEIRA (1977), por maceração em sete dias, seguida de redução do volume em rotaevaporador e ressuspensão em propilenoglicol, até obtenção de 100 mL finais.

Antibióticos

As amostras isoladas de leite bovino foram testadas frente a oito antibióticos, sendo eles a ampicilina (10 µg/mL), amoxicilina (10 µg/mL), eritromicina (15 µg/mL), enrofloxacina (5 µg/mL), estreptomina (10 µg/mL), gentamicina (10 µg/mL), neomicina (30 µg/mL), tetraciclina (30 µg/mL). Os antibióticos foram selecionados com base nos tratamentos preconizados a campo para casos de mastite bovina. Para analisar a sensibilidade das cepas bacterianas frente aos antibióticos realizou-se a técnica de difusão em meio sólido utilizando-se discos de papel filtro segundo CLSI,(2008).

Ensaio microbiológico

Foram testadas 43 amostras de *Staphylococcus* sp. de mastite bovina clínica e subclínica da região Umuarama, armazenadas na bacterioteca do

Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Paranaense, Umuarama - PR. As estirpes foram descongeladas, repicadas em agar sangue e incubadas a 37 °C por 24 horas. Após verificado o crescimento de colônias de *Staphylococcus* sp., estas foram cultivadas em caldo nutritivo (Brain Heart Infusion), e incubadas por uma hora, verificando-se a turvação do meio de cultura. Estas suspensões foram padronizadas de acordo com a escala 0,5 de Farland correspondendo à concentração de aproximadamente 10⁸ Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL). Foram realizados os antibiogramas de cada suspensão, segundo CLSI (2008), utilizando os antibióticos supra citados. Juntamente realizou-se a associação de cada um dos antibióticos com a tinturas e o extrato de própolis, adicionando-se 10µL a cada disco de papel filtro. Para controle foi utilizado álcool 70°. Após a realização do esfregaço em cada placa, foram incubadas a 37°C por 48 horas. Observou-se a presença de halo de inibição bem como seu diâmetro, sendo este mensurado em milímetros. Desta forma pode-se avaliar a atuação tanto da tintura, quanto do extrato de forma individual e também na associação com os antibióticos para verificação da presença ou não do sinergismo.

RESULTADOS

Os resultados dos antibiogramas estão demonstrados na Tabela 1, onde verificou-se que a grande maioria dos isolados mostrou-se sensível aos antibióticos testados, com exceção da estreptomina, a qual apresentou sensibilidade intermediária.

A associação da tintura de própolis com cada um dos antibióticos demonstrou um sinergismo, sendo que os halos de inibição variaram de

24,27±6,28mm quando associado a neomicina a 32,06±8,87mm na associação com a amoxicilina. Entretanto, quando associada a enrofloxacin observou-se uma diminuição do halo de sensibilidade.

A sensibilidade do *Staphylococcus* sp. frente a associação de antibióticos e extrato de própolis foi bastante evidente (Tabela 1), variando de 21,19±8,24mm, na associação com a estreptom icina a 31,56±10,83mm na associação com a amoxicilina. Observou-se que o extrato de própolis tem efeito bactericida frente ao *Staphylococcus* sp. e quando associado extrato e antibiótico, o grau de sensibilidade não mostrou diferença estatística significativa. Verificou-se um antagonismo na associação com a gentamicina, eritrom icina, enrofloxacin e neomicina os halos de inibição foram menor que os halos dos antibióticos isoladamente.

Observou-se também que a tintura de própolis e o extrato de própolis apresentaram atividade microbiana frente aos isolados, sendo esta atividade potencializada em algumas associações como no caso da estreptom icina. Mudanças nas faixas de interpretação foram detectadas, quando associado ao antibiótico, sendo inicialmente interpretada como intermediário, e ao ser associada com a estreptom icina mostrou-se sensível.

Tabela 01. Média \pm desvio padrão dos halos de inibição (mm) do crescimento de *Staphylococcus* sp. frente antibióticos e a associação destes com tintura de Tintura de Própolis e Extrato de Própolis.

	<i>Tintura de própolis</i>	Interpretação*	<i>Extrato De Própolis</i>	Interpretação*
Álcool	0,21 ^a \pm 1,94		0,21 ^a \pm 1,94	
Própolis	19,64 ^b \pm 7,95		9,57 ^b \pm 5,83	
Ampicilina	27,12 ^c \pm 12,26	S	27,12 ^c \pm 12,26	S
Própolis + Ampicilina	30,98 ^c \pm 8,31	S	28,96 ^c \pm 9,70	S
Amoxicilina	30,14 ^c \pm 12,16	S	30,14 ^c \pm 12,16	S
Própolis + Amoxicilina	32,06 ^c \pm 8,87	S	31,56 ^c \pm 10,83	S
Eritromicina	26,11 ^c \pm 9,16	S	26,11 ^c \pm 9,16	S
Própolis + Eritromicina	26,41 ^d \pm 8,52	S	26,02 ^c \pm 8,20	S
Enrofloxacina	28,05 ^c \pm 7,20	S	28,05 ^c \pm 7,20	S
Própolis + Enrofloxacina	25,75 ^c \pm 5,84	S	23,26 ^c \pm 7,33	S
Estreptomina	18,27 ^c \pm 11,37	I	18,27 ^c \pm 11,37	I
Própolis + Estreptomina	26,08 ^d \pm 10,78	S	21,19 ^d \pm 8,24	S
Gentamicina	24,92 ^c \pm 8,00	S	24,92 ^c \pm 8,00	S
Própolis + Gentamicina	25,54 ^c \pm 5,85	S	22,06 ^c \pm 6,41	S
Neomicina	24,20 ^c \pm 7,18	S	24,20 ^c \pm 7,18	S
Própolis + Neomicina	24,27 ^c \pm 6,28	S	22,09 ^c \pm 5,68	S
Tetraciclina	21,58 ^c \pm 12,43	S	21,58 ^c \pm 12,43	S
Própolis + Tetraciclina	25,65 ^c \pm 8,43	S	23,85 ^d \pm 9,30	S

Análise estatísticas: letras diferentes demonstram diferença estatística significativa ($p < 0,05$)

*Interpretação segundo CLSI (2008).

Comparando-se a tintura de própolis com o extrato pode-se observar que a tintura apresenta maior atividade bactericida, como mostra o Gráfico 1, sendo esta estatisticamente significativa.

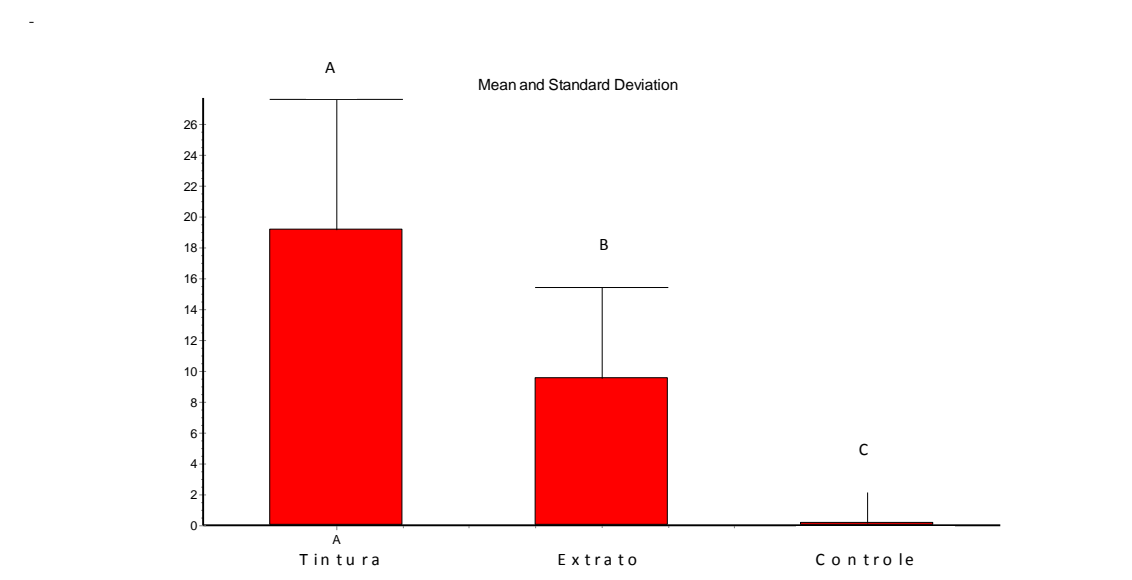


Figura 01. Média \pm desvio padrão dos halos de inibição de tintura e extrato de própolis frente a amostras de *Staphylococcus* sp. isolados de mastite bovina. Um uarama, 2009.

Análise estatística: ANOVA ($p < 0,05$). Letras diferentes mostram resultado estatisticamente significantes.

DISCUSSÃO:

Os resultados relacionados a sensibilidades dos isolados estudados frente aos antibióticos isolados mostraram-se bastante positivos, considerando que o alto índice de sensibilidade à maioria das drogas utilizadas.

Segundo Lange et al. (1998) em estudo realizado na região da Grande Porto Alegre, 100% das amostras submetidas apresentaram-se sensíveis totalmente a três antibióticos (gentamicina, sulfametazonal-trimetoprim e tiamulin). Os maiores índices de resistência foram observados contra ampicilina e penicilina (51%) e a amoxicilina (46%).

Resultados semelhantes foram observados por Araújo et al. (1998) a maioria das cepas de *S. aureus* mostraram-se sensíveis a amicacina, cefalotina, cefoxetima, clindamicina, eritromicina, gentamicina, canamicina, oxacilina, tobramicina e vacomicina. Níveis de resistência foram observadas frente a penicilina, ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina, para os quais 88 (43,8%), 90 (44,8%), 24 (11,9%) e 40 (19,9%) cepas resistentes.

Já segundo Lange et al. (1998) o modelo de resistência apenas a penicilina é confirmado em 30% das amostras, seguido da resistência à penicilina e estreptomicina, presente em 6% das amostras analisadas. Neste estudo verifica-se este mesmo perfil de resistência quando destaca-se que a estreptomicina foi inicialmente enquadrada na faixa de intermediário migrando para sensível, quando associado tanto ao extrato como a tintura de própolis. Esta alteração na sensibilidade pode ser atribuída aos mecanismos bactericidas da própolis.

Silva et al. (2008) cultivou nove amostras de leite isoladas de vacas com mastite clínica e subclínica para ensaio de perfil de resistência de *Staphylococcus* coagulase negativa (4); *Corynebacterium* spp. (2); *Streptococcus* spp. (3) e *Streptococcus* beta hemolítico (1), testados frente a amoxicilina (10 mcg), amoxicilina + ác. Clavulânico (10 mcg), cefalotina (30 mcg), cefalexina (30 mcg), enrofloxacina (5 mcg), gentamicina (10 mcg), tetraciclina (30 mcg) e penicilina (10 UI). Todos os isolados bacterianos apresentaram sensíveis a amoxicilina+ácido clavulânico e a cefalotina, entretanto para os demais antibióticos houve variação de acordo com a bactéria estudada. A gentamicina foi o antibiótico ao qual o maior número de isolados foram

resistentes, sendo sensíveis a ela apenas dois isolados de *Staphylococcus* sp. e no caso da tetraciclina foi efetiva contra dois casos isolados.

Os mesmos resultados foram encontrados por Nader Filho et al. (2007), a gentamicina foi o antibiótico que apresentou (98,6%) maior sensibilidade frente a cepas de *S. aureus*. Já na penicilina e amoxicilina a predominância (97,2%) de cepas simultaneamente resistente.

Silva et al. (2008) ao avaliar amostras de leite mastítico de 96 vacas leiteiras da região de Jataí-GO, isolou 85 amostras de *Staphylococcus* spp. que demonstraram 100% de resistência aos betalactâmicos penicilina, ampicilina e a oxacilina, resultados diferentes do presente trabalho.

Referente a própolis, o presente trabalho confirmou a atividade bactericida. Loguercio et al. (2006) também realizou o teste de sensibilidade *in vitro* utilizando os antibióticos com associação de extrato de própolis. Onde 63% das amostras bacterianas testadas, apresentaram sensibilidade ao extrato de própolis; a sensibilidade média dos isolados de *Staphylococcus* coagulase positivo (94,4%), a neomicina (25 µg) apresentou sensibilidade de 91,6%, gentamicina (10 µg) 88,8%, ampicilina e a penicilina (10 µg) 47,2 o que foi superior a sensibilidade dos isolados de *Streptococcus* sp. (85,2%) frente a extrato de própolis. Desta forma, demonstrou que o extrato etanólico de própolis foi eficaz como antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativo e *Streptococcus agalactiae*.

Vilela et al. (2005) entre as amostras de cepas bacterianas Gram positivas avaliadas, 90% foram sensíveis à solução alcoólica de própolis da

própolis marron, já nas Gram negativas a solução não exerceu efeito na inibição do crescimento (3/3).

Ferreira (2005) relatou que o extrato etanólico de própolis a 2% para *S. aureus* e 10% para *E.coli* eliminaram todas as bactérias quando as mesmas foram expostas de 6 a 9 horas aos extratos.

Vargas et al. (2008) estudou 161 amostras bacterianas avaliadas, sendo que 109 foram sensíveis ao extrato de própolis, o que representou 67,7% do total pesquisado. Apresentaram sensibilidade ao extrato 81 (92,60%) dos isolados Gram positivos e 80 (42,50%) dos Gram negativos.

As bactérias Gram positivas foram mais sensíveis ao extrato alcoólico de própolis, independente do local de coleta, quando comparada a etanol isoladamente. A maior sensibilidade das Gram positivas aos componentes da própolis fica evidente quando é comparada a ação do etanol, cujo CIM 90% variou 10,2 a 12,4% v/v, enquanto para os extratos alcoólicos de própolis, foi de 0,3% ate 3,8% v/v (Fernades Junior et al., 2006).

Bianchini et al. (2003) obteve resultados que demonstraram o efeito inibitório da própolis para quatro espécies de bactérias testadas. Algumas espécies se revelaram mais sensíveis como *Agrobacterium tumefaciens*, *Clavibacter michiganensis* subsp e *Xanthomonas axonopodis* Esta constatação evidencia que bactérias fitopatogênicas também são sensíveis às substâncias antibióticas presentes na própolis, assim como outros gêneros patogênicos ao homem e aos animais.

Segundo Loguercio et al. (2006) a concentração de 50% de própolis está em desuso, principalmente pelo desperdício de própolis bruta, e atualmente a concentração de 30% (p/v) é o padrão oficial instituído pelo Brasil (2001). Dependendo da quantidade de concentração do etanol como o solvente extrator e qual solvente utilizado, pode-se verificar a concentração dos flavonóides nos extratos etanólicos de própolis (EEP). O que vai determinar se essa própolis tem uma melhor eficácia. Observou-se que o extrato etanólico a 80% foi o que apresentou os melhores resultados e que é a melhor concentração para a preparação dos extratos. Quanto à atividade antimicrobiana dos extratos de própolis de 30 a 50% houve uma ligeira atividade, com zona de inibição de 0,5mm. Com EEP de 60 a 80% a inibição aumentou consideravelmente, com zona de inibição de 1,5 mm (Ferreira et al., 2005). Durante a coleta da própolis, as abelhas misturam a cera e a própolis coletada juntamente com a enzima 13-glicosidase presente na sua saliva, acarretando a hidrólise dos flavonóides glicosilados em flavonóides agliconas.

O estudo demonstrou uma possibilidade da utilização de associações da própolis com antibióticos, na tentativa de utilização no tratamento da mastite a campo.

CONCLUSÃO :

Pode-se concluir que tanto a tintura de própolis quanto o extrato de própolis possuem uma atividade bactericida frente a isolados de *Staphylococcus* sp. testados e que na associação com a estreptomina, permitiu uma alteração nas faixas de interpretação.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Experimentação Animal da Universidade Paranaense, Umuarama - PR.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Aristeu Vieira da Silva pelo apoio, a dedicação que contribuiu para a realização deste estudo e em especial a sua atenção.

A UNIPAR – Universidade Paranaense por (Bolsas de PIBIC e PIT)

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. C. et al. Tratamento de mastite subclínica em bovinos utilizando bioterapia. **R. Un. Alfenas**, Alfenas, v.5, p.199-203, 1999.

ARAÚJO, W. P. et al. Fegotipagem de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos, isolados de leite. **Braz. J. Res. Anin**, São Paulo, v.35, n.4, 1998.

BIANCHINI, L. et al. Efeito antibiótico do própolis sobre bactérias fitogênicas. **Depto. de Fitopatologia**, Piracicaba, SP, 2003.

CASTRO, M. L. et al. Propolis do sudeste e nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. **Quim. Nova**, v.30, n.7, p.1512-1516, 2007.

COLDEBELLA, A. et al., Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas de alta produção. **Pesq. Agrop. Brás, Brasília**, v.38, n.12, p1451-1457, 2003.

COSTA, E. O. et al. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.17, p.156-158, 1995.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 2ª. ed. São Paulo: Gráfica Siqueira. 1959.

FERREIRA, H.C. Avaliação *in vitro* de propriedades físicoquímicas de cimentos de ionômero de vidro convencionais, após adição de própolis e antibióticos. 2005. Taubaté, 59p. Dissertação (Mestrado em Dentística) – Curso de Pós Graduação em Dentística, Universidade de Taubaté..

FISCHER, G. Imunomodulação pela própolis. **Arq. Inst. Biol.** v.75, n. 2, abr./jun, p.247-253, 2008.

LANGHE, C. et al. Suscetibilidade a antimicrobianos de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina na grande Porto Alegre, Rio Grande do Sul (Brasil). **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, Porto Alegre, v.26, n.1, 1998.

LANGONI, B.D. et al., Utilização de composto homeopático no tratamento da mastite bovina. **Arq. Int. Biol**, v.76, n.4, out./dez, 2009.

LONGHINI, R. Obtenção de extrato de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Rev. Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n. 3, p.308-395, jul./set 2007.

LOGUERCIO, A. P. et al. Atividade *in vitro* do extrato de própolis contra agentes bacterianos da mastite bovina. **Pesq. Agrop. bras.** Brasília, v.41, n.2, p. 347-349 2006.

MANGIÉRI, R.J. et al., Avaliação de tratamento homeopático na mastite bovina subclínica. **Rev. Vet. Zootécnica**, v.14, n.1, jun, p.91-99, 2007.

MATSUNAGA, T. et al. Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from peracute, acute and chronic bovine mastitis. **J. Med. Sci.**, v.55, p.297-300, 1993.

MENDONÇA, C.L. et al., Etiologia da mastite bovina. **Vet Notícias**, Uberlândia, v.5, n.1, p.107-118, 1999.

NADER, A. F. et al. Suscetibilidade a antimicrobianos de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas no leite de vacas com mastite. **Arq. Inst. Biol**, São Paulo, v.74, n.1, p. 1-4, 2007.

NÓBREGA, D. B. et al. Utilização de composto homeopático no tratamento da mastite bovina. **Arq. Inst. Biol.**, v.76, n.4, p.523-537, 2009.

PINHEIROS, L. S. et al. Avaliação da capacidade antimicrobiana dos sistemas adesivos associados a própolis ou a antibióticos sobre *S. mutans*. **Rev. Cienc. Med.**, Campinas, v.16, n.1, jan-fev, 2007.

PINTO, M. S. et al. Efeito de extrato de própolis verde sobre bactérias patogênicas isolados do leite de vacas com mastite. **Braz. J. Res. Anim. São Paulo**, v.38, n. 6, p.278-283, 2001.

RIBEIRO, A. Q. Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob a influência da legislação nacional. **REV. J. Bras. Farmacognosia**, v.15, n. 1, jan./-mar., p.65-70, 2005.

SILVA, C. C et al. Suscetibilidade *in vitro* de bactérias causadoras de mastite frente a antibióticos. In: Congresso de Iniciação Científica, 17, 2008, Pelotas. Anais... Pelotas:UFPel. CD-ROM.

SILVA, R. A. et al. Características físico-químicos e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. **Cien. Rural**, v.36, n. 6, nov-dez, p.1842-1848, 2006.

VARGAS, A. C. et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extrato alcoólico de própolis. **Cien. Rural**, Santa Maria, v.34, n.1 p.159-163, 2004.

VILELA, C. O. et al. Avaliação da sensibilidade de cepas bacterianas à extrato de própolis marron. In: Congresso de Iniciação Científica, 18, Pelotas, 2005. **Anais...** Pelotas: UFPel. CD-ROM.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)