

## Notas Científicas

### Atividade in vitro do extrato de própolis contra agentes bacterianos da mastite bovina

Andrea Pinto Loguercio<sup>(1)</sup>, Ana Cláudia Mello Groff<sup>(2)</sup>, Andréia Folleto Pedrozzo<sup>(3)</sup>,  
Niura Mazzini Witt<sup>(2)</sup>, Mariana Sá e Silva<sup>(2)</sup> e Agueda Castagna de Vargas<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Av. Júlio de Castilhos, nº 3.947, Cinquentenário, CEP 95010-002 Caxias do Sul, RS. E-mail: andrea-loguercio@uergs.edu.br <sup>(2)</sup>Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Dep. de Medicina Veterinária Preventiva, Prédio 44, Sala 5.137, CEP 97105-900 Santa Maria, RS. E-mail: mellogroff@via-rs.net, niuram@bol.com.br, msaesilva@yahoo.com.br, agueda@ccr.ufsm.br <sup>(3)</sup>Cooperativa Central Oeste Catarinense, SIF 784, BR 282, Km 399, Distrito Industrial, CEP 89600-000 Joaçaba, SC. E-mail: sif784@aurora.alimentos.com.br

Resumo – Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a atividade in vitro do extrato alcoólico de própolis, contra agentes da mastite bovina, comparando-o aos principais antimicrobianos utilizados no tratamento convencional. Foram utilizados 36 isolados coagulase-positivos de *Staphylococcus* sp. e 27 isolados de *Streptococcus* sp.; 94,4% dos *Staphylococcus* sp. e 85,2% dos *Streptococcus* sp. foram susceptíveis ao extrato de própolis.

Termos para indexação: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, susceptibilidade, antimicrobianos.

#### In vitro activity of propolis extract against bovine mastitis bacterial agents

Abstract – The present study aimed to determine the in vitro activity of propolis extract, comparing it to the most common antibacterial drugs against bovine mastitis bacterial agents. Thirty-six isolates of coagulase-positive *Staphylococcus* sp. and twenty-seven of *Streptococcus* sp. were analyzed. Coagulase-positive *Staphylococcus* (94.4%) and *Streptococcus* sp. (85.2%) showed susceptibility to propolis extract.

Index terms: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, susceptibility, antimicrobial.

A mastite é a enfermidade de maior frequência no gado leiteiro, causada principalmente pelas bactérias *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus* (Rivas et al., 1997).

O tratamento usual da mastite infecciosa é realizado mediante a administração de antimicrobianos; entretanto, o alto custo e a resistência bacteriana a esses compostos (Crisan et al., 1995) levam à busca de alternativas para o controle da doença. Medicamentos fitoterápicos e homeopáticos, entre outros, têm sido utilizados, porém nem todas essas opções apresentam respaldo científico acerca da eficácia de ação contra os agentes causadores da enfermidade.

A própolis é uma resina de coloração e consistência variada, coletada das plantas por abelhas, para utilização como vedante nas colméias. Sua atividade antimicrobiana tem sido relatada nos últimos anos (Bosio et al., 2000; Sforcin et al., 2000; Banskota et al., 2001; Gebara et al., 2002; Koo et al., 2002).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade in vitro de extrato de própolis e de antimicrobianos, comumente utilizados contra os agentes bacterianos da mastite bovina.

Foram utilizadas 63 linhagens bacterianas, isoladas de leite de animais com mastite, encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia, do Dep. de Medicina Veterinária Preventiva, da Universidade Federal de Santa Maria, RS. Dessas linhagens, 36 eram de *Staphylococcus* coagulase-positivos e 27 de *Streptococcus* sp. Os isolados foram emulsionados em solução salina estéril, com turvação ajustada à escala 1, de McFarland. Essa suspensão foi diluída, a fim de se obter um inóculo com concentração de  $10^6$  bactérias mL<sup>-1</sup>.

A própolis foi obtida de apiários comerciais da região de Santa Maria, RS, e o extrato utilizado constituía-se de 50% de própolis (p/v) em solução alcóolica, de acordo com a metodologia de Szweczac & Godoi (1984).

A avaliação de atividade antimicrobiana da própolis seguiu descrição de Grange & Davey (1990): foi usado

ágar BHI (Brain Heart Infusion), acrescido de 5% de extrato alcóolico de própolis (E1) e, para controle, 5% de solução salina (E2) e 5% de álcool etílico 96° GL (E3). Foram semeados 100 µL do inóculo bacteriano em placas, posteriormente incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, por até 72 horas.

Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos foram realizados por meio do método de difusão em disco, em ágar Müller Hinton, de acordo com a técnica descrita por Bauer et al. (1966), utilizando-se o mesmo inóculo bacteriano do teste de atividade da própolis. Foram usados os seguintes antimicrobianos: Ampicilina (10 µg), Cefoperazone (75 µg), Gentamicina (10 µg), Lincomicina (2 µg), Neomicina (30 µg), Nitrofurantoína (300 µg), Norfloxacin (10 µg), Oxacilina (1 µg), Penicilina (10 UI), Sulfazotrim (25 µg), Tetraciclina (30 µg) e Tiamulin (30 µg). A leitura dos halos de sensibilidade foi realizada depois da incubação das placas, a 37°C, de 18 a 24 horas.

Todos os isolados foram capazes de crescer nos meios-controles. Entre as 63 amostras bacterianas testadas, 57 (90,5%) apresentaram sensibilidade ao extrato de própolis; a sensibilidade média dos isolados de *Staphylococcus* coagulase-positivos (94,4%) foi superior à dos isolados de *Streptococcus* sp. (85,2%). Valores semelhantes foram encontrados por Langoni (1996), que obteve 90% de inibição ao *Streptococcus agalactiae* e 100% ao *Staphylococcus aureus*.

Nos testes com isolados do gênero *Staphylococcus*, observou-se maior percentual de linhagens sensíveis ao extrato de própolis e Sulfazotrim (94,44%). Na análise dos resultados de isolados do gênero *Streptococcus*,

observou-se maior número de linhagens sensíveis à Ampicilina (92,59%) seguido do extrato de própolis, que inibiu o crescimento de 85,18% dos isolados (Tabela 1).

Poucos são os estudos que abordam o uso do extrato de própolis ou derivados, no tratamento de mastite bovina ou de outras espécies domésticas. Meresta et al. (1989) utilizaram o extrato de própolis e obtiveram recuperação completa em 86,6% das vacas com mastite aguda e de 100% nos casos de infecção causada por *Candida albicans*, 85% por *Escherichia coli*, 91% por *Staphylococcus* sp. e de 84,3% por *Streptococcus* sp. Os autores concluíram, ainda, que a própolis apresentou-se bastante eficaz na terapia de mastite causada por microrganismos resistentes aos antimicrobianos convencionais.

O estudo de Pinto et al. (2001) demonstrou que o extrato etanólico de própolis foi eficaz como antimicrobiano contra isolados de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase-negativo e *Streptococcus agalactiae*, tendo apresentado resultados estatisticamente diferenciados, quando se utilizou etanol ou água como solvente de extração. Para esses autores, o *Streptococcus* sp. apresentou-se mais sensível ao extrato do que os isolados de *Staphylococcus* sp., ao contrário dos resultados obtidos neste trabalho. A maior sensibilidade à própolis estaria de acordo com o perfil de maior sensibilidade aos antimicrobianos de uso comum, que o gênero *Streptococcus* apresenta, quando comparado a outras bactérias causadoras de mastite.

O extrato de própolis possui efeito antimicrobiano sobre *Staphylococcus* coagulase-positivo e

**Tabela 1.** Sensibilidade dos isolados de *Staphylococcus* sp. coagulase-positivo e *Streptococcus* sp. ao extrato de própolis e a diferentes antimicrobianos.

Antimicrobiano	<i>Staphylococcus</i> sp. coagulase-positivo		<i>Streptococcus</i> sp.	
	Número de isolados sensíveis/número testado	Porcentagem de sensibilidade	Número de isolados sensíveis/número testado	Porcentagem de sensibilidade
Extrato de própolis	34/36	94,44	23/27	85,18
Sulfazotrim (25 µg)	34/36	94,44	10/27	37,04
Neomicina (30 µg)	33/36	91,67	6/27	22,22
Gentamicina (10 µg)	32/36	88,89	9/27	33,33
Norfloxacin (10 µg)	30/36	83,33	12/27	44,44
Cefoperazone (75 µg)	29/36	80,56	9/14	64,28
Tiamulin (30 µg)	27/36	75,00	11/14	78,57
Tetraciclina (30 µg)	21/36	58,33	17/26	65,38
Lincomicina (2 µg)	20/36	55,56	11/27	40,74
Ampicilina (10 µg)	17/36	47,22	25/27	92,59
Penicilina (10 UI)	17/36	47,22	18/27	66,67
Nitrofurantoína (300 µg)	10/36	27,78	19/27	70,37
Oxaciclina (1 µg)	8/36	22,22	10/27	37,04

*Streptococcus* sp., isolados de casos de mastite bovina, demonstrando porcentuais de atuação superiores ou semelhantes aos de antimicrobianos comumente utilizados na terapia dessa enfermidade. A concentração de 50% usada neste trabalho está em desuso, principalmente pelo desperdício de própolis bruta. Atualmente, a concentração de 30% (p/v) é o padrão oficial instituído pelo Brasil (2001). Por se tratar de estudo in vitro, outros aspectos precisam ser pesquisados com o objetivo da utilização in vivo da própolis.

## Referências

- BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; ADNYANA, I.K.; ISHII, E.; MIDORIKAWA, K.; MATSUSHIGE, K.; KADOTA, S. Hepatoprotective and anti-*Helicobacter pylori* activities of constituents from Brazilian propolis. **Phytomedicine**, v.8, p.16-23, 2001.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p.493-496, 1966.
- BOSIO, K.; AVANZINI, C.; D'AVOLIO, A.; OZINO, O.; SAVOIA, D. In vitro activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. **Letters in Applied Microbiology**, v.31, p.174-177, 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, 23 jan. 2001. Seção 1, p.18-23.
- CRISAN, I.; ZAHARIA, C.N.; POPOVICI, F.; JUCU, V.; BELU, O.; DASCALU, C.; MUTIU, A.; PETRESCU, A. Natural propolis extract Nivcrisol in the treatment of acute and chronic rhinopharyngitis in children. **Romanian Journal of Virology**, v.46, p.115-133, 1995.
- GEBARA, E.C.E.; LIMA, L.A.; MAYER, M.P.A. Propolis antimicrobial activity against periodontopathic bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, p.365-369, 2002.
- GRANGE, J.M.; DAVEY, R.W. Antibacterial properties of propolis (bee glue). **Journal of the Royal Society of Medicine**, v.83, p.159-160, 1990.
- KOO, H.; ROSALEN, P.L.; CURY, J.A.; PARK, Y.K.; BOWEN, W.H. Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.46, p.1302-1309, 2002.
- LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; FUNARI, S.R.C.; CHANDE, C.G.; NEVES, I.R. Efeito antimicrobiano "in vitro" da própolis. **Arquivos Brasileiros de Veterinária e Zootecnia**, v.48, p.227-229, 1996.
- MERESTA, L.; MERESTA, T.; BURDZINSKI, J.; CHMURZYNSKI, P. Treatment of mastitis in cows using an extract of propolis. **Medycyna Weterinarna**, v.45, p.392-395, 1989.
- PINTO, M.S.; FARIA, J.E. de; MESSAGE, D.; CASSINI, S.T.A.; PEREIRA, C.S.; GIOSO, M.M. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, p.278-283, 2001.
- RIVAS, A.L.; GONZALEZ, R.N.; WIEDMANN, M.; BRUCE, J.L.; COLE, E.M.; BENNETT, G.J.; SCHULTE, H.F.; WILSON, D.J.; MOHAMMED, H.O.; BATT, C.A. Diversity of *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus* ribotypes recovered from New York dairy herds. **American Journal of Veterinary Research**, v.58, p.482-487, 1997.
- SFORCIN, J.M.; FERNANDES JUNIOR, A.; LOPES, C.A.M.; BANKOVA, V.; FUNARI, S.R.C. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.73, p.243-249, 2000.
- SZEWCZAK, E.H.; GODOY, G.F. Estudo comparativo entre a sensibilidade de *Staphylococcus aureus* à própolis e a antibióticos. **Apicultura no Brasil**, v.3, p.28-29, 1984.

Recebido em 16 de julho de 2004 e aprovado em 10 de junho de 2005