

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIDADE EDUCACIONAL DE VIÇOSA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

ÉVELLY VITÓRIA OLIVEIRA DE JESUS

**Atividade desinfetante da borra de própolis vermelha frente a microrganismos
causadores de mastite em vacas.**

ÉVELLY VITÓRIA OLIVEIRA DE JESUS

**Atividade desinfetante da borra de própolis vermelha frente a microrganismos
causadores de mastite em vacas.**

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciência
Animal da Universidade Federal de Alagoas
como requisito parcial para a obtenção do
grau de mestra em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a Dra. Karla Patrícia
Chaves da Silva.

FOLHA DE APROVAÇÃO

ÉVELLY VITÓRIA OLIVEIRA DE JESUS

Atividade desinfetante da borra de própolis vermelha frente a microrganismos causadores de mastite em vacas.

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em:

Documento assinado digitalmente
 **KARLA PATRÍCIA CHAVES DA SILVA**
Data: 02/03/2026 16:59:12-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profª Dra. Karla Patrícia Chaves da Silva - UFAL - Orientadora

Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **TOBYAS MAIA DE ALBUQUERQUE MARIZ**
Data: 02/03/2026 18:31:38-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profº Dr. Tobyas Maia de Albuquerque Mariz - Examinador interno

Documento assinado digitalmente
 **ELIZABETH SAMPAIO DE MEDEIROS**
Data: 02/03/2026 17:04:34-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profª Dra. Elizabeth Sampaio de Medeiros - Examinador externo

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Polo Viçosa
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Lucicláudia Silva dos Santos – CRB-4 / 2115

J58a Jesus, Évelly Vitória Oliveira de.

Atividade desinfetante da borra de própolis vermelho frente a microrganismos causadores de mastite em vacas / Évelly Vitória Oliveira de Jesus. –2026.
39 f.

Orientadora: Prof. Dra. Karla Patrícia Chaves da Silva
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Alagoas.
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Viçosa, 2026.

Bibliografia: f. 31-39

1. Bovinocultura leiteira. 2. Controle microbiano. 3. Staphylococcus aureus.
4. Escherichia coli. 5. Candida spp. I. Título.

CDU: 636.2:616.98

Dedico este trabalho aos meus familiares
e amigos que me auxiliaram durante esta
caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me permitir iniciar e concluir esta etapa da minha formação acadêmica. Expresso minha imensa gratidão aos meus pais, ao meu irmão e às minhas avós, Maria Vitória e Josefa Freire. Em especial, à minha avó Vitória (in memoriam), que eu gostaria que estivesse aqui para contemplar os frutos do que plantou, juntamente com meus pais, no início da minha vida. O amor que senti e ainda sinto por ela foi um dos pilares da minha perseverança em diversas áreas da minha existência.

Aos meus pais, agradeço por todo o apoio e carinho ao longo desta jornada e de tantas outras. À minha mãe, sou profundamente grata por ser minha base, fortaleza e amparo em tantos momentos da vida, especialmente nesta etapa. Ao meu pai e ao meu irmão, agradeço o apoio constante diante das dúvidas e dificuldades.

Estendo também meus mais sinceros agradecimentos aos meus amigos de mestrado, Geraldo Araujo, Pamela Thaiany e Rafaelly Lima com quem compartilhei momentos no laboratório e nas aulas durante esta etapa tão significativa em minha trajetória. Expresso minha gratidão à professora Karla, por me receber no laboratório com tanto carinho e pela orientação dedicada ao longo deste período.

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL) pelo fornecimento da bolsa de pesquisa que possibilitou a realização deste estudo.

Antes que houvesse dia, eu sou: e ninguém há que possa fazer escapar das minhas mãos: operando eu, quem impedirá?”

Isaías 43:13

“Se os teus olhos forem bons, todo o teu corpo terá luz.”

Mateus 6:22

RESUMO

Objetivou-se avaliar, *in vitro*, a atividade desinfetante do extrato alcoólico da borra de própolis vermelha (EBPV) frente a microrganismos, bem como sua citotoxicidade. Foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida spp.* para os ensaios. O potencial desinfetante do EBPV foi avaliado utilizando diferentes concentrações (10%, 5%, 2,5%, 1,25% e 0,625%), e tempos de contato (5, 10 e 30 minutos). O extrato apresentou ação bactericida e fungicida rápida e efetiva nas concentrações de 10% e 5%, com inibição total do crescimento em todos os tempos analisados. A concentração de 2,5% também foi eficaz, com inibição completa a partir de 10 minutos de exposição. Concentrações inferiores não demonstraram atividade satisfatória. O ensaio de citotoxicidade com *Artemia salina* revelou toxicidade dependente da dose, sendo 2,5% considerada a melhor relação entre eficácia antimicrobiana e segurança biológica. Os resultados demonstram que o EBPV possui potencial promissor como agente desinfetante natural aplicado ao manejo pré dipping e pós dipping, podendo contribuir para o controle da mastite subclínica contagiosa e ambiental. Recomenda-se a continuidade dos estudos em condições *in vivo* e a padronização da composição química para viabilizar seu uso industrial e comercial.

Palavras chave: Bovinocultura leiteira; controle microbiano; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Candida spp.*

ABSTRACT

The aim was to evaluate, *in vitro*, the disinfectant activity of the alcoholic extract of red propolis residue (RPRE) against microorganisms, as well as its cytotoxicity. Strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Candida spp.* were used for the assays. The disinfectant potential of RPRE was assessed using different concentrations (10%, 5%, 2.5%, 1.25%, and 0.625%) and contact times (5, 10, and 30 minutes). The extract showed rapid and effective bactericidal and fungicidal action at concentrations of 10% and 5%, with complete growth inhibition at all times analyzed. The 2.5% concentration was also effective, with complete inhibition observed from 10 minutes of exposure. Lower concentrations did not show satisfactory activity. The cytotoxicity assay with *Artemia salina* revealed dose-dependent toxicity, with 2.5% being considered the best balance between antimicrobial efficacy and biological safety. The results demonstrate that RPRE has promising potential as a natural disinfectant agent applied in pre-dipping and post-dipping management, potentially contributing to the control of contagious and environmental subclinical mastitis. It is recommended to continue studies under *in vivo* conditions and to standardize the chemical composition to enable industrial and commercial use.

Keywords: Dairy cattle farming; microbial control; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Candida spp.*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Inibição do crescimento de <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> nas placas após o teste de desinfetante.	29
Tabela 2. Inibição do crescimento de <i>Candida spp.</i> nas placas após o teste de desinfetante.	30
Tabela 3. Porcentagem de mortalidade da <i>Artemia salina</i> frente ao EBPV.	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
BHI	Brain Heart Infusion
UFC/ mL	Unidades Formadoras de Colônias por mililitro
µL	Microlitros
%	Porcentagem
EBPV	Extrato da borra de própolis vermelha

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mastite

2.2 Microrganismos causadores de mastite

2.2.1 Staphylococcus aureus

2.2.2 Escherichia coli

2.2.3 Candida spp.

2.3 Prevenção da mastite: a importância do pré dipping e pós dipping

2.3.1 Desinfetantes comerciais

2.4 Resistência a antimicrobianos (RAM)

2.6 *Artemia salina*

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

4 ARTIGO

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 INTRODUÇÃO

As mastites permanecem sendo um dos principais desafios sanitários em rebanhos leiteiros. Trata-se de uma doença de múltipla etiologia e distribuição mundial, cuja prevalência está associada ao manejo sanitário dos animais e às práticas adotadas durante e após a ordenha. Especialmente na mastite bovina, configura-se como um importante obstáculo para a pecuária leiteira, impactando negativamente no que se refere à qualidade do leite, além de ocasionar prejuízos econômicos e representar risco à saúde pública (Langoni, 2017.)

Diante da crescente preocupação com o consumo de alimentos saudáveis, livre de resíduos de antimicrobianos e seguros para a saúde da população, a busca por substâncias naturais com propriedades terapêuticas e que não provoquem efeitos negativos no meio ambiente e nos produtos de origem animal tem sido justificada (Correa, 2018).

Nesse contexto, a própolis vermelha é uma alternativa viável. Segundo Medeiros (2020), a própolis é uma resina balsâmica e resinosa coletada pelas abelhas das superfícies de plantas. Atualmente há 13 tipos de própolis brasileira, elas possuem compostos bioativos, e atividades antimicrobianas.

A própolis vermelha brasileira tem sido amplamente estudada por sua atividade biológica diversa, incluindo efeitos antimicrobianos, anti inflamatórios e imunomoduladores, atribuídos à sua composição rica em compostos fenólicos, flavonoides e benzofenonas. Pesquisas recentes demonstram que extratos de própolis vermelha apresentam atividade antibacteriana *in vitro* contra bactérias multirresistentes e efeitos antifúngicos, sugerindo potencial terapêutico como agente natural em formulações antimicrobianas (Xavier *et al.*, 2023; Vasconcelos, 2025).

Além disso, análises fitoquímicas identificaram compostos fenólicos e flavonoides associados com atividade antimicrobiana e antioxidante, indicando seu potencial farmacológico em processos de defesa biológica (Aldana Mejía *et al.*, 2025). Em ensaios *in vitro*, a própolis vermelha também mostrou atividade antimicrobiana frente a diversas bactérias patogênicas, o que reforça sua utilização como alternativa natural em produtos antimicrobianos e desinfetantes (do Nascimento & Veras, 2020).

Durante sua extração, um dos excedentes da produção, é a borra de própolis vermelha que conserva características macroscópicas semelhantes ao produto original. Buscou-se desenvolver desinfetantes naturais para uso na descontaminação dos tetos de vacas a partir desse excedente da produção da própolis vermelha (PV). Dessa forma, objetivou-se avaliar *in vitro* a capacidade desinfetante do extrato alcoólico da borra da própolis vermelha frente a bactérias, fungos causadores da mastite em vacas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mastite

“A mastite bovina é uma enfermidade inflamatória da glândula mamária que causa expressivas perdas econômicas e riscos à saúde pública” (Scatamburlo; Werle, 2025).

As mastites podem ser classificadas de duas formas, sendo a mais comum a classificação de acordo com os sinais clínicos, podendo ser classificadas em mastite subclínica e mastite clínica. A mastite clínica refere-se aos casos com presença de manifestações clínicas evidentes na glândula mamária, como edema, aumento da temperatura local, mudanças na consistência do tecido glandular, dor à palpação e, principalmente, modificações no leite, incluindo a presença de grumos. Em determinadas situações, a mastite clínica pode evoluir para um quadro sistêmico, demonstrado pelo aumento da temperatura retal, depressão, desidratação, inapetência e expressiva redução da produção de leite. Sendo assim, ela é facilmente percebida pelo produtor (Souza *et al.*, 2016).

Os autores ainda relatam que, ao contrário da clínica, a mastite subclínica é a forma prevalente da mastite bovina nos rebanhos leiteiros e caracteriza-se pela ausência de alterações visíveis na glândula mamária e no leite. Assim, seu diagnóstico torna-se crucial para minimizar a ocorrência da mastite com a implementação de medidas de controle eficazes, com o objetivo de reduzir a presença e minimizar seu impacto em toda a cadeia produtiva do leite.

Além dos problemas relacionados à saúde dos animais, o impacto econômico da mastite compromete a subsistência de diversas propriedades leiteiras. Segundo Da Fonseca *et al.* (2021), o sistema pelo qual o leite é produzido, desde as propriedades leiteiras à indústria, possui grande importância no produto final. Vários fatores exercem influência na qualidade do leite, como, por exemplo, a genética dos animais, o manejo, nutrição, sanidade e a própria forma de retirada do leite.

Mais de 25% dos prejuízos relacionados às doenças no gado leiteiro têm como causa a mastite, representando um impacto considerável na economia do setor. O Brasil ocupa uma posição proeminente no cenário mundial da produção de leite, e a preocupação em relação à produtividade é significativa, bem como os desafios relacionados à qualidade do leite e à rentabilidade dos produtores (Da Fonseca *et al.*, 2021).

2.2 Microrganismos causadores de mastite

Conforme Da Fonseca *et al.* (2021), microrganismos como *Staphylococcus aureus* estão associados à mastite contagiosa, enquanto *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Escherichia coli* estão associados à mastite ambiental.

2.2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é reconhecido como um dos principais agentes etiológicos da mastite bovina contagiosa, estando fortemente associado a quadros crônicos e de difícil resolução terapêutica. Trata-se de uma bactéria coco Gram-positiva, coagulase positiva, que se organiza isoladamente, em pares ou em agrupamentos com aspecto de cacho de uva. Sua principal via de infecção é o canal do teto, onde pode inicialmente colonizar a extremidade, especialmente na presença de lesões ou microfissuras, progredindo para a cisterna e estabelecendo-se no tecido secretor da glândula mamária (Gomes, 2022).

Mesmo com a implementação de programas de controle e manejo, a mastite causada por *S. aureus* permanece como importante desafio sanitário nos sistemas leiteiros, devido à sua persistência e impacto produtivo (Campos *et al.*, 2022).

2.2.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli destaca-se como importante patógeno ambiental associado à mastite bovina, especialmente em sistemas com deficiências nas condições higiênico-sanitárias. Essa bactéria apresenta elevada capacidade de adaptação e pode desenvolver resistência de amplo espectro aos antibióticos comumente usados, juntamente com uma rápida variação (Yu *et al.*, 2020).

A elevada frequência de isolamento de *E. coli* em casos de mastite reforça a necessidade de rigor nas medidas preventivas, com ênfase na higiene pré e pós-ordenha, adoção de protocolos adequados de pré-dipping e pós-dipping, manutenção da limpeza da cama e redução da umidade ambiental. Essas práticas são determinantes para o controle de patógenos ambientais e para a melhoria da qualidade microbiológica do leite produzido (Salina *et al.*, 2016).

2.2.3 *Candida spp.*

Os fungos são microrganismos eucarióticos e heterotróficos, classificados principalmente em filamentosos e leveduriformes. Seu potencial patogênico varia conforme o hospedeiro e os tecidos afetados, sendo que espécies do gênero *Candida* podem causar desde infecções superficiais até quadros sistêmicos (Makabe; Santos; Pires, 2018).

No contexto da mastite bovina, o gênero *Candida* tem sido identificado tanto em casos clínicos quanto subclínicos, frequentemente associado ao uso prolongado ou repetitivo de antibióticos, o que favorece infecções intramamárias crônicas e de difícil tratamento (Rifatbegović *et al.*, 2024). Espécies como *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* têm sido isoladas em leite de vacas com mastite, apresentando, em alguns casos, resistência antifúngica e elevada capacidade de formação de biofilmes, fatores que contribuem para a persistência do patógeno e dificultam o controle da doença (Asfour *et al.*, 2022).

Estudos recentes também destacam a relevância das espécies de *Candida* não-*albicans* (NAC), que demonstram variabilidade nos perfis de suscetibilidade antifúngica e potencial de virulência associado à formação de biofilme. Nesse contexto, a identificação laboratorial precisa, torna-se fundamental para o diagnóstico adequado e para o monitoramento dos fatores de virulência associados à patogênese da mastite micótica (Asfour *et al.*, 2022).

2.3 Prevenção da mastite: a importância do pré dipping e pós dipping

Bons procedimentos de ordenha constituem uma das principais medidas de prevenção da mastite bovina, incluindo a limpeza e higienização dos tetos antes da ordenha e a desinfecção imediatamente após o procedimento. Essas práticas contribuem de forma significativa para reduzir a transmissão de agentes infecciosos entre vacas infectadas e não infectadas (National Mastitis Council, 2016).

A prevenção é descrita na literatura como a estratégia mais eficaz para o controle das enfermidades no rebanho leiteiro, sendo a higienização preventiva e o sistema de produção fatores determinantes para a qualidade sanitária e produtiva dos animais (Amorim e Sant'Ana, 2021).

As práticas recomendadas incluem a avaliação dos primeiros jatos de leite para a detecção de casos de mastite clínica e o descarte adequado. Deve-se

garantir a higienização dos tetos, com aplicação de antisséptico antes da ordenha por, no mínimo, 30 segundos, seguida de secagem com papel toalha descartável e limpo. Também é indispensável a utilização de luvas limpas pelo ordenhador, visando reduzir a disseminação de agentes patogênicos contagiosos (Souza *et al.*, 2016). Nesse contexto, programas preventivos incluem medidas higiênico-sanitárias profiláticas, com destaque para os protocolos de pré e pós-imersão dos tetos, entre outras práticas de manejo (Silva *et al.*, 2023).

Conforme descrito por Cotta *et al.* (2020), o pré-dipping consiste na desinfecção dos tetos antes da ordenha com o objetivo de reduzir a carga bacteriana superficial, prevenindo novas infecções intramamárias e diminuindo a contaminação inicial do leite. O procedimento envolve a imersão completa dos tetos em solução desinfetante como iodo, ácido láctico, hipoclorito de sódio ou dióxido de cloro, preferencialmente com produtos prontos para uso e aplicados com copo de imersão sem retorno. A literatura técnica recomenda tempo mínimo de contato e secagem com papel toalha individual antes da ordenha.

O conjunto de teteiras deve ser acoplado em até no máximo 90 segundos após o início da preparação do úbere e, ao término da ordenha, é necessária a interrupção do sistema de vácuo antes da retirada das teteiras (Souza *et al.*, 2016).

O pós-dipping, realizado após a ordenha, é descrito como uma das medidas isoladas mais eficazes na prevenção de novos casos de mastite, pois reduz a transferência de microrganismos entre animais e do ambiente para o úbere. Além do efeito desinfetante, a prática contribui para a manutenção da integridade da pele dos tetos quando associada a agentes hidratantes na formulação, reduzindo a ocorrência de rachaduras e lesões cutâneas (Cotta *et al.*, 2020).

Estudos recentes destacam ainda a importância de compreender os níveis de suscetibilidade dos patógenos mastíticos aos desinfetantes utilizados na imersão dos tetos, contribuindo para a vigilância da resistência antimicrobiana e para a definição de concentrações adequadas de uso nas propriedades leiteiras (Damasceno *et al.*, 2025).

2.3.1 Desinfetantes comerciais

Algumas das medidas de prevenção da mastite citadas na literatura está a adoção de práticas de higiene durante a ordenha, incluindo a desinfecção dos tetos antes e após a ordenha, essa estratégia é associada à redução de novas infecções intramamárias, especialmente aquelas que são causadas por patógenos contagiosos (Ruegg, 2017).

Um levantamento conduzido em fazenda comerciais com vacas da raça Holandesa (Holstein-Friesian), observou-se que a clorexidina foi utilizada em 42,9% dos protocolos de pré-dipping avaliados, enquanto o iodo foi o princípio ativo mais utilizado no pós dipping (53,8%) demonstrando a variação na escolha dos desinfetantes conforme a etapa de ordenha (Ózsvári; Iványos, 2022).

A eficácia de desinfetantes iodados foi pesquisada em um estudo de campo, no qual uma formulação com maior teor de iodo livre foi associada à redução significativa de novas infecções intramamárias quando comparada a uma formulação com menor disponibilidade deste princípio ativo (Martins *et al.*, 2017).

Em uma pesquisa conduzida em rebanhos leiteiros, diferentes ingredientes ativos utilizados em desinfetantes para tetos foram analisados quanto ao seu efeito sobre bactérias associadas à mastite presentes na pele do teto, sendo observada uma redução significativa da carga bacteriana após a aplicação dos produtos testados (Fitzpatrick *et al.*, 2021).

Liu *et al.* (2026) realizaram um estudo clínico randomizado comparando um desinfetante à base de dióxido de cloro com um desinfetante à base de iodo glicerinado em vacas leiteiras. Os autores observaram eficácia bactericida significativa contra patógenos associados à mastite, sem diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos quanto à contagem de células somáticas ou à integridade da pele dos tetos.

Além da avaliação da eficácia antimicrobiana, estudos experimentais demonstraram que a exposição de *Klebsiella pneumoniae* a concentrações subinibitórias de clorexidina pode resultar em aumento da concentração inibitória mínima (CIM) do microrganismo, bem como em alterações associadas à membrana celular e resistência cruzada à colistina (Wand *et al.*, 2017).

2.4 Resistência a antimicrobianos (RAM)

Os antibióticos são essenciais para a preservação da saúde dos animais destinados à produção de alimentos; contudo, a crescente resistência antimicrobiana configura uma ameaça significativa à eficácia desses tratamentos (Oliver *et al.*, 2020).

O aumento da resistência antimicrobiana tem resultado em infecções que não respondem adequadamente às terapias convencionais. Em humanos, essa problemática está associada ao uso de antimicrobianos em animais de produção, uma vez que bactérias resistentes podem ser transmitidas por meio do consumo de carne, leite e seus derivados, além da exposição a resíduos desses fármacos nos alimentos (Oliver *et al.*, 2020).

Diante desse cenário, observa-se crescente interesse por estratégias complementares de prevenção, melhorias no manejo de ordenha e investigação de alternativas terapêuticas, incluindo produtos de origem natural (Correa, 2018). Mesmo com o desenvolvimento de abordagens alternativas e novos regimes terapêuticos, a discussão sobre o surgimento e disseminação da resistência antimicrobiana permanece ativa na literatura científica (Xu *et al.*, 2020).

2.5 Própolis vermelha e resíduos da produção

A própolis é um produto apícola constituído por uma mistura complexa de resinas vegetais coletadas por abelhas em diferentes espécies botânicas, posteriormente modificadas por secreções salivares e cera durante o processamento na colmeia. Estudos conduzidos nas áreas médica e veterinária têm investigado suas propriedades biológicas, com destaque para a atividade antimicrobiana. Resultados experimentais demonstram que a própolis pode exercer efeito bacteriostático e bactericida contra diferentes gêneros de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Pontes, 2019).

A própolis vermelha apresenta origem botânica específica e é descrita como ocorrendo de forma característica no estado de Alagoas. Esse tipo de própolis é produzido por abelhas da espécie *Apis mellifera*, a partir de resinas de coloração

avermelhada obtidas principalmente da planta *Dalbergia ecastaphyllum*, popularmente conhecida como rabo-de-bugio (Fontes, 2020).

As propriedades biológicas da própolis estão diretamente relacionadas à sua composição química, a qual pode variar de acordo com fatores geográficos, botânicos e ambientais. Entre os principais determinantes dessa variação destacam-se a origem da vegetação visitada pelas abelhas, características genéticas das colônias, condições climáticas e período de coleta, fatores que influenciam a padronização e a qualidade da matéria-prima (Aniceto *et al.*, 2020; Nascimento *et al.*, 2019).

O extrato de própolis é geralmente obtido por maceração, utilizando solventes como etanol e água para a produção de extrato hidroalcoólico, ou exclusivamente água para extrato aquoso. Durante a obtenção do extrato hidroalcoólico, forma-se um subproduto sólido denominado “borra”, frequentemente descartado no processamento convencional. Entretanto, investigações recentes indicam que esse resíduo pode reter frações de compostos bioativos provenientes da matriz resinosa, sugerindo potencial de aproveitamento biológico e tecnológico (Santos, 2023).

Estudos experimentais demonstram que a própolis e seus constituintes químicos apresentam atividade antimicrobiana *in vitro* contra bactérias Gram-negativas, como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*, bem como contra bactérias Gram-positivas, incluindo *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Listeria monocytogenes* (Neves *et al.*, 2016).

Embora a literatura apresente um número crescente de pesquisas sobre a atividade biológica da própolis vermelha, ainda são limitados os estudos que avaliam especificamente o potencial biológico da borra resultante do processo de extração etanólica. Esse material corresponde à fração residual sólida obtida após a extração alcoólica da resina de própolis e representa uma fonte potencial de compostos ainda pouco explorados (Aniceto *et al.*, 2020).

2.6 *Artemia salina*

A artemia salina é um microcrustáceo de ambientes salinos empregado amplamente como organismo modelo em bioensaios toxicológicos preliminares. Características como facilidade de cultivo em condições laboratoriais, elevada taxa de eclosão a partir de cistos disponíveis comercialmente e desenvolvimento larval rápido contribuem para sua aplicabilidade experimental (Banti *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2023).

Os cistos de *A. salina* podem permanecer viáveis por longos períodos de tempo e, quando incubados sob condições adequadas de aeração e salinidade, originam náuplios sensíveis a diferentes classes de compostos químicos. Em virtude dessas características, o ensaio de letalidade com *A. salina* é utilizado amplamente como ferramenta de triagem preliminar para avaliar a toxicidade de substâncias naturais e sintéticas, tendo como principal parâmetro de avaliação toxicológica a taxa de mortalidade dos náuplios expostos (Banti *et al.*, 2021).

Além do usos em bioensaios toxicológicos, revisões recentes destacam sua utilização como organismo modelo em diferentes áreas da pesquisa científica, incluindo estudos de interações hospedeiro-microrganismo, microbiologia, ecologia, genética e testes de toxicidade ambiental (Tiong *et al.*, 2024).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mastite é um problema relevante na bovinocultura de leite, associada à queda da produção, alterações na composição do leite e impactos econômicos significativos. O controle da doença envolve o uso de antimicrobianos e medidas preventivas, como a desinfecção dos tetos por meio de pré e pós dipping, contexto no qual a resistência bacteriana constitui um desafio adicional ao manejo sanitário. Em razão disso, as alternativas naturais têm ganhado visibilidade, principalmente a própolis vermelha e seu resíduo, a borra de própolis, estes apresentam ação desinfetante e contribuem para a redução da carga bacteriana. Portanto, colabora de maneira sustentável para a prevenção e controle da mastite, além disso favorece a saúde dos animais e a segurança alimentar.

4 ARTIGO

Borra de própolis vermelha contra mastite bovina: ação desinfetante e citotoxicidade em *Artemia salina*

Borra de própolis vermelha contra mastite bovina: ação desinfetante e citotoxicidade em *Artemia salina*

Red propolis residue against bovine mastitis: disinfectant activity and cytotoxicity in
Artemia salina

Évelly Vitória Oliveira de Jesus¹, Geraldo de Almeida Araujo Filho¹, Pamela Thaiany Filgueira da Silva¹, Rafaelly Silva Lima¹, Julicelly Gomes Barbosa Macedo², Fernando Nogueira de Souza³, Yamina Coentro Montaldo², Karla Patrícia Chaves da Silva².

¹ Mestrando do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal - UFAL;

² Docente da Universidade Federal de Alagoas, UFAL.

³ Docente da Universidade de São Paulo, USP.

RESUMO

Objetivou-se avaliar, *in vitro*, a atividade desinfetante do extrato alcoólico da borra de própolis vermelha (EBPV) frente a microrganismos, bem como sua citotoxicidade. Foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida spp.* para os ensaios. O potencial desinfetante do EBPV foi avaliado utilizando diferentes concentrações (10%, 5%, 2,5%, 1,25% e 0,625%), e tempos de contato (5, 10 e 30 minutos). O extrato apresentou ação bactericida e fungicida rápida e efetiva nas concentrações de 10% e 5%, com inibição total do crescimento em todos os tempos analisados. A concentração de 2,5% também foi eficaz, com inibição completa a partir de 10 minutos de exposição. Concentrações inferiores não demonstraram atividade satisfatória. O ensaio de citotoxicidade com *Artemia salina* revelou toxicidade dependente da dose, sendo 2,5% considerada a melhor relação entre eficácia antimicrobiana e segurança biológica. Os resultados demonstram que o EBPV possui potencial promissor como agente desinfetante natural aplicado ao manejo pré dipping e pós dipping, podendo contribuir para o controle da mastite subclínica contagiosa e ambiental. Recomenda-se a continuidade dos estudos em condições *in vivo* e a padronização da composição química para viabilizar seu uso industrial e comercial.

Palavras chave: Bovinocultura leiteira; controle microbiano; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Candida spp.*

ABSTRACT

The aim was to evaluate, *in vitro*, the disinfectant activity of the alcoholic extract of red propolis residue (RPRE) against microorganisms, as well as its cytotoxicity. Strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Candida spp.* were used for the assays. The disinfectant potential of RPRE was assessed using different concentrations (10%, 5%, 2.5%, 1.25%, and 0.625%) and contact times (5, 10, and 30 minutes). The extract showed rapid and effective bactericidal and fungicidal action at concentrations of 10% and 5%, with complete growth inhibition at all times analyzed. The 2.5% concentration was also effective, with complete inhibition observed from 10 minutes of exposure. Lower concentrations did not show satisfactory activity. The cytotoxicity assay with *Artemia salina* revealed dose-dependent toxicity, with 2.5% being considered the best balance between antimicrobial efficacy and biological safety. The results demonstrate that RPRE has

promising potential as a natural disinfectant agent applied in pre-dipping and post-dipping management, potentially contributing to the control of contagious and environmental subclinical mastitis. It is recommended to continue studies under *in vivo* conditions and to standardize the chemical composition to enable industrial and commercial use.

Keywords: Dairy cattle farming; microbial control; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Candida spp.*

INTRODUÇÃO

A mastite bovina é uma das enfermidades de maior impacto econômico e sanitário na pecuária leiteira, pois reduz a produção e representa risco à saúde pública (Langoni, 2013; Coser *et al.*, 2012). Embora os desinfetantes utilizados no pré e pós-dipping contribuam no controle da doença, o uso contínuo de agentes químicos e o avanço da resistência antimicrobiana reforçam a necessidade de alternativas eficazes e ambientalmente sustentáveis (Xu *et al.*, 2022; Damasceno *et al.*, 2025).

Nesse contexto, cresce o interesse por substâncias naturais com propriedades terapêuticas e menor impacto ambiental, como a própolis (Correa, 2018). Esse produto natural, formado por resinas vegetais coletadas por abelhas, apresenta comprovada atividade bacteriostática e bactericida contra diferentes bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Pontes, 2019). No Brasil, um dos destaques é a própolis vermelha, encontrada em Alagoas e produzida por abelhas *Apis mellifera* a partir da resina da planta *Dalbergia ecastaphyllum* (Fontes, 2020).

Durante a produção do extrato hidroalcoólico, é gerada a borra de própolis, um resíduo geralmente descartado, mas que ainda contém compostos bioativos com potencial farmacológico (Santos *et al.*, 2023). A borra de própolis apresenta atividade antimicrobiana contra bactérias (Aniceto *et al.*, 2020). Além disso, a própolis, produto que origina a borra, é eficaz *in vitro* contra microrganismos Gram-negativos e Gram-positivos associados a infecções, incluindo agentes relacionados à mastite bovina (Neves *et al.*, 2016).

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar, *in vitro*, o potencial desinfetante do extrato alcoólico da borra de própolis vermelha frente a *E. coli*, *S. aureus* e *Candida spp.*, microrganismos relevantes na mastite bovina e a

citotoxicidade do extrato de borra da própolis vermelha (EBPV) frente à *Artemia salina*.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo dos inóculos bacterianos para testes in vitro

As cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida spp.* foram utilizadas para este trabalho por serem patógenos frequentemente associados à mastite bovina. A cepa de *Staphylococcus aureus* utilizada foi a ATCC 29213, enquanto *Escherichia coli* e a *Candida spp.* eram cepas selvagens advindas de amostras de leite mastítico, previamente processadas e armazenadas na bacterioteca do laboratório. As cepas de foram cultivadas em ágar BHI (Brain Heart Infusion), os inóculos foram preparados em solução salina a 0,9% até alcançarem a turbidez 0,5 da escala de McFarland, equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

Para confirmar a densidade bacteriana, foi realizada diluição seriada do inóculo na proporção de 1:10 (10^{-1}) até 1:10 até 10^{-6} , seguida de inoculação de 100 µL de cada diluição em ágar BHI e incubação a 37 °C por 24 horas, com posterior contagem das colônias para confirmação da concentração bacteriana.

Controle com álcool de cereais

O tratamento controle com o álcool de cereais foi realizado após a diluição para a obtenção de uma solução com a concentração final de 84,40% (v/v) pela adição de 10% (v/v) de água destilada esterilizada. A partir dessa solução inicial, foram preparadas 1 tubo com a solução estoque e quatro diluições diretas adicionando 1 ml de água destilada esterilizada para obtenção das concentrações avaliadas. As diluições foram realizadas em tubos de ensaio estéreis e em duplicata para garantir a reprodutibilidade.

Preparação do extrato da borra de própolis vermelha (EBPV)

A borra de própolis vermelha foi homogeneizada com álcool de cereais para obtenção de uma solução estoque a 10% (p/v). A solução estoque preparada foi homogeneizada 3 vezes ao dia por 30 a 45 dias ao abrigo do sol e da luminosidade em frasco âmbar. A solução "estoque" do extrato da borra de própolis vermelha (EBPV) foi filtrada com o auxílio de um funil de vidro e filtros esterilizados, após a

filtragem foram realizadas as diluições. As diluições foram produzidas diretamente a partir da solução (EBPV), não sendo realizadas em série.

A sequência de diluições subsequentes foi realizada utilizando pipetas e tubos de ensaio. Foram utilizados cinco tubos com a solução EBPV, o primeiro tubo com solução pura e os demais com a adição de 1 ml de água destilada esterilizada resultando em diferentes concentrações. Todas as diluições foram realizadas em duplicata para garantir a reprodutibilidade dos resultados.

Ensaio de atividade desinfetante

Após o preparo das diluições, adicionou-se 500 µL do inóculo padronizado (0,5 de McFarland) aos tubos, e alíquotas de 100 µL foram coletadas nos tempos de 5, 10 e 30 minutos, inoculadas em ágar BHI e incubadas a 37 °C por 24 horas para avaliação da atividade desinfetante e os tempos necessários para inibição do crescimento, em ensaios realizados em duplicata, para garantir a reprodutibilidade dos resultados. A metodologia foi baseada e adaptada de Moreira (2021).

Citotoxicidade com bioensaio de *Artemia salina*

A citotoxicidade do extrato alcoólico da borra de própolis vermelha (EBPV) foi avaliada por meio do bioensaio com *Artemia salina*, conforme metodologias adaptadas de Silva *et al.* (2012) e Meyer *et al.* (1982). Foram testadas as concentrações de 10%, 5% e 2,5%, foi adicionado no primeiro tubo 1 mL da solução estoque de EBPV ou controle de álcool de cereais e água destilada estéril, resultando nas diluições. Após a homogeneização da mistura foi adicionado aproximadamente 50 náuplios. A contagem de náuplios vivos foi realizada nos tempos de 5, 10, 30 minutos e 24 horas, classificando-se como tóxica a concentração com mortalidade superior a 50%. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste controle com álcool de cereais demonstrou que, em elevadas concentrações, o solvente possui ação antimicrobiana significativa. Nas concentrações de 84,4% e 42,2% (50% da concentração original), observou-se inibição total do crescimento bacteriano nos tempos de 10 e 30 minutos para ambas

as espécies testadas (*E. coli* e *S. aureus*). No teste com *Candida spp.* foi observado inibição total somente na concentração de 84,4%.

Entretanto, em concentrações inferiores, verificou-se crescimento abundante dos microrganismos, inviabilizando a contagem de colônias. Esse controle experimental assegura que o efeito antimicrobiano observado nos demais ensaios está associado ao extrato da borra de própolis vermelha (EBPV), e não a ação do etanol residual presente na formulação.

O EBPV mostrou ação antibacteriana relevante em relação às duas bactérias avaliadas, com destaque para as concentrações de 10%, 5% e 2,5%. Para *E. coli*, verificou-se inibição total nos tempos de 5, 10 e 30 minutos nas concentrações de 10% e 5%, indicando efeito bactericida rápido, conforme a tabela 1. Na concentração de 2,5%, houve inibição parcial aos 5 minutos, progredindo para inibição total a partir de 10 minutos, sugerindo dependência do tempo de contato nessa faixa de concentração. Esses resultados indicam um desempenho promissor para situações de manejo no campo, onde *E. coli* é frequentemente associada às mastites ambientais.

O padrão de resposta de *S. aureus* foi semelhante ao observado para *E. coli*, as concentrações de 10% e 5% promoveram inibição total em todos os tempos avaliados (5, 10 e 30 minutos), conforme a tabela 1. Já na 2,5%, ocorreu inibição parcial aos 5 minutos e total nos demais intervalos. Tais achados demonstram que, mesmo em concentrações mais baixas, o extrato apresenta eficácia quando há tempo mínimo de exposição. Em contrapartida, concentrações inferiores a 2% (1,25% e 0,625%) não apresentaram desempenho satisfatório, não sendo recomendadas para formulações desinfetantes.

Tabela 1. Inibição do crescimento de *E. coli* e *S. aureus* nas placas após o teste de desinfetante.

Tempos	Solução estoque	10%	5%	2,5%	1,25%	0,625%
5'	Total	Total	Total	Parcial	Sem inibição	Sem inibição
10'	Total	Total	Total	Total	Sem inibição	Sem inibição
30'	Total	Total	Total	Total	Sem inibição	Sem inibição

Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

Quanto à atividade antifúngica, o EBPV apresentou relevância em relação à *Candida spp.*, com destaque para as concentrações 10%, 5% e 2,5%. Verificou-se inibição total nos tempos de 5, 10 e 30 minutos nas concentrações de 10% e 5%, indicando efeito fungicida rápido, conforme a tabela 2. Na concentração de 2,5%, houve inibição parcial aos 5 minutos, progredindo para inibição total a partir de 10 minutos, sugerindo dependência do tempo de contato nessa faixa de concentração. Assim como o observado nas bactérias, as concentrações inferiores a 2% (1,25% e 0,625%) não apresentaram desempenho satisfatório, não sendo recomendadas para formulações desinfetantes.

Tabela 2. Inibição do crescimento de *Candida spp.* nas placas após o teste de desinfetante.

Tempos	Solução estoque 10%	5%	2,5%	1,25%	0,625%
5'	Total	Total	Parcial	Sem inibição	Sem inibição
10'	Total	Total	Total	Sem inibição	Sem inibição
30'	Total	Total	Total	Sem inibição	Sem inibição

Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

Os resultados obtidos corroboram com o estudo de Klahr (2016), que relatou forte ação antimicrobiana do extrato etanólico de própolis frente a diversas espécies bacterianas, com maior sensibilidade para Gram-positivas, especialmente *S. aureus*. A diferença de sensibilidade entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas pode ser atribuída à barreira conferida pela membrana externa das últimas, dificultando a penetração de compostos bioativos.

A eficácia observada neste estudo também está de acordo com os achados de Aniceto *et al.* (2020), que reportaram ação antibacteriana da borra de própolis contra *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli* e *Shigella flexneri*. Esses autores ressaltaram que, mesmo a borra sendo um subproduto normalmente descartado, ela retém compostos bioativos com potencial terapêutico, achado que reforça a relevância do presente estudo.

De forma semelhante, Neves *et al.* (2016) relataram que amostras tanto da resina bruta em pó quanto do extrato etanólico bruto da própolis vermelha de ambas as localidades inibiram o crescimento de todas as 12 cepas de *Candida* testadas,

com uma concentração inibitória mínima de 256 µg/mL, evidenciando o amplo espectro antifúngico desse tipo de própolis.

Loguercio *et al.* (2006) compararam a atividade antimicrobiana da própolis e de antimicrobianos rotineiramente utilizados, sendo alguns deles: Ampicilina, Gentamicina, Oxacilina, Penicilina, Sulfazotrim e Tetraciclina. Dos 63 isolados bacterianos avaliados, 90,5% apresentaram sensibilidade ao extrato, com destaque para *Staphylococcus* coagulase-positivos (94,4%). Esses resultados corroboram os dados apresentados no presente estudo, especialmente quanto à elevada eficácia do EBPV frente a *S. aureus*, reforçando seu potencial como alternativa natural no controle de patógenos associados à mastite bovina.

Dessa forma, os dados obtidos demonstram que o EBPV possui potencial desinfetante rápido, podendo ser considerado uma alternativa natural para reduzir a carga microbiana em situações de risco sanitário na bovinocultura leiteira, especialmente na prevenção de mastite ambiental.

A toxicidade do EBPV foi dependente da concentração e do tempo de contato. As concentrações de 10% e 5% apresentaram alta toxicidade, com mortalidade elevada em curtos períodos (5, 10 e 30 minutos), conforme a tabela 3. Em contrapartida, a concentração de 2,5% apresentou melhor equilíbrio entre eficácia desinfetante e citotoxicidade, sendo a mais indicada para estudos *in vivo*. A toxicidade observada, especialmente nas concentrações mais altas, pode ser atribuída ao alto teor de compostos fenólicos e flavonoides típicos da própolis vermelha, reconhecidos pela forte bioatividade celular. O comportamento é semelhante ao relatado por estudos com extratos brutos de própolis.

Tabela 3. Porcentagem de mortalidade da *Artemia salina* frente ao EBPV.

Tempos	Solução estoque 10%	5%	2,5%
5'	100%	0%	0%
10'	100%	90%	50%
30'	100%	100%	100%
24 horas	100%	100%	100%

Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

Apesar dos resultados promissores, estudos complementares são recomendados, incluindo avaliação in vivo, padronização da composição química, estabilidade em formulações comerciais, citotoxicidade e eficácia frente a cepas multirresistentes, garantindo segurança e aplicabilidade prática.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo in vitro demonstram que a borra de própolis vermelha apresenta atividade antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida spp.*, com ação rápida e dependente tanto da concentração quanto do tempo de contato. As concentrações de 10% e 5% foram eficazes em todos os tempos avaliados, enquanto 2,5% apresentou ação após 10 minutos, indicando um limite mínimo para garantir efeito desinfetante. Considerando sua eficácia, disponibilidade e baixo custo, a borra de própolis vermelha apresenta-se como candidata promissora para o desenvolvimento de formulações desinfetantes aplicáveis ao manejo animal na bovinocultura leiteira.

AGÊNCIA FINANCIADORA

Este estudo contou com financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANICETO Aniceto, P., García Suárez, J., Nunes Calumby, R., Nascimento de Barros, Y., Silva, D., Oliveira, J., Silva, L., França de Lima, C., Vieira, A., Alvino, V., Moreira, R., & Souza, L. (2020). Atividade antibacteriana de diferentes preparações de própolis vermelha. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, 41(2), 232-242. Disponível em: <https://doi.org/10.22533/at.ed.75420241122>. Acesso em: 10 jan. 2026.

Correa, C. da S. de S. (2018). *Nanoprópolis no tratamento da mastite subclínica bovina: avaliação in vivo da eficácia via intramamária durante o período de lactação* [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina]. Repositório UFSC. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/193595>. Acesso em: 10 jan. 2026.

Coser, S. M., Lopes, M. A., & Costa, G. M. da. (2012). *Mastite bovina: controle e prevenção*. Editora UFLA. Disponível em: <https://repositorio.ufla.br/handle/1/46626>. Acesso em: 10 jan. 2026.

Damasceno, M. D., Gonçalves, M. S., Silva, B. H. P. da, Carneiro, G. B., Reis, A. G., Pereira, B. R., Costa, A. C. T. R. B., Bueno Filho, J. S. de S., Dorneles, E. M. S., & Guimarães, A. de S. (2025). Susceptibility of mastitis-causing pathogens (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) to disinfectants used as teat dipping. *Veterinary Microbiology*, 295, 110678. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2025.110678>. Acesso em: 10 jan. 2026.

Fontes, H. (2020). Própolis vermelha tem substâncias que inibem o crescimento de células cancerígenas. *Instituto de Química de São Carlos*. Disponível em: <https://www5.iqsc.usp.br/2020/propolis-vermelha-tem-substancias-que-inibem-o-crescimento-de-celulas-cancerigenas/>. Acesso em: 10 jan. 2026.

Klahr, G. T. (2016). *Atividade antimicrobiana in vitro e in vivo do extrato etanólico de própolis contra as principais bactérias envolvidas na mastite bovina* [Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Pampa]. Repositório UNIPAMPA. Disponível em: <https://repositorio.unipampa.edu.br/items/3c2f4133-8e67-43ba-9893-0d358ce18ac2>. Acesso em: 10 jan. 2026.

Langoni, H. (2013). Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(5), 620-626. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000500012>. Acesso em: 10 jan. 2026.

Loguercio, A. P., Groff, A. C. M., Pedrozzo, A. F., Witt, N. M., Sá e Silva, M., & Vargas, A. C. de. (2006). Atividade in vitro do extrato de própolis contra agentes bacterianos da mastite bovina. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 43(3), 394-400. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000200021>. Acesso em: 10 jan. 2026.

Meyer, B. N., Ferrigni, N. A., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(5), 31-34. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/51380045>. Acesso em: 10 jan. 2026.

Moreira, D. A. (2021). *Atividade desinfetante in vitro de nanocápsulas do óleo essencial de Tagetes minuta L. para o manejo da ordenha* [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina].

Neves, M. V. M. das, Silva, T. M. S. da, Lima, E. de O., Cunha, E. V. L. da, & Oliveira, E. de J. (2016). Isoflavone formononetin from red propolis acts as a fungicide against *Candida* sp. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1), 159–166. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4822756/>. Acesso em: 10 jan. 2026.

Pontes, D. L. (2019). *Desenvolvimento de extratos naturais como alternativa às soluções convencionais de pré e pós dipping* [Dissertação de mestrado, Universidade Pitágoras Unopar]. Repositório Cognia. Disponível em: <https://repositorio.pgsscogna.com.br/handle/123456789/33461>. Acesso em: 10 jan. 2026.

Santos, F. F. dos, Bezerra, M., Silva, W. P. da, Nascimento, T. A. do, & Silva, V. da C. (2023). Avaliação da atividade antioxidante e perfil fitoquímico do extrato e borra da própolis vermelha de Alagoas. *Scire Salutis*, 13(1), 27-33. Disponível em: <https://doi.org/10.6008/CBPC2236-9600.2023.001.0003>. Acesso em: 10 jan. 2026.

Silva, L. F., Cunha, L. C., Paula Júnior, J. de, & Delprete, P. G. (2012). Avaliação toxicológica comparativa entre *Palicourea marcgravii* St. Hil. e *P. officinalis* Mart. (Rubiaceae) em *Artemia salina* Leach. *Enciclopédia Biosfera*, 8(17), 2695-2707.

Xu, T., Zhu, H., Liu, R., Wu, X., Chang, G., Yang, Y., & Yang, Z. (2022). The protective role of caffeic acid on bovine mammary epithelial cells and the inhibition of growth and biofilm formation of Gram-negative bacteria isolated from clinical mastitis milk. *Frontiers in Immunology*, 13, 1005430. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1005430>. Acesso em: 10 jan. 2026.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aldana-Mejía JA, Ribeiro VP, Meepagala KM, Bastos JK, Ross SA. Bioactive metabolites of Brazilian Red Propolis: Cytotoxic, antimalarial, and antimicrobial properties. *Fitoterapia*. 2025. doi: 10.1016/j.fitote.2024.106351.

AMORIM, Alexandre Vagner Caixeta; SANT'ANA, Driele Sheneidereit. Mastite bovina: reflexões sobre controle e prevenção. **Scientia Generalis**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 208–216, 2021. Disponível em: <https://scientiageneralis.com.br/index.php/SG/article/view/198>. Acesso em: 13 set. 2025.

ANICETO, P.; GARCÍA SUÁREZ, J.; NUNES CALUMBY, R.; NASCIMENTO DE BARROS, Y.; SILVA, D.; OLIVEIRA, J.; SILVA, L.; FRANÇA DE LIMA, C.; VIEIRA, A.; ALVINO, V.; MOREIRA, R.; SOUZA, L. Atividade antibacteriana de diferentes preparações de própolis vermelha. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 41, n. 2, p. 232–242, 24 nov. 2020. ISBN 978-65-5706-575-4. DOI: 10.22533/at.ed.75420241122. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/346283565_Atividade_antibacteriana_de_diferentes_preparacoes_de_Propolis_Vermelha. Acesso em: 15 set. 2025.

ASFOUR, H. A. E. *et al.* Phenotypic and genotypic investigation of yeast species associated with bovine subclinical mastitis. *International Journal of Veterinary Science*, 2022. DOI: <https://doi.org/10.47278/journal.ijvs/2021.071>. Acesso em: 23 fev. 2026.

BANTI, C. N. *et al.* Evaluation of toxicity with brine shrimp assay. *Bio-Protocol*, v. 11, n. 6, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3895>. Acesso em: 23 fev. 2026.

CAMPOS, Bruno; PICKERING, Amy C.; ROCHA, Lis Souza; AGUILAR, Ananda Pereira; FABRES-KLEIN, Maria Hellen; MENDES, Tiago Antônio de Oliveira; FITZGERALD, J. Ross; RIBON, Andrea de Oliveira Barros. Diversidade e patogênese de *Staphylococcus aureus* em mastite bovina: compreensão atual e perspectivas futuras. **BMC Veterinary Research**, v. 18, n. 115, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12917-022-03197-5>.

CORREA, C. da S. de S. (2018). *Nanoprópolis no tratamento da mastite subclínica bovina: avaliação in vivo da eficácia via intramamária durante o período de lactação* [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina]. Repositório UFSC. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/193595>. Acesso em: 10 jan. 2026.

COTTA, Leonardo; MARCONDES, Marcos Inácio; ROTTA, Polyana Pizzi; CUNHA, Camila Soares. *Produção de leite com qualidade: o que precisamos saber?* São Carlos, SP: **Scienza**, 2020. 56 p. E-book. ISBN 978-65-5668-004-0. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.26626/978-65-5668-004-0/B0001>.

DA FONSECA, Maria Eduarda. Mastite bovina: revisão. **Pubvet**, [S. l.], v. 15, n. 02, 2021. DOI: 10.31533/pubvet.v15n02a743.1-18. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/566>.

DAMASCENO, Marcilene Daniel *et al.* Susceptibility of mastitis-causing pathogens (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) to disinfectants used as teat dipping. **Veterinary Microbiology**, [s. l.], v. 295, p. 110678, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2025.110678>.

Do Nascimento, G. P. V. & de França Veras, T. Atividade antimicrobiana e antifúngica de amostras comerciais de extrato alcoólico de própolis verde e própolis vermelho contra cepas causadoras de lesões cutâneas. **Revista Ibero Americana de Podologia** 2(2):182–189, 2020.

FONTES, Henrique. **Própolis vermelha tem substâncias que inibem o crescimento de células cancerígenas**. São Carlos, 2020. Disponível em: <https://www5.iqsc.usp.br/2020/propolis-vermelha-tem-substancias-que-inibem-o-crescimento-de-celulas-cancerigenas/>. Acesso em: 15 set. 2025.

FITZPATRICK, S. R. *et al.* The effect of disinfectant ingredients on teat skin bacteria associated with mastitis in Irish dairy herds. **Irish Veterinary Journal**, v. 74, p. 1, 2021. DOI: 10.1186/s13620-020-00179-7.

GOMES, Samanta Gonçalves. **Análise da eficácia da própolis vermelha e verde sobre bactérias causadoras da mastite**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2022. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/33869>.

LANGONI, H.; SALINA, A.; OLIVEIRA, G. C.; JUNQUEIRA, N. B.; MENOZZI, B. D.; JOAQUIM, S. F. Considerações sobre o tratamento das mastites. *Pesquisa Veterinária Brasileira, Seropédica*, v. 37, n. 11, p. 1261-1269, 2017.

LIU, J. *et al.* Chlorine Dioxide Teat Disinfectant: A Clinical Study on Bactericidal Efficacy and Safety in Dairy Cows in Comparison with an Iodine Glycerin Disinfectant. ***Animals***, v. 16, n. 2, p. 312, 2026. DOI: 10.3390/ani16020312.

MAKABE, M. L.; SANTOS, P. S.; PIRES, M. F. C. Atividade in vitro do extrato etanólico de própolis e do digluconato de clorexidina sobre as espécies de *Candida* isoladas da mucosa bucal de pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva (UTI). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 78, p. e1750, 2018. Disponível em: https://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfo-lutz/publicacoes/rial/10/rial77_completa/1750_final_05_12_2019.pdf. Acesso em: 23 fev. 2026.

MARTINS, C. M. M. R. *et al.* Efficacy of a high free iodine barrier teat disinfectant for the prevention of naturally occurring new intramammary infections and clinical mastitis in dairy cows. ***Journal of Dairy Science***, v. 100, n. 5, p. 3930-3939, 2017. DOI: 10.3168/jds.2016-11193.

NEVES, M. V. M. *et al.* Isoflavone formononetin from red propolis acts as a fungicide against *Candida* sp. ***Brazilian Journal of Microbiology***, São Paulo, v. 47, n. 1, p. 159–166, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4822756/>. Acesso em: 15 set. 2025.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL (NMC). ***A practical look at contagious mastitis***. Setembro de 2016. Disponível em: <https://www.nmconline.org/wp-content/uploads/2016/09/A-Practical-Look-at-Contagious-Mastitis.pdf>. Acesso em: 14 set. 2025.

OLIVER, J. P. *et al.* Invited review: Fate of antibiotic residues, antibiotic-resistant bacteria, and antibiotic resistance genes in US dairy manure management systems. ***Journal of Dairy Science***, v. 103, n. 2, 2020. DOI: 10.3168/jds.2019-16778. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31837779/>. Acesso em: 13 set. 2025.

ÓZSVÁRI, L.; IVÁNYOS, D. The use of teat disinfectants and milking machine cleaning products in commercial Holstein-Friesian farms. ***Frontiers in Veterinary Science***, v. 9, p. 956843, 2022. DOI: 10.3389/fvets.2022.956843.

PONTES, Danielly Lemes. **Desenvolvimento de extratos naturais como alternativa às soluções convencionais de pré e pós dipping**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) – Universidade Pitágoras Unopar, Londrina, 2019. Disponível em: <https://repositorio.pgsscogna.com.br/handle/123456789/33461>.

RIFATBEGOVIĆ, M. *et al.* Pathogens associated with bovine mastitis. **Veterinary Sciences**, v. 11, n. 2, p. 63, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci11020063>. Acesso em: 23 fev 2026.

RUEGG, P. L. A 100-year review: Mastitis detection, management, and prevention. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 10381-10397, 2017. DOI: 10.3168/jds.2017-13023.

SALINA, A.; DALANEZI, F. M.; JUNQUEIRA, N. B.; OLIVEIRA, G. C.; JOAQUIM, S. F.; VASCONCELOS, C. G. C.; GUIMARÃES, F. F.; LANGONI, H. Participação de enterobactérias na etiologia de mastites bovinas em rebanhos de estados do Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, [S. l.], v. 14, n. 3, p. 88–88, 2016. Disponível em: <https://www.revistamvez-crmvsp.com.br/index.php/recmvz/article/view/34959>. Acesso em: 9 nov. 2025.

SANTOS, Fabricia Ferreira dos; BEZERRA, Mariana; SILVA, Williane Pereira da; NASCIMENTO, Tamires Alves do; SILVA, Valdemir da Costa. Avaliação da atividade antioxidante e perfil fitoquímico do extrato e borra da própolis vermelha de Alagoas. **Scire Salutis**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 27–33, 2023. DOI: 10.6008/CBPC2236-9600.2023.001.0003. Disponível em: <https://sustenere.inf.br/index.php/sciresalutis/article/view/8082>. Acesso em: 16 set. 2025.

SANTOS, Bruna Fernandes de Souza; OLIVEIRA, Gabriela Lorrane Moreira; OLIVEIRA, Gabriela Roberta Silva; MAZZINGHY, Ana Carolina do Carmo; COELI, Ana; COELHO, Vinicius Serafim; SILVA, Viviane Dias Medeiros; SILVA, Cleber José; ARAÚJO, Raquel Linhares Bello de; MELO, Júlio Onésio Ferreira. Toxicidade de produtos naturais e a *Artemia salina*. In: **CIÊNCIAS AGRÁRIAS: limites e potencialidades em pesquisa**. v. 3. p. 9–27, jan. 2023. DOI: 10.37885/231014642.

SCATAMBURLO, Murilo Henrique; WERLE, Caroline Hoscheid. MASTITE BOVINA: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, [S. l.], v. 11, n. 10, p. 2669–2680, 2025. DOI: 10.51891/rease.v11i10.21448. Disponível em: <https://periodicorease.pro.br/rease/article/view/21448>. Acesso em: 23 fev. 2026.

SILVA, Mérik Rocha *et al.* Effects of pre-dipping and post-dipping protocol on the incidence of bovine mastitis. ***Scientific Electronic Archives***, [S. l.], v. 16, n. 11, 2023. DOI: 10.36560/161120231804. Disponível em: <https://scientificelectronicarchives.org/index.php/SEA/article/view/1804>. Acesso em: 14 set. 2025.

SOUZA, F. N.; BLAGITZ, M. G.; SANTOS, K. R.; HEINEMANN, M. B.; CERQUEIRA, M. M.; DELLA LIBERA, A. M. Mastite bovina: diagnóstico e ferramentas de controle. In: 3º Simpósio Nacional da Vaca Leiteira. Anais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016. p. 259.

TIONG, I. K. R. *et al.* Artemia as a model organism in stress response studies: current progress and future prospects. ***Marine Biology***, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00227-024-04569-1>.

Vasconcelos, M. K. B. Caracterização fitoquímica de própolis vermelha do Nordeste do Brasil, atividade antioxidante e avaliação de potencial anti *Candida*. (Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, 2025). Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/67994>.

WAND, M. E. *et al.* Mechanisms of increased resistance to chlorhexidine and cross-resistance to colistin following exposure of *Klebsiella pneumoniae* to chlorhexidine. ***Antimicrobial Agents and Chemotherapy***, v. 61, n. 1, 2017. DOI: 10.1128/AAC.01162-16.

XU, T. *et al.* The protective role of caffeic acid on bovine mammary epithelial cells and the inhibition of growth and biofilm formation of Gram-negative bacteria isolated from clinical mastitis milk. ***Frontiers in Immunology***, [S. l.], v. 13, n. 1005430, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.1005430/full>. Acesso em: 13 set. 2025.

YU, Z. N. *et al.* Prevalence and antimicrobial-resistance phenotypes and genotypes of *Escherichia coli* isolated from raw milk samples from mastitis cases in four regions of China. ***Journal of Global Antimicrobial Resistance***, [S. l.], v. 22, p. 94–101, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213716519303303?via%3Dihub>. Acesso em: 13 set. 2025.