

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXTRATO DE PRÓPOLIS NA ALIMENTAÇÃO DE CÃES

Autora: Nancy Lorena Montaña Rivera
Orientador: Prof. Dr. Cláudio Scapinello
Co-orientador: Prof. Dr. Alex Maiorka

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro - 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXTRATO DE PRÓPOLIS NA ALIMENTAÇÃO DE CÃES

Autora: Nancy Lorena Montaña Rivera
Orientador: Prof. Dr. Cláudio Scapinello
Co-orientador: Prof. Dr. Alex Maiorka

Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de concentração: Produção Animal

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro - 2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

G621 Rivera, Nancy Lorena Montaña
Extrato de própolis na alimentação de cães / Nancy
Lorena Montaña Rivera. -- Maringá, 2011.
75 f.

Orientador: Prof° Dr° Cláudio Scapinello.

Co-orientador: Prof° Dr° Alex Maiorka.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de
Maringá, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

1. Nutrição canina. 2. Cão - Nutrição. 3. Cão -
Nutrição - Própolis. 4. Digestibilidade - Cão. I.
Scapinello, Cláudio, orient. II. Universidade Estadual
de Maringá. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.
III. TÍTULO.

CDD 21. ed. 636.7085



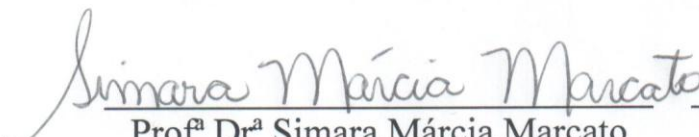
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

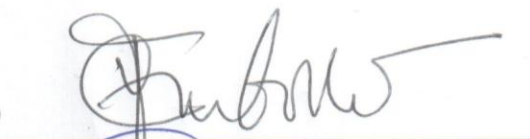
EXTRATO DE PRÓPOLIS NA ALIMENTAÇÃO DE CÃES

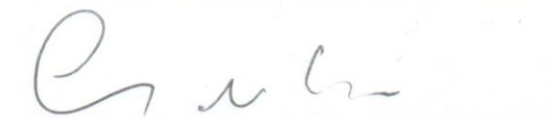
Autora: Nancy Lorena Montaña Rivera
Orientador: Prof. Dr. Cláudio Scapinello


TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção Animal

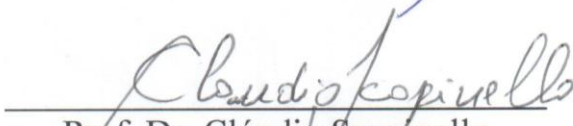
APROVADA em 11 de fevereiro de 2011.


Prof.^a Dr.^a Simara Márcia Marcato


Prof. Dr. Carlos Eduardo Furtado


Prof. Dr. Carlos Maia Betini


Dr. Marcelino Bortolo


Prof. Dr. Cláudio Scapinello
(Orientador)

“Quando uma pessoa tem uma razão para viver,
geralmente encontra como viver”

Friedrich Wilhelm Nietzsche

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, aos meus pais, Nancy Lorenza Montaña Salazar e Luis Enrique Rivera Galleguillos, por me apoiarem para que eu conseguisse terminar mais essa etapa da minha vida.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Sr. Walter Cuelho, empresa Kowalski, pelo incentivo e apoio para realização deste experimento.

Ao Sr. Luiz Alberto Dancs, proprietário do Canil Rancho da Pedra – Apucarana, por disponibilizar suas instalações, cães e tempo próprio para realização de parte deste experimento.

Ao Professor Dr. Cláudio Scapinello, por me dar a oportunidade de continuar meus estudos e me orientar com toda paciência e colaboração.

Ao Professor Dr. Alex Maiorka, por novamente confiar e me apoiar para mais uma pesquisa.

Aos Professores Sheila Wosiacki, José Francisco Warth, Priscila Muradas, Silvia de Oliveira Hubner, Lucimar Pontara Peres Pontara, Rosana Zanata, Selma Franco, Everson Nunes e *Alessandra Aparecida Álvares Alça*, pela compreensão, amizade e ajuda na elaboração deste experimento.

A todos do Laboratório de Nutrição Animal da UFPR, em especial, a Cleusa e Aldo.

Aos estagiários do Lenucan, pela ajuda no manejo das “crianças”, principalmente, a Tabyta e Marlus.

Ao Sr. Ismael, fábrica de ração da UFPR, pela disponibilidade e ajuda novamente.

As minhas amigas, que ajudaram não só na realização deste experimento, mas também escutando meus desabaços e ideias mirabolantes: Ananda Félix, Bárbara Daciuk, Fabiane Murakami, Giovanna Oliveira, Helen Aline Melo, Marúcia Dalchuchi e Daniela Capponero.

As minhas meninas quadrúpedas, Tia Panda, Nenê, Flora, Cadinha, Pimpo e Fifi!!

E não poderia deixar de agradecer aos 31 pequenos quadrúpedes!

Aos que me ajudaram no Mestrado, quando recém chegaram ao canil e agora me acompanharam no Doutorado, antes de conquistarem um lar só para eles. Muito obrigada pequenos!! Bob pula pula, Críca cricovisky, Rufinho reclamão, Tadeu lord, Florzinha minha flor, Belinho meu autista, Gracinha encenqueira, Romeu espertinho, Zezinho babão, Vamp fresquinha, Tati curiosa, Mel meiga, Hanna chorona e, Fofinha, linda mesmo com orelhas pequenas.

Aos meus ex-primitivos... que me assustaram no início, mas logo me conquistaram com suas carinhas lindas... Narizinho um dia será minha só minha... Laidy, Chiquinha, Teddy, Bidu, Feliz, Snoopy, Zorro, Lua, Fiona, Taz, Duda, Nandinha, Chay, Dumbo e Pongo.

E a Estrela estrelinha que não participou no experimento em si, mas que tive a oportunidade de conviver...

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

NANCY LORENA MONTAÑO RIVERA, filha de Luis Enrique Rivera Galleguillos e Nancy Lorena Montaña Salazar, nasceu em Curitiba, PR, em 16 de abril de 1980.

Concluiu o ensino médio no Colégio Bom Jesus, Curitiba, PR em 1997. Em fevereiro de 1998, ingressou na Universidade Federal do Paraná, na qual, em abril de 2003 obteve o título de Médica Veterinária.

Em fevereiro de 2004, iniciou o curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias na mesma Universidade.

Para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias, na área de Nutrição e Alimentação Animal, submeteu-se à defesa de Dissertação “Avaliação do efeito da suplementação de CLA em dieta de cães”, em 22 de fevereiro de 2006.

Em 2006, passou no concurso para professor substituto do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Maringá – Campus Umuarama.

Em março de 2007, iniciou no curso de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, na área de concentração de Produção Animal.

Em 11 de fevereiro de 2011, submeteu-se à defesa da tese para obtenção do título de Doutor em Zootecnia, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE QUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xvi
I - INTRODUÇÃO	1
1.1 PRÓPOLIS	1
1.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PRÓPOLIS	3
1.2.1 Compostos fenólicos	4
1.2.1.1 Ácidos fenólicos	4
1.2.1.2 Flavonoides	6
1.3 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA PRÓPOLIS	9
1.3.1 Atividade antimicrobiana	10
1.3.2 Atividade imunomodulatória	13
1.3.3 Efeito antiobesidade	13
1.3.4 Efeito hepatoprotetor	15
1.3.5 Efeitos adversos	16
1.3.6 Atividade zootécnica	17
1.4 PATENTES	20
Literatura Citada	21
II - OBJETIVOS GERAIS	28

III -	DIGESTIBILIDADE DE DIETAS CONTENDO DIFERENTES EXTRATOS E CONCENTRAÇÕES DE PRÓPOLIS PARA CÃES	29
	Resumo	29
	Abstract	30
	Introdução	31
	Material e Métodos	32
	Resultados e Discussão	35
	Conclusão	38
	Literatura Citada	39
IV -	CONDIÇÃO CORPORAL E BIOLÓGICA DE CÃES QUE RECEBERAM O EXTRATO DE PRÓPOLIS NA DIETA	40
	Resumo	40
	Abstract	41
	Introdução	42
	Material e Métodos	43
	Resultados e Discussão	49
	Conclusão	58
	Literatura Citada	59
V -	EFEITO DA INCLUSÃO DE EXTRATO DE PRÓPOLIS NA DIETA DE CÃES SOBRE A PALATABILIDADE E CARACTERÍSTICA DAS FEZES	62
	Resumo	62
	Abstract	63
	Introdução	64
	Material e Métodos	65
	Resultados e Discussão	68
	Conclusão	71
	Literatura Citada	72
VI -	CONSIDERAÇÕES GERAIS	74

LISTA DE TABELAS

		Página
III - DIGESTIBILIDADE DE DIETAS CONTENDO DIFERENTES EXTRATOS E CONCENTRAÇÕES DE PRÓPOLIS PARA CÃES		
Tabela 1	Teor de flavonoides totais em apigenina (mg/kg) calculado para dieta e dose diária ingerida pelos cães (mg/kg peso vivo)	35
Tabela 2	Valores dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo ácido (EEA), extrativo não-nitrogenado (ENN) e energia metabolizável (EM) das dietas, controle e com diferentes extratos de própolis	36
Tabela 3	Teores de flavonoides totais em apigenina (mg/kg dieta) de acordo com as diferentes diluições do extrato SLNC206 em óleo de soja	37
Tabela 4	Valores dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo ácido (EEA), extrativo não-nitrogenado (ENN) e energia metabolizável (EM) das dietas, com diferentes níveis de teor de flavonoides totais	37
IV - CONDIÇÃO CORPORAL E BIOLÓGICA DE CÃES QUE RECEBERAM O EXTRATO DE PRÓPOLIS NA DIETA		
Tabela 1	Consumo médio diário de alimento (g/dia) e energético (Kcal/dia) de cães Beagles, de acordo com a idade, com e sem a inclusão de extrato de própolis na dieta	49
Tabela 2	Achados clínicos observados nos cães durante o período experimental ...	52
Tabela 3	Valores de hemograma e análises bioquímicas sérica para fosfatase alcalina, creatinina, colesterol total e triacilgliceróis de cães alimentados com dietas suplementadas ou não com extrato de própolis SLNC206/SL49 ^(PI)	52

Tabela 4	Redução observada (concentração inicial menos concentração final) da concentração sérica de colesterol total e triacilglicerol dos cães que receberam dieta-controle ou dieta com inclusão de extrato de própolis ...	53
Tabela 5	Índice de proliferação de linfócitos dos cães da raça Beagle aos 15 meses de idade que receberam própolis ou não na dieta	56
V- EFEITO DA INCLUSÃO DE EXTRATO DE PRÓPOLIS NA DIETA DE CÃES SOBRE A PALATABILIDADE E CARACTERÍSTICA DAS FEZES		
Tabela 1	Médias e desvio-padrão da razão de ingestão diária e, porcentagem média de primeira escolha das dietas com ou sem suplementação de extrato de própolis	68
Tabela 2	Valores médios e desvio-padrão das unidades formadoras de colônia (UFC) incubadas em meio de ágar padrão para contagem (PCA) e ágar bile vermelho violeta (VVB) e escore fecal, de acordo com a inclusão de extrato de própolis	69

LISTA DE QUADROS

	Página
III - DIGESTIBILIDADE DE DIETAS CONTENDO DIFERENTES EXTRATOS E CONCENTRAÇÕES DE PRÓPOLIS PARA CÃES	
Quadro 1 Níveis de garantia fornecidos na embalagem do alimento completo	33
IV - CONDIÇÃO CORPORAL E BIOLÓGICA DE CÃES QUE RECEBERAM O EXTRATO DE PRÓPOLIS NA DIETA	
Quadro 1 Níveis de garantia apresentados na embalagem do alimento completo ...	43
Quadro 2 Sistema de avaliação da condição corporal de pequenos animais	45
V - EFEITO DA INCLUSÃO DE EXTRATO DE PRÓPOLIS NA DIETA DE CÃES SOBRE A PALATABILIDADE E CARACTERÍSTICA DAS FEZES	
Quadro 1 Níveis de garantia fornecidos na embalagem do alimento completo	65
Quadro 2 Sistema de avaliação da consistência das fezes através de escores	67

LISTA DE FIGURAS

	Página
I - INTRODUÇÃO	
Figura 1 Estrutura do fenol comum, ou ácido fênico, o mais simples dos compostos fenólicos	4
Figura 2 Núcleo básico hidroxifenilpropenoico dos ácidos fenólicos	5
Figura 3 Exemplos de ácidos fenólicos: ácido benzoico, ácido cinâmico, ácido cafeico, ácido quínico e ácido clorogênico	5
Figura 4 Ácidos fenólicos comuns nos produtos apícolas	5
Figura 5 Núcleo básico dos flavonoides, composto por dois anéis aromáticos (A e B) e um anel intermediário (C)	6
Figura 6 Estruturas dos grupos: (A) Flavona, (B) Flavonol, (C) Flavonona, (D) Flavononol, (E) Isoflavonoides, (F) Chalconas e (G) Antocianidinas (B)	7
Figura 7 Estrutura de alguns flavonoides comumente encontrados na própolis	8
IV - CONDIÇÃO CORPORAL E BIOLÓGICA DE CÃES QUE RECEBERAM O EXTRATO DE PRÓPOLIS NA DIETA	
Figura 1 Diferença (Δ) (mensuração inicial menos final) do peso e tecido adiposo subcutâneo da região lombar (TAS) e escore corporal dos cães que receberam dieta controle ou com própolis por cinco meses	50
Figura 2 Nível de diluição que apresentou hemaglutinação em cães da raça Beagle aos 12, 13, 14 e 15 meses de idade alimentados com dietas suplementadas ou não com extrato de própolis	57

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CDA	Coefficientes de digestibilidade aparente
CMS	Consumo de matéria seca
CoA	Coenzima A
Con A	Concanavalina A
CV	Coefficiente de variação
EEA	Extrato etéreo ácido
EEP	Extrato etanólico de própolis
EM	Energia metabolizável
ENN	Extrativos não-nitrogenados
HDL	Colesterol de alta densidade
HI	Inibição da hemaglutinação
IL	Interleucinas
L6	Sexta vértebra lombar
L7	Sétima vértebra lombar
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MS	Matéria seca
PB	Proteína bruta
PCA	Ágar Padrão para Contagem
S1	Primeira vértebra sacral
SHP	Solução hidroalcoólica de própolis
SREBP-1	Proteína ligadora dos elementos regulados por esteróis 1
SREBP- 2	Proteína ligadora dos elementos regulados por esteróis 2
TAG	Triacilglicerol
TAS	Tecido adiposo subcutâneo

TFT	Teores de flavonoides totais
UEM	Universidade Estadual de Maringá
UFC	Unidades formadoras de colônia
UFPR	Universidade Federal do Paraná
VR	Valores de referência
VVB	Ágar Bile Vermelho Violeta
Δ	Diferença da mensuração inicial menos final

RESUMO

O experimento, para avaliar a utilização de própolis em dietas de cães, foi conduzido em três etapas. A primeira, baseada em dois ensaios de digestibilidade aparente, com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão de diferentes extratos e concentrações de própolis sobre a digestibilidade da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo ácido (EEA), extrativo não-nitrogenado (ENN), além da energia metabolizável (EM), de dietas para cães Beagles adultos. Em ambos os ensaios, foram utilizados dez cães, distribuídos em um delineamento em quadrado latino 5x5 (cinco dietas *versus* cinco períodos) com duas repetições por período. Para o primeiro ensaio foram avaliados diferentes extratos de própolis SLNC106, SLNC206, SLNC109 e SLNC209, mais a dieta referência sem adição de própolis. Para o segundo ensaio, o extrato SLNC206 foi adicionado em diferentes concentrações: 0, 20, 40, 60 e 80 mL, diluídos em 2 L de óleo de soja e adicionado a um volume de 75 kg de dieta. No primeiro ensaio, a inclusão do extrato SLNC209 diminuiu o valor do coeficiente de digestibilidade (CDA) da MS. Já no segundo ensaio, a inclusão crescente do extrato de própolis melhorou linearmente os valores de CDA da PB, EEA, ENN, MS e EM das dietas. Para a segunda e terceira etapas, foi utilizada uma dieta comercial (Nova D+), com ou sem suplementação do extrato de própolis (SLNC206/SL49^(PI)), a qual forneceu um teor de flavonoides de 0,11 mg/kg de peso vivo por dia. A segunda etapa consistiu em avaliar o efeito da suplementação de extrato de própolis sobre o consumo de alimento dos cães; condição corporal: peso vivo, escore corporal e mensuração de tecido adiposo subcutâneo na região lombar; condição biológica: índice de proliferação de linfócitos, resposta vacinal contra o vírus da cinomose canina, hemograma, concentração sérica de fosfatase alcalina, creatinina, colesterol total e triacilglicerol (TAG) e características das

^(PI) Patente: PI 05063930

fezes: escore, odor e microbiologia. Foram utilizados 16 cães Beagles com 11 meses de idade, durante um período de cinco meses, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos, dieta-controle *versus* dieta com própolis. Os animais que receberam a dieta com extrato de própolis apresentaram maior redução no peso, na espessura de tecido adiposo subcutâneo, na concentração de colesterol total e maiores valores de unidades formadoras de colônias nas fezes. No entanto, para as características: consumo, escore corporal, avaliação clínica, titulação da resposta vacinal, índice de proliferação de linfócitos, concentração sérica de fosfatase alcalina e creatinina, escore e odor fecal não foram observadas diferenças entre os grupos. A terceira etapa teve o objetivo de avaliar, em cães, o efeito da inclusão de extrato de própolis sobre a palatabilidade e primeira escolha da dieta. Foram utilizados 20 cães das raças Beagle, Siberian Husky, Labrador Retriever e Basset. O experimento teve duração de três dias, totalizando 60 repetições. A adição de extrato de própolis na dieta melhorou a palatabilidade e aumentou a porcentagem de primeira escolha.

Palavras-chave: aceitabilidade, digestibilidade, energia metabolizável, fezes, nutrição de cães, palatabilidade, tecido adiposo subcutâneo

ABSTRACT

The experiment to evaluate the propolis utilization in dogs' diet was carried out in three stages. The first stage was based on two digestibility trials with aim of evaluating effect of propolis inclusion in different concentrations and extracts on apparent digestibility of dry mater (DM), crude protein (CP), acid ether extract (AEE), nitrogen free extractives (NFE), and metabolizable energy (ME), of diets for adult Beagles. In both trials ten dogs were distributed in Latin square design 5x5 (five diets *versus* five periods) with two replicates per period. At first trial were used different extracts SLNC106, SLNC206, SLNC109 and SLNC209, plus reference diet without propolis' addition. For second trial, the propolis extract SLNC206 was added in different concentrations: 0, 20, 40, 60 and 80mL dilutes in two liters of soybean oil and added to 75 kg of the diet. In the first trial the inclusion SLNC209 extract decreased apparent digestibility coefficient (ADC) of DM. In the second trial, the increasing inclusion of propolis extract improved linearly ADC of CP, AEE, NFE, DM and ME diets. For second and third stage, it was used a commercial diet (Nova D+), with or without propolis extract (SLNC206/SL49^(PI)) inclusion, which provided a total flavonoid content of 0.11 mg/kg of bw per day. The second stage had objective to evaluate the effect of propolis extract on diet intake; body condition: body weight (bw), body score and tissue subcutaneous fat in the lumbar region; biological condition: index proliferation of lymphocytes, vaccination response against canine distemper virus, hemogramme, serum alkaline phosphatase, creatinine, total cholesterol and triacylglycerol (TAG) and faeces characteristics: score, odour and microbiology. Sixteen beagle dogs, 11 months-old each, were used for five months, randomly divided in two groups, control diet versus propolis extract diet. The group fed with propolis extract showed a greater reduction in

^(PI) Patent: PI 05063930

weight, thickness of the subcutaneous fat and total cholesterol at the end of the experiment. Higher values of colony-forming unit in faeces of dogs fed with propolis extract diet were observed. However, the characteristics: intake, body score, clinical assessment, vaccine response, lymphocyte proliferation index, serum alkaline phosphatase and creatinine, score and faecal odour did not differ between both groups. Third stage evaluated, in dogs, the effect of the propolis extract inclusion in the dog diet on the palatability and first choice. Twenty dogs of different breeds were used, Beagle, Siberian Husky, Labrador Retriever and Basset Hound. The trial lasted three days, totalising 60 repetitions. The propolis extract inclusion in diet increased the palatability and higher first choice percentage.

Key Words: acceptability, digestibility, metabolizable energy, faeces, dog nutrition, palatability, subcutaneous adipose tissue

I - INTRODUÇÃO

1.1 PRÓPOLIS

A própolis é um dos muitos produtos naturais que vem sendo utilizado durante séculos pela humanidade. Os egípcios conheciam as propriedades antiputrefativas da própolis e empregavam para embalsamar cadáveres. Além disso, foi reconhecida por suas propriedades medicinais por médicos gregos e romanos como Aristóteles, Dioscorides, Plínio e Galeno (Capasso & Castaldo, 2002).

De acordo com Salatino et al. (2005), a própolis começou a ser apreciada como meio para tratamento de problemas de saúde nos anos de 1950 e 1960 na ex-União Soviética e em países do Leste da Europa, como Bulgária, República Tcheca e Polônia. Na metade dos anos 80, no entanto, a própolis tornou-se um importante produto na medicina alternativa e complementar, tendo, atualmente, o Japão como o principal importador, com preferência pela própolis brasileira.

No Brasil, o interesse pela própolis aconteceu somente na década de 80 com o trabalho pioneiro de Ernesto Ulrich Breyer, demonstrando as propriedades terapêuticas da própolis e sua utilização como antibiótico natural (Lima, 2006).

O nome própolis se deve aos gregos que já a utilizavam, significando pró = defesa e polis = cidade. Hoje, sabe-se que a abelha participa ativamente da produção de própolis, não só recolhendo as secreções das plantas, mas transformando-as através de enzimas salivares.

A própolis é uma substância resinosa e balsâmica, que possui coloração e consistência diversas, variando de marrom ao verde escuro. É produzida pelas abelhas, que utilizam substratos extraídos de diversas partes das plantas, como brotos, botões florais e exudatos resinosos, sendo transportados para dentro da colmeia, contribuindo

para o fechamento das frestas, e reduzindo a entrada de ventos frios e ataque de inimigos naturais, como fungos e bactérias (Marcucci, 1999).

O consumo de própolis no mundo é estimado em cerca de 700-800 toneladas/ano (Da Silva et al., 2006) e o Brasil é o segundo maior produtor mundial, logo seguido da China (Lima, 2006).

Em países de clima temperado são poucas as plantas que produzem a substância resinosa fortemente adesiva, que é coletada e transformada pelas abelhas. No Brasil há uma grande variedade de plantas produtoras dessa resina, logo é possível a produção de diversas própolis como a própolis verde ou marrom esverdeada, amarela, amarela escura, castanho escuro, castanho claro e mais recentemente a vermelha (Burdock, 1998; Park et al., 2000; Trusheva et al., 2006).

As características da própolis (cor, sabor, odor, consistência, composição química e atividade biológica) variam conforme a espécie vegetal, o clima predominante, estações do ano (Marcucci, 1995) e a espécie da abelha (Bankova et al., 1992; Soler et al., 1995; Koo & Park, 1996).

Dessa forma, a composição da própolis é variável, encontrando-se alterações de acordo com o tipo de vegetação predominante na região. A maioria dos pesquisadores concorda que a base de sua composição é de 50-60% de resinas e bálsamos, 30-40% de ceras, 5-10% de óleos essenciais, 5% de grão de pólen (Park et al., 2002).

Também foram encontrados teores consideráveis de flavonoides, ácido cafeico (Szewezark & Goddy, 1984), aminoácidos, principalmente arginina e prolina (Gabrys et al., 1988), além de microelementos como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês, vanádio, silício, magnésio, titânio, bromo e pequenas quantidades de vitaminas B1, B2, B6, C e E (Park et al., 2002).

Até o momento, já foram identificados mais de 200 compostos químicos na própolis. Dentre os quais, flavonoides como a galangina, quercetina, pinocembrina e kaempferol, ácidos aromáticos e ésteres, aldeídos e cetonas, terpenoides e fenilpropanoides (ácidos cafeico e clorogênico), esteroides, álcoois (cinâmicos, fenetílico, prenílico, isobutenol, benzílico), aminoácidos (arginina, prolina), polissacarídeos, hidrocarbonetos, ácidos graxos e outros compostos em pequenas quantidades. O maior grupo é dos flavonoides, assim como minerais e vitaminas (Greenaway et al., 1990; Bankova et al., 1992). De todos esses grupos de compostos, o que vem chamando mais atenção dos pesquisadores é o dos flavonoides (Park et al., 2000; Barth et al., 2004; Volpi & Bergonzini, 2006; Sousa et al., 2007).

Segundo Franco et al. (2000), o teor de flavonoides da própolis da região de Maringá, Estado do Paraná, variou entre 2,05% a 5,52% nos períodos de inverno a verão, respectivamente. As substâncias que predominam na composição da própolis, embora quimicamente distintas, nas própolis de uma e outra região, são sempre de natureza fenólica e com propriedades antissépticas (Salatino, 2009).

Aos flavonoides e aos ácidos fenólicos são atribuídas as propriedades antibacteriana, antiviral, antioxidante, antifúngica, anti-inflamatória, hepatoprotetora, antitumoral, imunomodulador, antiprotozoário, entre outras. Esse potencial biológico se deve a um sinergismo que ocorre entre os muitos constituintes da própolis (Markham et al., 1996; Matsuno, 1997; Marcucci et al., 2001).

Além de todas as características mencionadas, a própolis está sendo utilizada, frequentemente, na área da medicina humana e animal, com obtenção de bons resultados (Ghisalberti, 1979). Dentre os produtos apícolas, a própolis vem despertando interesse pelo potencial benéfico, originando, assim, importante ramo da medicina denominado apiterapia (Funari et al., 1998).

Apesar da grande importância atribuída à própolis, são poucas as pesquisas existentes na área (Oliveira et al., 2004; Stradiotti Júnior et al., 2004a,b; Freitas et al., 2009).

1.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PRÓPOLIS

As propriedades biológicas da própolis estão diretamente ligadas à sua composição química, e é o maior problema para o uso da própolis em fitoterapia. Visto que sua composição química varia com a flora da região (brotos, cascas, galhos, exsudatos e menos importante, botões florais), época da colheita e espécie da abelha. No caso brasileiro, também o grau de "africanização" da *Apis melífera* pode influenciar a sua composição.

Somente no caso do Brasil são descritas propriedades biológicas e composição química distintas para diferentes amostras, coletadas em diferentes partes do país. Essa variação é facilmente explicada pela grande biodiversidade brasileira. Há grande controvérsia em relação ao teor de flavonoides nas amostras brasileiras (Pereira et al., 2002).

Bankova et al. (1995) concluíram que as própolis brasileiras têm baixa concentração de flavonoides e ésteres de ácidos fenólicos, possuindo altas

concentrações de ácido dihidroxicinâmico, acetofenonas preniladas e alguns terpenóides específicos. Bankova et al. (2000) citam que os flavonoides são importantes componentes presentes na própolis.

1.2.1 Compostos fenólicos

Em termos de ação farmacológica, a principal classe de constituintes da própolis é a dos compostos fenólicos. Essas substâncias caracterizam-se pela presença de, pelo menos, um grupo hidroxila, ligado diretamente a um anel aromático (Figura 1) (Marcucci, 1998).

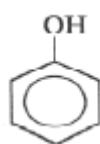


Figura 1 – Estrutura do fenol comum, ou ácido fênico, o mais simples dos compostos fenólicos.

Fonte: Adaptado de Marcucci (1998).

Existem diversas classes de compostos fenólicos, entre eles os ácidos fenólicos, com os ácidos benzoicos: cafeico, cumárico e ferúlico, e os flavonoides, como a apigenina, o canferol e a quercetina (Marcucci, 1998).

1.2.1.1 Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos são constituídos por um núcleo básico hidroxifenilpropenoico conforme demonstrado na Figura 2. Os ácidos fenólicos podem ser divididos em três grupos (Figura 3). O primeiro é composto pelos ácidos benzoicos, que possuem sete átomos de carbono (C6-C1) e são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza. O segundo é formado pelos ácidos cinâmicos, que possuem nove átomos de carbono (C6-C3). O terceiro grupo é representado pelos ácidos fenólicos que, além de se apresentarem sob uma forma natural, podem também se ligar entre si ou com outros compostos. A combinação mais importante destes ácidos ocorre com o ácido cafeico, o qual, associado a um álcool-ácido cíclico, denominado ácido quínico, origina o ácido clorogênico (Soares, 2002).

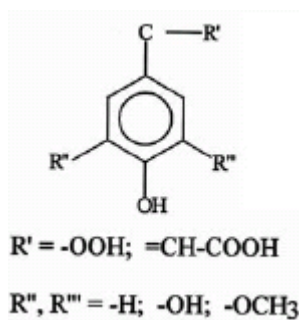


Figura 2 – Núcleo básico hidroxifenilpropenoico dos ácidos fenólicos.

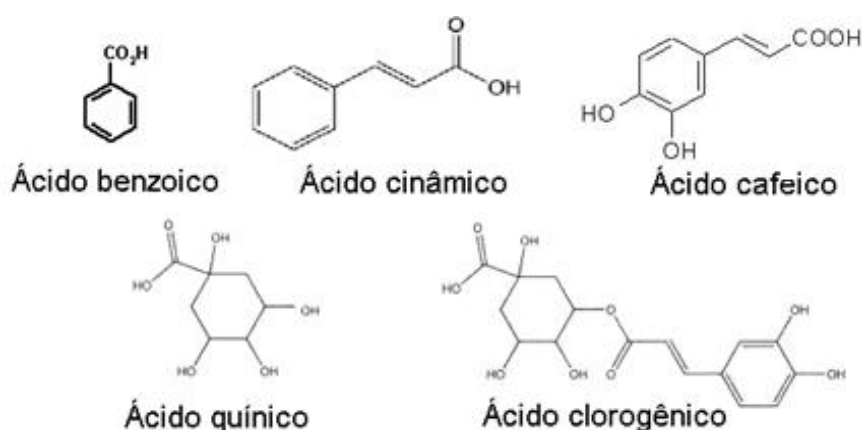


Figura 3 – Exemplos de ácidos fenólicos: ácido benzoico, ácido cinâmico, ácido cafeico, ácido quínico e ácido clorogênico.

A Figura 4 mostra exemplos de compostos fenólicos, alguns comuns nos produtos apícolas, como o ácido gálico, p-cumárico, cafeico, ferúlico e siríngico (Marcucci, 1998). Alguns ésteres do ácido cafeico são alérgenos, responsabilizados pela ocorrência de dermatites em usuários mais sensíveis (Nothenberg, 1997).

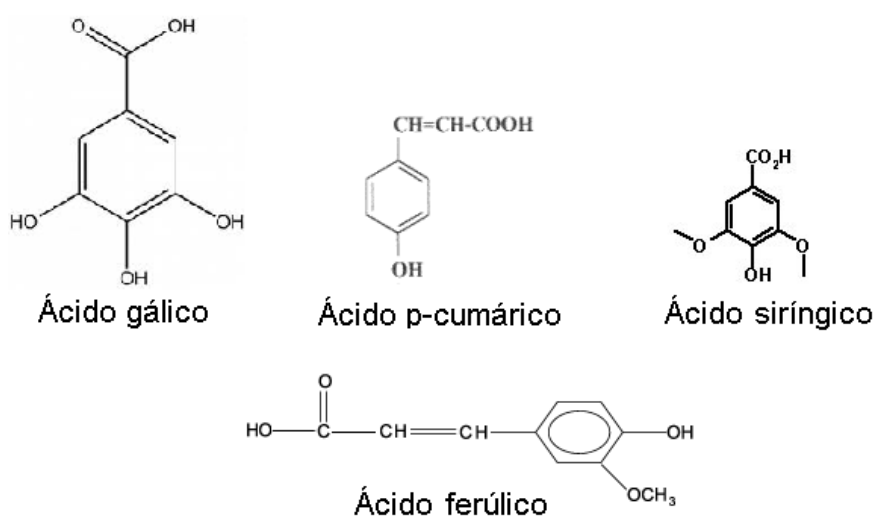


Figura 4 – Ácidos fenólicos comuns nos produtos apícolas.

Os constituintes da própolis que demonstraram grande atividade anticâncer são os derivados do ácido cafeico e flavonoides (Banskota et al., 1998). O éster fenetílico do ácido cafeico (CAPE) inibe vários processos associados à carcinogênese, suprimindo o crescimento de várias linhagens de células cancerígenas humanas (Su et al., 1994).

O CAPE também possui atividade anti-inflamatória por inibir a liberação do ácido araquidônico das membranas celulares, suprimir a atividade da COX-1 e COX-2 e inativar a expressão gênica da COX-2 (Borrelli et al., 2002). Também já foi demonstrada sua atividade vasodilatadora (Cicala et al., 2003).

1.2.1.2 Flavonoides

Os flavonoides compõem ampla classe de substâncias de origem natural, cuja síntese não ocorre na espécie humana. Atualmente, já foram identificadas mais de 4 mil substâncias pertencentes ao grupo dos flavonoides (Peterson & Dwyer, 1998).

A explicação para a existência de uma grande diversidade estrutural dos flavonoides é explicada pelas modificações que tais compostos podem sofrer, tais como: hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, entre outras (Koes et al., 1994).

Estruturalmente (Figura 5), os flavonoides são substâncias aromáticas com 15 átomos de carbono (C15) no seu esqueleto básico, sendo compostos fenólicos C6-C3-C6, em que os dois anéis C6 são necessariamente aromáticos (anéis A e B) e conectados por uma ponte de três carbonos que geralmente contém um átomo de oxigênio (anel C) (Nothenberg, 1997; Lopes et al., 2000a). Com exceção das chalconas, todos os flavonoides possuem um anel pirânico (com heteroátomo de oxigênio). De acordo com as características químicas e biossintéticas, os flavonoides são separados em diversas classes: flavonas, flavonóis, dihidroflavonoides (flavanonas e flavanonóis), antocianidinas, isoflavonoides, auronas, neoflavonoides, biflavonoides, catequinas e seus precursores metabólicos conhecidos como chalconas e podem ocorrer como agliconas, glicosilados e como derivados metilados (Havsteen, 1983).

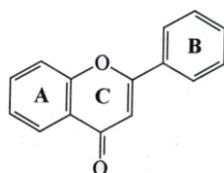


Figura 5 – Núcleo básico dos flavonoides, composto por dois anéis aromáticos (A e B) e um anel intermediário (C).

As classes dos flavonoides variam em sua estrutura característica ao redor do anel C (Peterson & Dwyer, 1998), e são quimicamente classificados de acordo com a presença ou não do anel central, de uma dupla ligação no anel e de um grupo hidroxila a ele ligado (Marcucci, 1998).

O anel C condensado com o anel A pode ser, tanto um anel γ -pirano no caso das flavonas (Figura 6A) e dos flavonóis (Figura 6B) ou seu dihidroderivado no caso das flavanonas (Figura 6C) e dos flavononóis (Figura 6D). A posição do anel benzênico substituinte (B) divide a classe dos flavonoides em flavonoides (posição 2) e isoflavonoides (posição 3) (Figura 6E). As chalconas são os precursores dos flavonoides (Figura 6F) e as antocianidinas são extremamente relacionadas aos flavonoides, diferindo dos mesmos por possuírem o anel C com carga positiva (Figura 6G) (Havsteen, 1983).

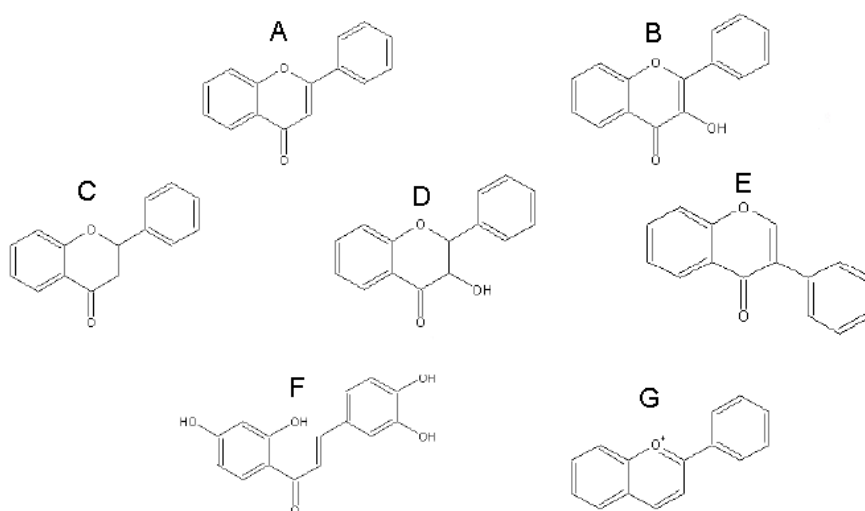


Figura 6 – Estruturas dos grupos: (A) Flavona, (B) Flavonol, (C) Flavonona, (D) Flavononol, (E) Isoflavonoides, (F) Chalconas e (G) Antocianidinas (B)

Os flavonoides, por serem pigmentos presentes em todas as células fotossintetizadoras, são encontrados em ervas, legumes, frutas e mel (Lopes et al., 2000; Havsteen, 2002).

Porém, as flavanonas ocorrem predominantemente em frutas cítricas, as flavonas em plantas utilizadas para condimentos, os isoflavonoides em legumes, as antocianinas e catequinas em frutas e flavonóis em todas as frutas e vegetais (Peterson & Dwyer, 1998).

Apesar de o termo flavonoide derivar do latim “flavus”, que significa amarelo, observa-se que o grupo flavanona (ex. pinocembrina) é incolor e que a classe das antocianinas possui substâncias que variam no seu espectro de coloração do verde ao azul (Lopes et al., 2000a).

Como na maioria dos produtos naturais, existe uma variedade de constituintes na própolis e em seus extratos que são comuns em outros alimentos, alguns dos quais também com atividades biológicas. Destas substâncias com propriedades biológicas, nenhuma contribui mais para os efeitos observados na própolis do que os flavonoides (Burdock, 1998).

A Figura 7 mostra estruturas de flavonoides comumente encontrados em própolis: o canferol, a quercetina, a isorramnetina e a galangina são flavonóis; a apigenina, a luteolina, a crisina e a tectocrisina são exemplos de flavonas; a pinocembrina é uma flavanona e a pinobanksina é um diidroflavonol (Marcucci, 1998).

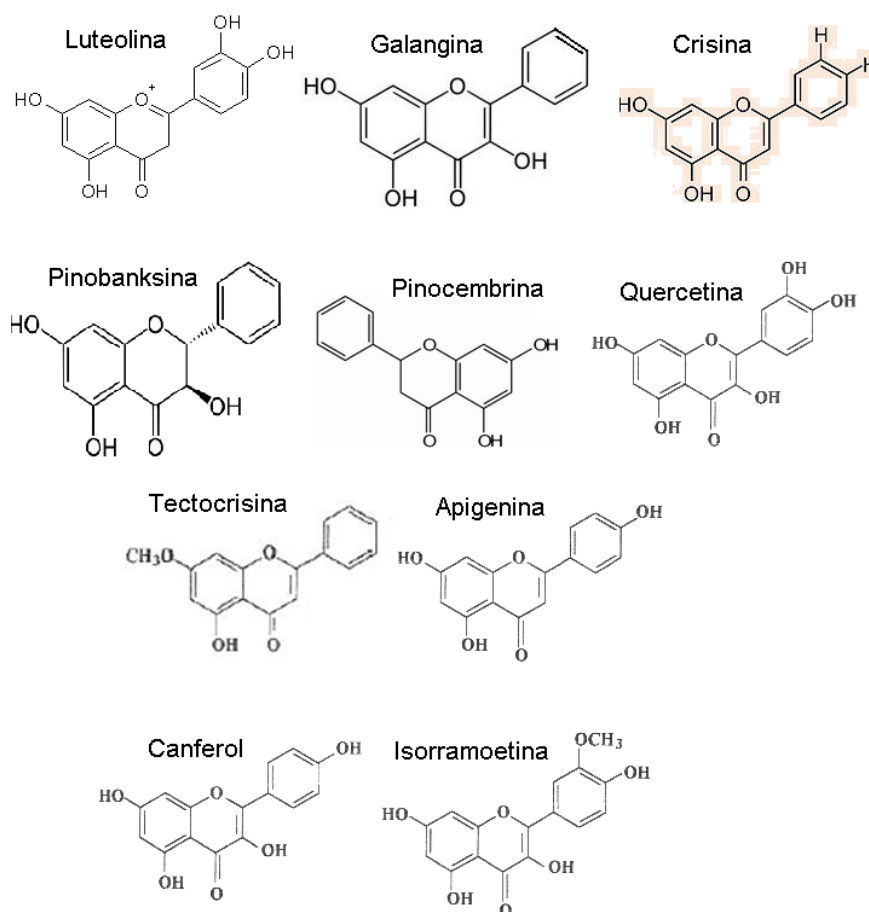


Figura 7 – Estrutura de alguns flavonoides comumente encontrados na própolis.
Fonte: Adaptado de Marcucci (1998).

1.3 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA PRÓPOLIS

Diversos ensaios “in vitro” e “in vivo” vêm comprovando e determinando as atividades biológicas dos flavonoides. Destacam-se, dentre outros, a capacidade antioxidante, anti-inflamatória e de efeito vasodilatador, ação antialérgica, antitumoral, hepatoprotetora, antiulcerativa, ações antiplaquetária, bem como ações antimicrobianas e antivirais (Lopes et al., 2000a,b).

As propriedades farmacológicas da própolis são principalmente atribuídas à presença de flavonoides (Russo et al., 2002). A opinião prevalente dentro do amplo espectro de atividades biológicas dos flavonoides está relacionada, ao menos em parte, a sua habilidade de proteção contra os danos causados pelos radicais livres.

De fato, os polifenóis têm demonstrado interferir não apenas na propagação da reação, mas também na formação de radicais livres, tanto quelando os metais de transição, quanto pela inibição de enzimas envolvidas na inicialização da reação (Russo et al., 2002). A ação antioxidante se deve ao fato de que os flavonoides minimizam a peroxidação lipídica e o efeito dos radicais livres (Marcucci, 1998). A glicosilação dos mesmos torna a molécula menos reativa frente aos radicais livres, porém mais hidrossolúvel (Rice-Evans et al., 1997).

O arranjo estrutural dos flavonoides que determina a atividade antioxidante ocorre, variando duas hidroxilas nas posições orto 3',4' no anel B; duas hidroxilas nas posições meta 5,7 no anel A; uma dupla ligação em combinação com o grupo 4-ceto e grupo 3-hidroxil no anel C, assim como hidroxila na posição orto no anel B (ex. quercetina). Além disso, alterações no arranjo dos grupos hidroxilas e substituições destes grupos por glicosilação diminuem a atividade antioxidante (Rice-Evans et al., 1997).

A atividade anticâncer dos flavonoides é pelo efeito de indução de apoptose e, para isto, entre os mais ativos estão a quercetina, bicalcina, genisteína, tangeritina e soforanona (Chen et al., 2004).

Sabe-se que a flavanona naringenina e sua forma glicosilada naringina, quando associada a corantes alimentícios como a antocianina ou carmin, produzem acentuada redução da hiperlipidemia induzida (Lopes et al., 2000a).

A pinocembrina e a galangina são responsáveis pela atividade antibacteriana da própolis, sendo que a pinocembrina também possui atividade fungicida e funciona como anestésica local (Bankova et al., 1983).

A quercetina, canferide e pectolinarigenina têm atividade espasmolítica; acacetina atividade anti-inflamatória, a luteolina e apigenina têm atividade antiúlcera (Bankova et al., 1983) e a quercetina, procianidina e pelargonidina têm atividade virucida (Amoros et al., 1992).

A catequina possui várias atividades biológicas, entre elas, a diminuição do nível de triglicerídeos, inibição da síntese de prostaglandinas, atividade antiviral, anti-inflamatória, antioxidante e anticoagulante. A catequina, prunina e hesperitina 5-O-glucosídeo diminuem a concentração plasmática do colesterol, enquanto a quercetina tem atividade hipolipêmica e a rutina, a metilchalcona da hesperidina diminui o nível de ácidos graxos, ácidos graxos esterificados, colesterol total, β -lipoproteína e lípidos totais (Choi et al., 1991).

A atividade dos flavonóis diminui com o aumento do número de substituintes hidroxilas, sendo a galangina mais eficaz que o canferol, que, por sua vez, é mais eficaz que a quercetina. Além disso, os autores comprovaram o efeito sinérgico entre vários flavonoides, confirmando a possibilidade de interações sinérgicas entre dois ou mais compostos em misturas complexas como no caso da própolis (Amoros et al., 1992).

A atividade anti-inflamatória da própolis se deve, aparentemente, à presença de flavonoides, em especial a galangina, que inibe a atividade da ciclooxigenase (COX) e da lipooxigenase, diminui a liberação de prostaglandina e expressão e liberação da isoforma indutível da COX (Borrelli et al., 2002).

1.3.1 Atividade antimicrobiana

A própolis é um produto natural (Stradiotti Júnior et al., 2004a) com ação antimicrobiana (Park et al., 2000). Segundo Challem (1995), a própolis pode ser considerada uma substância com caráter ionóforo.

A atividade antimicrobiana é atribuída, principalmente, à flavonona pinocembrina, ao flavonol galagina e ao éster feniletílico do ácido cafeico, com um mecanismo de ação baseado, provavelmente, na inibição do RNA-polimerase bacteriano (Uzel et al., 2005).

Também foi descrito que o ácido benzoico (ácido cafeico) e ácido cinâmico agem na membrana ou parede celular do micro-organismo, causando danos funcionais e estruturais (Scazzocchio et al., 2005).

Segundo Mirzoeva et al. (1997), a própolis tem ação bacteriostática sobre bactérias gram-positivas e algumas gram-negativas, aparentemente pela modificação do status bioenergético da membrana bacteriana e pela inibição de sua motilidade.

Vargas et al. (2004), ao avaliarem a ação antimicrobiana da solução alcoólica de própolis a 50%, observaram que as bactérias gram-positivas são mais sensíveis que as gram-negativas. Hino & Russel (1987) relataram que a própolis poderia ser utilizada como aditivo nutricional, por possuir efeito tóxico sobre as populações de bactérias gram-positivas.

Nogueira et al. (2007) avaliaram o perfil de susceptibilidade dos extratos etanólicos de própolis oriundas dos Estados do Paraná, Minas Gerais e São Paulo frente às bactérias *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*. Os autores não observaram nenhuma atividade das própolis sobre o micro-organismo *L. casei*; no entanto, sobre o *S. mutans* foi observada ação somente das própolis oriundas dos Estados de São Paulo e Minas Gerais.

Em experimento “in vitro” com extrato de própolis a 50%, as bactérias gram-positivas foram mais sensíveis (92,6%) ao extrato testado, do que as gram-negativas (42,5%). Dentre as bactérias avaliadas, *Nocardia asteroides* foi a bactéria gram-positiva mais sensível (100%) e *Pseudomonas aeruginosa* a gram-negativa que apresenta maior sensibilidade (72,41%) ao extrato de própolis (Vargas et al., 2004).

A própolis também tem sido bastante utilizada em Odontologia, estando presente em enxaguatórios bucais e cremes dentais para prevenir cáries e tratar gengivites e estomatites (Pietta et al., 2002). Problemas tratados com própolis incluem halitose, eczema, infecções na garganta, úlceras e infecções urinárias (Pereira et al., 2002).

Simões et al. (2008) compararam a eficiência de enxaguatórios bucais industriais e a base de própolis frente aos micro-organismos que ocorrem na saliva humana. Concluíram que os extratos de própolis a 11%, 20% e 30% apresentam a mesma eficácia antimicrobiana comparativamente à ação dos produtos industrializados Parodontax®, Periogard®, Listerine® e Malvatricin®, sendo que o extrato de própolis a 11% parece ser o mais indicado, pela sua eficácia antimicrobiana conjugada com a mais baixa concentração.

Ikeno et al. (1991) demonstraram que o uso oral da própolis para tratar cáries induzidas com *Streptococcus sobrinus* 6715 em ratos, apresentou efeitos benéficos como a diminuição significativa das cáries com a diminuição da atividade de síntese de

glucanos insolúveis em água e inibição da glucosiltransferase, não sendo observados efeitos tóxicos.

Koo et al. (1999), para avaliar a eficiência do uso de extrato etanólico de própolis (EEP) no tratamento de cáries, administraram por via oral por três semanas, 80% de etanol ou EEP (20%) de Minas Gerais ou EEP (20%) do Rio Grande do Sul em ratos infectados com *Streptococcus sobrinus*. Os autores observaram diminuição da severidade da cárie para ambos os tratamentos com EEP, no entanto, o EEP do Rio Grande do Sul apresentou melhores resultados, diminuindo a área de superfície lisa atingida e também apresentando menor escore de cárie no sulco dental.

A própolis oriunda do Rio Grande do Sul apresentou maiores concentrações de pinocembrina, crisina, acacetina e galangina. Logo demonstraram que os efeitos da própolis dependem da sua composição, e conseqüentemente, da região de coleta das amostras de própolis. Na área Veterinária, a própolis já foi testada em casos de pododermite necrótica em ovinos (Tonhasca, 1988); na coccidiose em coelhos (Hollands et al., 1984, 1988, 1991; Moura et al., 1998); na pneumonia em bezerros (Rodriguez, 1989); em enterites catarral, fibrinosa e hemorrágica, em bezerros (Fumero, 1989; Garcia & Hernandez, 1989); nos vírus da enfermidade Aujeszky e na cepa La Sota dos vírus da enfermidade New Castle, em animais de laboratório e embriões de frango (Machado, 1989); entre outros, sendo em todos esses trabalhos confirmada a sua ação terapêutica.

Broudiscou et al. (2000), conduzindo um experimento com cultivo ruminal “in vitro”, observaram efeito da própolis no aumento da produção de propionato em 10,3% e redução das populações de protozoários ciliados.

A atividade antiprotozoária da própolis foi descrita também por Rísoli et al. (2009), em experimento com bovinos e bubalinos, recebendo produtos à base de própolis na dieta (produto patenteado LLOSC1 e LLOSA2). Os autores observaram que o extrato de própolis LLOSC1 reduziu os protozoários ciliados, do gênero *Entodinium* spp., do rúmen em bubalinos da raça Murrah.

Diante destas respostas, possivelmente, a própolis possa ser usada para melhorar o desempenho animal, na manipulação dos micro-organismos, já que demonstra o poder inibidor do crescimento de algumas bactérias gram-positivas, as quais são responsáveis pelos processos de fermentação ruminal considerados ineficientes ou mesmo prejudiciais.

1.3.2 Atividade imunomodulatória

Estudos têm demonstrado a atividade da própolis sobre o sistema imunológico, aumentando a atividade lítica dos macrófagos contra células tumorais, estimulando a produção de anticorpos e atividade das células natural killer (Sforcin, 1996; Sforcin et al., 2000).

Em experimento com 1.400 rã-touro girinos, alimentados com ração comercial suplementada com diferentes concentrações de própolis (0,0; 0,2; 0,5; 1 e 1,5%), Arauco et al. (2007a,b) avaliaram o efeito do extrato hidroalcoólico de própolis na composição leucocitária do sangue. Observaram que a metamorfose dos girinos foi mais acelerada quando os mesmos receberam própolis, sendo os monócitos o grupo leucocitário influenciado pela própolis que, nas doses de 0,2 e 0,5%, apresentaram as maiores porcentagens, diferindo do grupo-controle e da dose de 1,5%. Os linfócitos, basófilos, neutrófilos e eosinófilos não apresentaram diferença entre os tratamentos.

Em experimento com dez cavalos da raça Árabe, recebendo, por via oral, durante 42 dias, um produto contendo própolis (Dynamic Trio 50/50) foi constatado que, após o exercício, os cavalos que ingeriram o produto à base de própolis apresentaram menor excreção de fósforo e menor concentração de lactato. No entanto, não foram observadas alterações no número de linfócitos, hematócrito e hemoglobina (Turner et al., 2006).

A própolis contém polifenóis, os quais podem apresentar ação antioxidante por neutralizarem radicais livres, mas também pela proteção dos antioxidantes endógenos, por aumentar sua expressão, como foi observado num estudo conduzido por Ross e Kasum (2002), em que houve aumento na concentração de enzimas GPx e SOD em eritrócitos humanos após o consumo de apigenina.

1.3.3 Efeito antiobesidade

Os flavonoides, catequina, quercetina e outros parecem ser capazes de promover a diminuição do peso corporal, gordura corporal e auxiliar na prevenção e tratamento da obesidade e de doenças associadas como diabetes, cardiovasculares e dislipidemias (Lin & Lin-Shiau, 2006). Na própolis são encontrados comumente os flavonoides: campferol, quercetina, isoramnetina e a galangina (Marcucci et al., 1998).

O mecanismo pelo qual o flavonoide pode diminuir o percentual de gordura corporal ainda não está elucidado, porém existem várias hipóteses.

Choo (2003) estudou o efeito do extrato aquoso de chá verde (ECV), rico em catequina, na concentração de 20 g/kg, sobre o conteúdo de gordura e de proteína corporal, ingestão alimentar, digestibilidade e energia despendida em ratos que foram alimentados com uma dieta hiperlipídica (30% de gordura). O autor concluiu que o efeito inibidor promovido pelo ECV no ganho de gordura corporal em ratos com dieta contendo alto teor de gordura foi resultante, em parte, da redução na digestibilidade, do incremento da termogênese e do conteúdo proteico no tecido adiposo marrom pela ativação do β -adrenoreceptor.

Koya-Miyata et al. (2009), em estudo com camundongos machos, observaram a redução das concentrações séricas de colesterol e triacilglicerol (TAG) no grupo que recebeu extrato de própolis em nível de 5 mg/kg. Foram analisados os níveis do RNAm dos fatores da transcrição associados com o metabolismo lipídico. Os níveis da expressão da proteína ligadora dos elementos regulados por esteróis 1 (SREBP-1), um fator chave na regulação de transcrição da síntese de ácidos graxos, foi reduzido pela administração de extrato de própolis nas dosagens de 5 mg/kg e 50 mg/kg. A dosagem mais elevada de própolis diminuiu os níveis de RNAm da proteína ligadora dos elementos regulados por esteróis 2 (SREBP-2), a qual controla a biossíntese do colesterol.

Os níveis de expressão da acetil-Coenzima A carboxilase alfa (ACC) e sintetase de ácido graxo nos camundongos que receberam extrato de própolis foram menores que o grupo-controle. Entretanto, o nível de expressão da enzima 3-hidróxi-3-metilglutaril-CoenzimaA (CoA) redutase, enzima que determina a velocidade da síntese do colesterol, foi aumentada pela administração de extrato de própolis. Entretanto, níveis de RNAm da enzima 3-hidróxi-3-metilglutaril-CoA sintetase 1 e da esqualeno epoxidase foram reduzidos, dependendo da dose do extrato de própolis. A própolis preveniu o aparecimento da obesidade em camundongos. Esses resultados, segundo Koya-Miyata et al. (2009), sugerem que um dos mecanismos responsáveis para o efeito inibitório do extrato de própolis sobre o depósito de tecido adiposo nas vísceras e de hiperlipidemia, é a diminuição da síntese de ácidos graxos.

Muitos flavonoides são considerados como agentes antiaterogênicos por serem importantes substâncias antioxidantes (Hertog et al., 1997). A quercetina, um dos muitos flavonoides encontrados na própolis, tem se mostrado como potente inibidor oxidativo dos ácidos graxos polinsaturados dos fosfolipídios, que entram na constituição das lipoproteínas de baixa densidade (Rimm et al., 1996; Matsuno, 1997).

Gomes (1998), utilizando ratos hiperlipidêmicos e não-diabéticos, mostrou que compostos flavonoides podem aumentar a atividade da lipase lipoproteica, “in vitro” e “in vivo”. Fernandes et al. (2002), em experimento semelhante, usando coelhos induzidos a hipercolesterolemia com dieta suplementada com colesterol, observaram que o EEP, na concentração de 30%, administrado, diariamente, por via oral, em 100 mg/kg PV, reduziu o nível plasmático de colesterol total.

Em trabalho utilizando coelhos com diabetes induzida por aloxano, foram avaliados os efeitos de antocianina incorporada em cápsulas na dose de 20 mg, e de própolis incorporado em cápsulas, na dose de 150 mg. Os animais tratados com antocianina mostraram reduções no nível de TAG de 564,83 mg/dL para 87,84 mg/dL, e os coelhos diabéticos, tratados com própolis, tiveram a concentração de TAG de 721,08 mg/dL diminuída para 88,00 mg/dL. Considerando que a própolis tem em sua constituição flavonoides e ácidos fenólicos, a ação benéfica pode estar associada ao sinergismo dessas substâncias (Oliveira et al., 2002). Conquer et al. (1998) relataram que dietas contendo flavonoides correlacionaram-se inversamente à incidência de acidentes cardiovasculares, por diminuir o nível de colesterol. Chopra et al. (1995) também observaram ação protetora em miocardiopatias induzidas em ratos que receberam própolis.

Sforcin (1996) não observou diferenças quanto ao conteúdo de proteína total no soro de camundongos, após tratamento com própolis.

1.3.4 Efeito hepatoprotetor

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa (1994), considera-se efeito hepatoprotetor quando o produto atende um ou mais dos seguintes atributos:

- a) constituir-se em antídoto para intoxicações hepáticas específicas ou ser capaz de modular o sistema imunológico para responder a estas agressões;
- b) evitar a perda da viabilidade hepatocelular que se segue a muitas agressões, sobretudo na síndrome isquemia-reperfusão;
- c) aumentar as reservas de glutathione e de outros antioxidantes celulares, capazes de remover metabólicos tóxicos;
- d) modular os mecanismos de transporte hepatocelular, principalmente dos receptores dispostos na membrana plasmática, prevenindo a permeação ou entrada de toxinas;

e) reforçar a barreira de revestimento exercida pelas células sinusoidais hepáticas e,
f) proteger a composição da membrana hepatocelular por meio da estimulação da biossíntese de substâncias reparadoras, sobretudo prevenindo o influxo de íons cálcio (Ca^{++}).

Hollands (1991) verificou níveis de ureia sérico elevados em ratos que receberam álcool de 33,5 mg/dL, comparado aos animais que receberam EEP de 15,5 mg/dL e para o grupo-controle de 10,5 mg/dL. Considerando que a elevação nos níveis de ureia é observada em casos de alcoolismo e que a quantidade de álcool nos dois primeiros grupos foi semelhante, os autores atribuíram à própolis efeito hepatoprotetor.

Esse efeito hepatoprotetor foi confirmado por Banskota et al. (2000), que demonstraram a capacidade de capturar radicais livres, a atividade citotóxica e o efeito hepatoprotetor do extrato aquoso de própolis de nove regiões, sendo seis delas do Brasil, uma do Peru, uma da China e uma dos países baixos.

1.3.5 Efeitos adversos

Pode-se afirmar, por vários estudos, que extratos de própolis possuem baixa toxicidade inata. Estes resultados já eram esperados, já que os flavonoides, principais constituintes da própolis, possuem baixa toxicidade. Já foram relatadas a DL50 em ratos de 2050 a mais de 7.340 mg/kg e que gatos toleram a administração subcutânea de 100 mg/kg de extrato de própolis (Burdock, 1998).

Alguns autores relataram que os constituintes dos brotos de álamo são os possíveis responsáveis pelas alergias à própolis, principalmente derivados do ácido cafeico (Burdock, 1998).

A própolis pode induzir dermatites alérgicas e, segundo Hausen et al. (1987), a substância 1-1 dimetilalil ácido cafeico (LB- 1) é a responsável pela alergia à própolis. Essa substância LB-1 existe em diversas amostras de própolis e provocou sensibilização em porcos, ficando relatado que este composto é o primeiro sensibilizador da própolis.

Outros pesquisadores não observaram reação alérgica alguma à própolis nos animais testados, como Scheller et al. (1977), em coelhos Chinchila, e Hollands (1991), em camundongos. De acordo com os últimos autores, a própolis tem baixa ordem de toxicidade oral aguda em camundongos, sendo observadas LD50 entre 2000 a 7.340 mg/kg e de 8000 a 40.000 mg/kg, para a própolis e para os flavonoides, respectivamente.

Os autores também não observaram anormalidades histopatológicas nos diversos órgãos analisados, nem sintomas clínicos de intoxicação ou alterações no ganho de peso, sendo que, para os parâmetros bioquímicos glicose, ureia e colesterol, somente a glicose apresentou elevação significativa nos animais que receberam álcool e extrato etanólico de própolis.

Arauco et al. (2007b), com o objetivo de verificar a ocorrência de possíveis alterações no fígado, rim e intestino de girinos de rã-touro, alimentaram os girinos com dietas contendo diferentes concentrações de extrato hidroalcoólico de própolis (0,0; 0,2; 0,5; 1,0; e 1,5%). No final do experimento (60 dias), os girinos sacrificados não apresentaram alterações histológicas no intestino, rins e fígado.

Sforcin et al. (1995) também estudaram o perfil bioquímico dos ratos, por meio da determinação das concentrações séricas de proteínas totais, glicose, ureia, creatinina, TAG, colesterol, HDL-colesterol e atividade específica de transaminases (AST e ALT) e da desidrogenase láctica. Verificaram a ausência de alterações nas variáveis bioquímicas séricas estudadas, indicando que a própolis não apresentou efeitos colaterais.

Segundo Paulino (1999), algumas substâncias presentes na própolis podem combinar com proteínas do organismo e tornarem-se imunogênicas, produzindo o quadro de hipersensibilidade.

1.3.6 Atividade zootécnica

Considerando-se a resposta dos animais às atividades biológicas da própolis, em termos de índices zootécnicos, poucos trabalhos têm sido realizados. Sanchez & Galardi (1989) testaram a aplicação oral da emulsão aquosa de própolis (10%) em 60 leitões desmamados, F1 Yorkshire-Duroc e observaram que os animais tratados tiveram maior ganho de peso, sugerindo uma ação estimulante da própolis sobre o apetite dos animais.

Buhatel et al. (1983) afirmaram que a utilização de emulsão alcoólica de própolis em rações de leitões e frangos de corte melhorou o ganho de peso diário em 41 e 18%, respectivamente, quando comparado aos animais que não receberam própolis. Esses autores concluíram ainda que a própolis preveniu desordens digestivas e proporcionou melhor conversão alimentar. A melhora observada no desempenho dos animais pode ser consequência de uma melhora na resposta imunológica após o consumo de própolis.

Resultado semelhante foi obtido por Dierckx & Funari (1999), os quais afirmaram que o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar dos coelhos que receberam as rações com própolis não diferiram daqueles alimentados com dieta sem nenhum tipo de tratamento, nem daquela com promotor de crescimento e coccidiostático.

Em outro experimento com coelhos também, a adição de EEP (0,8 e 1,5 mL/animal) resultou em ganho de peso, parâmetros de carcaça e pH cecal semelhantes aos que receberam as dietas com o álcool etílico (70%) sem nenhum aditivo (Coloni et al., 2007).

Scapinello et al. (1998), utilizando uma solução hidroalcoólica de própolis (SHP) na água de bebida (0,0; 4,0; 8,0; 12,0; e 16,0 mL de SHP/litro de água), observaram que a conversão alimentar dos coelhos de 40 a 90 dias de idade foi prejudicado. Pontara et al. (2006), por sua vez, utilizaram um aditivo que continha própolis e observaram que não houve interferência nas características de carcaça dos coelhos.

No entanto, segundo Garcia et al. (2004), a adição de própolis em pequenas quantidades (0,1% extrato de própolis) à ração demonstrou-se efetiva sobre o desempenho de coelhos, tendo melhorado o ganho de peso e a conversão alimentar. Contudo, em níveis mais elevados (0,3% de extrato seco de própolis), a adição apresentou influência negativa sobre o desempenho, embora não tenha provocado alterações bioquímicas séricas importantes, que pudessem indicar reações adversas à sua administração.

Lana et al. (2005), trabalhando com cabras leiteiras, verificaram interação entre óleo de soja e EEP, de modo que o óleo de soja reduziu os consumos de matéria seca, matéria orgânica e fibra detergente neutra (em kg/animal/dia) somente na presença de própolis. Resultado semelhante foi verificado por Loureiro et al. (2007), os quais verificaram redução no consumo de matéria seca (CMS) em cordeiros alimentados com rações que continham 15 mg e 30 mg de EEP/kg de peso corporal em comparação aos animais do tratamento-controle. Para os animais que receberam 15 e 30 mg de própolis e o grupo-controle os valores verificados para CMS foram de 0,28; 0,23 e 0,36 kg/dia, respectivamente.

No entanto, Prado (2008), trabalhando com adição de 2 g de produtos comerciais contendo própolis, não verificaram efeito da adição destes produtos sobre o consumo médio de matéria seca de novilhos holandeses, que foi de 2,5% do peso corporal. Do mesmo modo que Lana et al. (2007), trabalhando com cabras leiteiras, não verificaram

efeito da adição de própolis bruto na ração sobre o CMS. Da mesma forma, Ítavo et al. (2009), usando a dose de 15 mL por animal de extrato hidroalcolico 70% de própolis verde ou de própolis marrom, não observaram diferenças sobre as características de carcaça, os componentes corporais (peso, área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea, comprimento de perna) e o rendimento de cortes de ovinos terminados em confinamento.

Em experimento “in vitro”, com líquido ruminal e fontes de nitrogênio (tripticase, farelo de soja e farinha de peixe), Oliveira et al. (2004) adicionaram própolis ou monensina para mensurar a produção de amônia. A monensina e própolis reduziram a produção de amônia nos tratamentos contendo tripticase e farelo de soja, mas não reduziram a amônia quando a fonte de proteína era farinha de peixe. Logo, foram eficientes em reduzir a produção de amônia de fontes de proteína de maior degradabilidade.

Esta ação da própolis sobre a redução da desaminação foi novamente verificada em trabalho de Oliveira et al. (2006), os quais comprovaram efeitos da monensina e da própolis, sobre a atividade de fermentação de aminoácidos “in vitro” pelos microorganismos ruminais, com maior efeito antideaminação para a própolis. De forma semelhante, Stradiotti Junior et al. (2004a), trabalhando com EEP 30%, verificaram sua eficácia sobre a redução na deaminação ruminal de aminoácidos em bovinos. Entretanto, não foram verificadas alterações da própolis sobre o CMS, pH ruminal e a proteína microbiana, porém o EEP elevou a concentração de ácidos graxos totais.

Utilizando vacas da raça Holandesa alimentadas, por um período de 120 dias com dietas com adição de EEP (64 mL), com concentração de 30%, perfazendo um consumo diário de 19,2 g de própolis/animal, quando comparado ao grupo-controle, Freitas et al. (2009) observaram que o teor de proteína do leite aumentou pela adição de EEP na dieta. Por outro lado, os teores de gordura, lactose, contagem de células somáticas e sólidos totais não foram afetados pela adição de EEP na ração.

O aumento do teor de proteína no leite, possivelmente, ocorreu pelos acréscimos de aminoácidos na glândula mamária, promovida pela menor taxa de fermentação da proteína dietética e pela redução na produção de gases, possibilitando maior escape de proteína para o intestino delgado, onde será digerida e seus constituintes absorvidos pelo epitélio intestinal. Os resultados obtidos neste estudo corroboram com os obtidos por Stradiotti Júnior (2004a), que verificaram com a mesma concentração de EEP utilizada, menor taxa de produção de amônia “in vitro”, indicando diminuição na taxa

de degradação de aminoácidos e na taxa de produção de gases, em comparação à dieta-controle.

1.4 PATENTES

Desde a primeira patente (romena) em 1965, até 1999 foram depositadas cerca de 239 patentes. Até o final da década de 80, as patentes eram dominadas pela antiga União das Repúblicas Socialistas Soviéticas e seus países satélites, principalmente a Romênia. Atualmente, 43% de todas as patentes depositadas são japonesas, sendo que a primeira patente japonesa surgiu somente em 1987 (sobre o uso da própolis no controle de odores).

No Brasil, a primeira patente surgiu somente em 1995 para o uso em tratamento odontológico, na prevenção de cáries e gengivites. Patentes que se referem ao uso da própolis em tratamentos odontológicos é a aplicação da própolis mais estudada em todo mundo, tendo relatos científicos desde 1952 (Pereira et al., 2002).

O extrato de própolis usado nesse experimento recebeu uma patente de invenção, PI 05063930 e foi formulado no Laboratório de Farmacotécnica da Universidade Estadual de Maringá – UEM, o qual realiza experimentos com o uso de extrato de própolis na nutrição animal e saúde humana.

A lista de preparações e usos da própolis é quase interminável. Estas aplicações incluem produtos dermatológicos de venda livre que são tidos como úteis na cicatrização de feridas, regeneração de tecidos, tratamento de queimaduras, neurodermites, psoríase, úlceras nas pernas, herpes simples e genital e atividade contra dermatófitos, “bio-cosméticos” em cremes e loções para a face, sabonetes, utilizada em dentifrícios, fio dental, preparações bucais para o tratamento de gengivites, estomatites, quelites e na pós-extração dentária (Burdock, 1998). Além disso, a própolis também é encontrada em chocolates (Ackermann, 1991).

A atividade biológica da própolis está sendo comprovada cientificamente, no entanto, sua utilização na área veterinária e zootécnica tem sido limitada pela grande variabilidade nas amostras, pelas fontes vegetais, às diferentes técnicas de extração, aos diferentes solventes e às diferentes concentrações utilizadas, bem como às diferentes técnicas para determinar sua composição química, tanto em termos da qualificação, quanto da quantificação de seus componentes. Além destes aspectos, não há muitos trabalhos que têm considerado a resposta dos animais frente às atividades biológicas da própolis, em termos de índices zootécnicos, imunológicos e em efeitos adversos no organismo.

Literatura Citada

- ACKERMANN, T. Fast chromatography study of propolis crudes. **Food Chemistry**, v.42, n.2, p.135-138, 1991.
- ANVISA-Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 90, de 25 de agosto de 1994. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/9094.htm>>. Acesso em: 16/9/10.
- AMOROS, M.; SIMÕES, C.M.O.; GIRRE, L. et al. Synergistic effect of flavones and flavonols against Herpes simplex virus type 1 in cell culture: comparison with the antiviral activity of propolis. **Journal of Natural Products**, v.55, p.1732-1740, 1992.
- ARAUCO, L.R.R.; STÉFANI, M.V.; NAKAGHI, L.S.O. Efeito do extrato hidroalcoólico de própolis no desempenho e na composição leucocitária do sangue de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.29, n.1, p.227-234, 2007.
- ARAUCO, L.R.R.; STEFANI, M.V.; NAKAGHI, L.S.O. et al. Histologia do rim, fígado e intestino de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*) alimentados com dietas contendo própolis. **Ciência Rural**, v.37, n.1, p.1436-1441, 2007.
- BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; KUJUMGIEV, A. et al. Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. **Zeitschrift Fur Naturforschung**, v.1995, p.167-172, 1995.
- BANKOVA, V.; OYULGEROY. A.; POPOV, S. et al. Própolis in Bulgaria and Mongolia: phenolic compounds and plant origin; **Apidologie**, v.23, n.1, p.79-85, 1992.
- BANKOVA, V.S.; CASTRO, S.L.; MARCUCCI, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v.31, p.3-15, 2000.
- BANKOVA, V.S.; POPOV, S.S.; MAREKOV, N.L. A study on flavonoids of propolis. **Journal of Natural Products**, v.46, p.471-474, 1983.
- BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; ADNYANA, I.K. et al. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. **Journal of Ethnopharmacology**, v.72, n.1, p.239-246, 2000.
- BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; PRASAIN, J.K. et al. Chemical constituents of Brazilian propolis and their citotoxic activities. **Journal of Natural Products**, v.29, p.896-900, 1998.
- BARTH, O.M. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Science Agriculture**, v.61, n.3, p.342-350, 2004.

- BORRELLI, F.; MAFFIA, P.; PINTO, L. et al. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. **Fitoterapia**, v.73, p.S53-S63, 2002.
- BROUDISCOU, L.P.; PAPON, Y.; BROUDISCOU, A.F. Effects of dry plant extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes. **Animal Feed Science and Technology**, v.87, n.2, p.263-277, 2000.
- BUHATEL, T.; VESA, S.; DIMITRIN, A. et al. Contributii la cunoasterea actiunii biostimulatoare a propolisului asupra tincretului porcin si aviar. **Buletinul Institutului Agronomic**, v.37, n.1, p.45-48, 1983.
- BURDOCK, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical Toxicology**, v.36, n.1, p.347-363, 1998.
- CAPASSO F.; CASTALDO S. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia** v.73, n.1, p.S1-6, 2002.
- CHALLEM, J. Value of bee propolis, honey and royal jelly. **Medical Journals Document**, [1995]. Disponível em: <www.thenutritionreporter.com/bee_stuff.html>. Acessado em: 24/8/2009.
- CHEN, C.N.; WU, C.L.; LIN, J.K. Propolin C from propolis induces apoptosis through activating caspases, Bid and cytochrome c release in human melanoma cells. **Biochemical Pharmacology**, v.67, p.53-66, 2004.
- CHOI, J.S.; YOKOZAWA, T.; OURA, H. Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus davidiana*. **Journal of Natural Products**, v.54, n.1, p.218-224, 1991.
- CHOO, J.J. Green tea reduces body fat accretion caused by high-fat diet in rats through β -adrenoceptor activation of thermogenesis in brown adipose tissue. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.14, n.11, p.671-676, 2003.
- CHOPRA, S.; PILLAI, K.K.; HUSAIN, S.Z. et al. Propolis protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy they in rats. **Experimental and Molecular Pathology**, v.63, n.3, p.190-198, 1995.
- CICALA, C.; MORELLO, S.; IORIO, C. et al. Vascular effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on isolated rat thoracic aorta. **Life Science**, v.9357, p.1-8, 2003.
- COLONI, R.D.; LUI, J.F.; SANTOS, E. et al. Extrato etanólico de própolis sobre o ganho de peso, parâmetros de carcaça e pH cecal de coelhos em crescimento. **Biotemas**, v.20, n.2, p.59-64, 2007.
- CONQUER, J.A.; MAIANI, G.; AZZINI, E. et al. Supplementation with quercetin markedly increases plasma quercetin concentration without effect on selected risk factors for heart disease in healthy subjects. **Journal of Nutrition**, v.128, n.1, p.593-597, 1998.
- DA SILVA, J.F.M.; SOUZA, M.C.; MATTA, S.R. et al. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. **Food Chemistry**, v.99, n.3, p.431-435, 2006.
- DIERCKX, S.M.A.G.; FUNARI, S.R.C. Uso da própolis na alimentação de leitões desmamados como aditivo e na prevenção à diarreia. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, v.7, n.2, p.109-116, 1999.
- FERNANDES, A.A.H.; ALVES, M.J.F.; BOTEON, E.M. et al. Avaliação do colesterol plasmático em coelhos com hipercolesterolemia induzida e tratados com extrato etanólico de própolis. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.4, n.2, p.1-5, 2002.
- FRANCO, S.L.; BRUSCHI, M.L.; MOURA, L.P.P. et al. Avaliação farmacognóstica da própolis da região de Maringá. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.9, n.10, p.1-10, 2000.

- FREITAS, J.A.; ANTONANGELO, R.P.; RIBEIRO, J.L. et al. Extrato etanoico de própolis na alimentação de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.2, p.333-343, 2009.
- FUMERO, A. P. Diarrea infecciosa del ternero: resultados preliminares de los tratamientos con NB-1 (una modificación de CNB-R5). In: INVESTIGACIONES CUBANAS SOBRE EL PROPOLEO: MEMORIAS DEL SIMPOSIO SOBRE LOS EFECTOS DEL PROPOLEO EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL, 1989, Varadero. **Anais...** Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinaria de Cuba, 1989. p.150-151.
- FUNARI, S.R.C.; ROCHA, H.C.; FERNANDES, A. et al. Número de bactérias em função do método de secagem do pólen. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998. p.525-27.
- GABRYS, J.; KONECKI, J.; KROL, W. Free aminoacids in bee hive product (propolis) as identified and quantified by gas-liquid chromatography. **Pharmacological Research Communications**, v.18, n.6, p.516-518, 1988.
- GARCIA, M.; HERNANDEZ, R. Aplicación de propolina en las enteritis en terneros. In: INVESTIGACIONES CUBANAS SOBRE EL PROPOLEO: MEMORIAS DEL SIMPOSIO SOBRE LOS EFECTOS DEL PROPOLEO EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL, 1989, Varadero. **Anais...** Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinaria, Cuba, 1989. p.108-112.
- GARCIA, R.C.; SÁ, M.E.P.; LANGONI, H. et al. Efeito do extrato alcoólico de própolis sobre o perfil bioquímico e o desempenho de coelhas jovens. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.26, n.1, p.57-67, 2004.
- GHISALBERTI, E.L. Própolis: a review. **Bee World**, v.60, n.1, p.59-84, 1979.
- GOMES, S.M. **Efeitos de flavonoides no metabolismo lipídico**. 1998. 129f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)-Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/ Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1998.
- GREENAWAY, W.; SCAYSBROOK, T.; WHATLEY, F.R. The composition and plant origins of propolis: a report of work at Oxford. **Bee World**, v.71, n.3, p.107-118, 1990.
- HARDIE, D.G. Minireview: the AMP-activated protein kinase cascade: the key sensor of cellular energy status. **Endocrinology**, v.144, p.5179-5183, 2003.
- HAUSEN, B.M.; WOLLENWEBER, E.; SENFF, H. et al. Propolis allergy (II): the sensitizing properties of 1,1-dimethylallyl caffeic acid ester. **Contact Dermatitis**, v.17, n.1, p.171-177, 1987.
- HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemical Pharmacology**, v.32, p.1141-1148, 1983.
- HERTOG, M.G.; SWEETNAM, P.M.; FEHILY, A.M. et al. Antioxidant flavonols and ischemic heart disease in a Welsh population of men: the Caerphilly Sud. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.65, n.1, p.1489-1494, 1997.
- HINO, T.; RUSSEL, J.B. Relative contribution of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein *in vitro*. **Journal of Animal Science**, v.64, n.1, p.261-270, 1987.
- HOLLANDS, I. Comparative analysis of action of propolis, sulphaquinoxalina and sulphamethazina in rabbits with coccidiosis. **Revista Cubana de Ciencias Veterinarias**, v.19, n.1, p.99-104, 1988.
- HOLLANDS, I. Demonstración ultraestructural del efecto citohepatoprotector del propoleos. **Revista Cubana de Ciencias Veterinarias**, v.2, n.1, p.85-90, 1991.

- HOLLANDS, I.; MIYARES, C.; SIGARROA, A. et al. Efficacy of propolis against infection by intestinal *Eimeria* in rabbits. **Revista Cubana de Ciencias Veterinarias**, v.5, n.1, p.157-163, 1984.
- IKENO, K.; IKENO, T.; MIYAZAWA, C. Effects of propolis on dental caries in rats. **Caries Research**, v.25, n.5, p.347-351, 1991.
- ÍTAVO, C.C.B.F.; MORAIS, M.G.; COSTA, C. et al. Características de carcaça, componentes corporais e rendimento de cortes de cordeiros confinados recebendo dieta com própolis ou monensina sódica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.5, p.898-905, 2009.
- KOES, R.E.; QUATTROCCHIO, F.; MOL, J.N.M. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. **Bioessays**, v.16, n.12, p.123-132, 1994.
- KOO, H.; ROSALEN, P.L.; CURY, J.A. et al. Effect of *Apis mellifera* propolis from two Brazilian regions on caries development in desalivated rats. **Caries Research**, v.33, n.5, p.393-400, 1999.
- KOO, M.H.; PARK, Y.K. Investigação do teor de flavonoides nas própolis comerciais. **Revista Brasileira de Apicultura**, v.6, n.13, p.516-517, 1996.
- KOYA-MIYATA, S.; ARAI, N.; MIZOTE, A. et al. Propolis prevents diet-induced hyperlipidemia and mitigates weight gain in diet-induced obesity in mice. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.32, n.12, p.2022-2028, 2009.
- LANA, R.P.; CAMARDELLI, M.M.; RODRIGUES, M.T. et al. Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras: consumo de matéria seca e de nutrientes e parâmetros de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.191-197, 2007.
- LANA, R.P.; CAMARDELLI, M.M.L.; QUEIROZ, A.C. Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.650-658, 2005.
- LIMA, M.G. **A produção de própolis no Brasil**. São João da Boa Vista: São Sebastião Editora e Gráfica, 2006.
- LIN, J.K.; LIN-SHIAU, S.Y. Mechanisms of hypolipidemic and anti-obesity effects of tea and tea polyphenols. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.50, n.2, p.211-217, 2006.
- LOPES, R.M.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J. et al. Efeitos do quitosã e naringenina sobre lipídeos no soro de coelhos com hiperlipidemia induzida por Triton. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.32, n.2, p. 69-71, 2000a.
- LOPES, R.M.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J. et al. Flavonoides. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.17, p.18-22, 2000b.
- LOUREIRO, C.M.B.; SILVA SOBRINHO, A.G.; SANTANA, A.E. et al. Eficácia do extrato de própolis no controle de helmintoses de cordeiros naturalmente infectados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2007]. CD-ROM.
- MACHADO, J.M. Acción del propoleo contra algunos virus de los animales. In: INVESTIGACIONES CUBANAS SOBRE EL PROPOLEO: MEMORIAS DEL SIMPOSIO SOBRE LOS EFECTOS DEL PROPOLEO EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL, 1989, Varadero. **Anais...** Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinária de Cuba, 1989. p.147-148.
- MARCUCCI, M.C. Composição química e atividade biológica. **Revista da Universidade de Franca**, v.7, n.1, p.17, 1999.
- MARCUCCI, M.C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v.26, n.1, p.83-99, 1995.

- MARCUCCI, M.C.; FERRERES, F.; GARCÍA-VIGUERA, C. et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal Ethnopharmacology**, v.74, n.1, p.105-112, 2001.
- MARCUCCI, M.C.; WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonoides em amostras de própolis. **Mensagem Doce**, v.46, p.3-8, 1998.
- MARKHAM, K.R.; MITCHELL, K.A.; WILKI, S.A.L. et al. HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents New Zealand propolis. **Phytochemistry**, v.42, n.1, p.205-211, 1996.
- MATSUNO, T. Composição da própolis In: _____. **O efeito terapêutico da própolis**. 1.ed. São Paulo: Abaeté Copiadora e gráfica, 1997. p.19-21.
- MCGARRY, J.D.; MANNAERTS, G.P.; FOSTER, D.W. A possible role for malonyl-CoA in the regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis. **The Journal of Clinical Investigation**, v.60, p.265-270, 1977.
- MIRZOEVA, O.K.; GRISHANIN, R.N.; CALDER, P.C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potencial and motility of bacteria. **Microbiology Research**, v.152, n.3, p.239-246, 1997.
- MOURA, L.P.P.; SCAPINELLO, C.; MARTINS, E.N. et al. Efeito da solução hidroalcoólica de própolis e robenidina sobre a contagem de oocistos por grama de fezes de *Eimeria* spp. em coelhos Nova Zelândia Branco. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.2, p.325-30, 1998.
- NOGUEIRA, M.A.; DIAZ, M.G.; TAGAMI, P.M. et al. Atividade microbiana de óleos essenciais e extratos de própolis sobre bactérias cariogênicas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.28, n.1, p.93-97, 2007.
- NOTHENBERG, M. Própolis enfrenta bem o desafio das pesquisas. **Química e Derivados**, v.348, p.24-28, 1997.
- OLIVEIRA, J.S.; LANA, R.P.; BORGES, A.C. et al. Efeito da Monensina e Extrato de Própolis sobre a Produção de Amônia e Degradabilidade *In vitro* da Proteína Bruta de Diferentes Fontes de Nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.2, p.504-510, 2004.
- OLIVEIRA, J.S.; LANA, R.P.L.; BORGES, A.C. et al. Efeito da monensina e extrato de própolis sobre a atividade de fermentação de aminoácidos *in vitro* pelos microrganismos ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.275-281, 2006.
- OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; PINTO, A.S. et al. Efeito de antocianina e própolis em diabetes induzida em coelhos. **Medicina**, v. 35, n.4, p.464-469, 2002.
- PARK, Y.K.; ALENCAR, S.M.; SCAMPARINE, A.R.P. et al. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural**, v.2, n.1, p.997-1003, 2002.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. de. Classificação da própolis brasileira a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. **Mensagem Doce**, v.58, n.1, p.2-7, 2000.
- PAULINO, N. Reação de hipersensibilidade à própolis. **Revista da Universidade de Franca**, v.7, n.1, p.16-18, 1999.
- PEREIRA, A.S.; SEIXAS, F.R.M.S.; AQUINO NETO, F.R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v.25, n.2, p.321-326, 2002.
- PETERSON, J.; DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, v.18, n.12, p.1995-2018, 1998.
- PIETTA, P.G.; GARDANA, C.; PIETTA, A.M. Analytical methods for quality control of propolis. **Fitoterapia**, v.73, n.1, p.S7-S20. 2002.

- PONTARA, L.P.M.; SCAPINELLO, C.; SILVA, A.A. et al. Utilization of the product SL491* containing propolis as a base, on the performance and characteristics of rabbit carcass. In: CONGRESSO DE CUNICULTURA DAS AMÉRICAS, 3., 2006, Maringá. **Anais...** Maringá: Associação Científica Brasileira de Cunicultura, 2006. p.1-3.
- PRADO, O.P.P. **Própolis e monensina sódica em dietas volumosas sobre a digestibilidade e características ruminais de bovídeos**. Maringá, 2008. 92f. Tese (Doutorado em Produção Animal)-Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v.2, n.4, p.152-159, 1997.
- RIMM, E.B.; KATAN, M.B.; ASCHERIO, A. et al. Relation between intake of potentially anticarcinogenic flavonoid and risk for coronary heart disease in male health professionals. **Annals of Internal Medicine**, v.125, n.1, p.384-389, 1996.
- RÍSPOLI, T.B.; RODRIGUES, I.L.; NETO, R.G.M. et al. Protozoários ciliados do rúmen de bovinos e bubalinos alimentados com dietas suplementadas com monensina ou própolis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.1, p.92-97, 2009.
- RODRIGUEZ, R. Neumonía del ternero: efecto clínico de los antibióticos NB-2, variante del CNB-A17, y la oxímicina comercial. In: INVESTIGACIONES CUBANAS SOBRE EL PROPOLEO: MEMORIAS DEL SIMPOSIO SOBRE LOS EFECTOS DEL PROPOLEO EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL, 1989, Varadero. **Anais...** Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinária de Cuba, 1989. p.149-150.
- ROSS, J.A.; KASSUM, C.M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review of Nutrition**, v.22, p.19-34, 2002.
- RUSSO, A.; LONGO, R.; VANELLA, A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. **Fitoterapia**, v.73, p.S21-S29, 2002.
- SALATINO, A. A própolis. **Fitoterapia**, v.4, n.1, p.12, 2009.
- SALATINO, A.; TEIXEIRA, E.W.; NEGRI, G. et al. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. **Evid Based Complement and Alternative Medicine**, v.2, n.1, p.33-38, 2005.
- SANCHEZ, M.; GALARDI, R. Influencia del propoleo en la conversión de lechones destetados. In: INVESTIGACIONES CUBANAS SOBRE EL PROPOLEO: MEMORIAS DEL SIMPOSIO SOBRE LOS EFECTOS DEL PROPOLEO EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL, 1989, Varadero. **Anais...** Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinária de Cuba, 1989. p.211-214.
- SCAPINELLO, C.; MOURA, L.P.P.; MARTINS, E.N. et al. Efeito da solução hidroalcoólica de própolis e robenidina no desempenho de coelhos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.1, p.150-156, 1998.
- SCAZZOCCHIO, F.; D'AURIA, F.D.; ALESSANDRINI, D. et al. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. **Microbiology Research**, v.4, n.1, p.327-333, 2005.
- SHELLER, S.; SZAFLARSKI, J.; TUSTANOWSKI, J. et al. Biological properties and clinical application of propolis. VII. Investigation of immunogenic properties of ethanol extract of propolis. **Arzneimittel-Forschung Drug Research**, v. 27, n.1, p.12, 1977.
- SFORCIN, J. M.; FUNARI, S.R.C.; NOVELLI, E.L. Serum biochemical determinations of propolis-treated rats. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v.4, n.1, p.31-7, 1995.

- SFORCIN, J.M. **Efeito da sazonalidade sobre as propriedades imunomoduladoras e antibacteriana da própolis e perfil bioquímico dos ratos.** 1996. 56f. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/ Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1996.
- SFORCIN, J.M.; FERNANDES, J.R.A.; LOPES, C.A.M. et al. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. **Journal Ethnopharmacology**, v.73, n.1, p.243-249, 2000.
- SIMÕES, C.C.; ARAÚJO, D.B.; ARAÚJO, R.P.C. Estudo *in vitro* e ex vivo da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.18, n.1, p.84-89, 2008.
- SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição Campinas**, v.15, n.1, p.71-81, 2002.
- SOLER, C.; GIL, M.I.; GARCIA-VIGUERA, C. et al. Flavonoid patterns of French honeys with different floral origin. **Apidologie**, v.26, n.1, p.53-60, 1995.
- SOUSA, J.P.B.; FURTADO, N.A.J.C.; JORGE, R. et al. Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p.85-93, 2007.
- STRADIOTTI JÚNIOR, D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.1086-1092, 2004a.
- STRADIOTTI, JÚNIOR, D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação do extrato de própolis sobre a fermentação *in vitro* de diferentes alimentos pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1093-1099, 2004b.
- SU, Z.Z.; LIN, J.; GRUNBERGER, D. et al. Growth suppression and toxicity induced by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in type-5 adenovirus-transformed rat embryo cells correlate directly with transformation progression. **Cancer Research**, v.54, n.7, p.1865-1870, 1994.
- SZEWEZARK, E.; GOODY, G.F. Um estudo científico sobre a própolis. **Apicultura no Brasil**, v.3, n.1, p.28-29, 1984.
- TONHASCA, J. G. **Utilização da própolis (pasta e solução) no tratamento curativo da pododermite necrótica em ovinos.** 1988. Trabalho de Conclusão (Graduação em Zootecnia)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1988.
- TRUSHEVA, B.; MARCUCCI, M.C.; POPOLVA, M. et al. Bioactive constituents of Brazilian red propolis. **Evidence Based Complementary And Alternative Medicine**, v.3, n.2, p.249-254, 2006.
- TURNER, K.K.; NIELSEN, B.D.; O'CONNOR, C.I. et al. Bee pollen product supplementation to horses in training seems to improve feed intake: a pilot study. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.90, n.9, p.414-420, 2006.
- UZEL, A.; SORKUN, K.; ÖNÇAG, Ö. et al. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiology Research**, v.160, n.1, p.189-195, 2005.
- VARGAS, A.C. de; LOGUERCIO, A.P.; WITT, N.M. et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p.159-163, 2004.
- VOLPI, N.; BERGONZINI, G. Analysis of flavonoids from propolis by on-line HPLC-electrospray mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.42, n.1, p.354-361, 2006.

II - OBJETIVOS GERAIS

A alimentação dos animais de companhia tem alguns objetivos próprios, que a diferenciam da alimentação de animais de produção, nos quais se visa otimizar a produção. Os cães são, em muitas ocasiões, considerados membros da família e tratados como tal. Isso implica que sua alimentação, além de conter uma correta quantidade de nutrientes, equilibrada e disponível, deve permitir otimizar sua saúde, atividade e longevidade.

Os objetivos gerais no presente trabalho foram avaliar a inclusão do extrato de própolis na dieta de cães, sobre:

a) a digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo ácido, extrativo não-nitrogenado, além da energia metabolizável com a inclusão de diferentes extratos e concentrações de própolis na dieta de cães;

b) o consumo de alimento, condição corporal: peso vivo, escore corporal e mensuração de tecido adiposo subcutâneo na região lombar; e condição biológica: índice de proliferação de linfócitos, resposta vacinal contra o vírus da cinomose canina, hemograma, concentração sérica de fosfatase alcalina, creatinina, colesterol total e triacilgliceróis;

c) a palatabilidade, primeira escolha do alimento completo destinado a cães e características das fezes: consistência fecal e microbiologia.

III - Digestibilidade de dietas contendo diferentes extratos e concentrações de própolis para cães

RESUMO - Foram conduzidos dois ensaios de digestibilidade aparente, com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão de diferentes extratos e concentrações de própolis sobre a digestibilidade da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo ácido (EEA), extrativo-não-nitrogenado (ENN), e energia metabolizável (EM), de dietas para cães Beagles adultos. Em ambos os ensaios, foram utilizados dez cães, alojados em gaiolas metabólicas em um delineamento quadrado latino 5x5 (cinco dietas *versus* cinco períodos) com duas repetições por período. Para o primeiro ensaio, foram avaliadas quatro dietas com acréscimo de 40 mL de diferentes extratos de própolis (SLNC106, SLNC206, SLNC109, SLNC209), proporcionando teores de flavonoides totais (TFT) em apigenina, respectivamente de 0,55; 0,79; 2,59 e 2,11 mg/kg da dieta, mais a dieta referência sem adição de extrato de própolis. Para o segundo ensaio, com base no resultado do primeiro, foi eleito o extrato SLNC206, misturado em níveis de 0, 20, 40, 60 e 80 mL, em 2 L de óleo de soja e adicionado a um volume de 75 kg de dieta, proporcionando TFT em apigenina, respectivamente de 0,0; 0,66; 0,99; 1,99 e 3,97 mg/kg da dieta. No primeiro ensaio, somente a inclusão do extrato de própolis SLNC209 diminuiu o valor do coeficiente de digestibilidade aparente da MS. Já no segundo ensaio, a inclusão crescente do extrato de própolis SLNC206 melhorou linearmente os coeficientes de digestibilidade aparentes da PB, EEA, ENN, MS e EM das dietas. Os resultados observados permitem concluir que os flavonoides totais adicionados à dieta com o extrato de própolis SLNC206 melhoram a utilização digestiva dos nutrientes e da EM de dietas para cães adultos.

Palavras-chave: energia metabolizável, matéria seca, nutrição de cão

Digestibility of dogs' diets containing different propolis concentrations and extracts

ABSTRACT - Two apparent digestibility trials were conducted objecting evaluate the inclusion effect of different concentrations and extracts of propolis on digestibility of dry mater (DM), crude protein (CP), acid ether extract (AEE), nitrogen free extractives (NFE) and metabolizable energy (ME) in diets for adult dogs Beagles. In both trials ten dogs were used, they were housed in metabolic cages in a Latin square design (5x5) (five diets *versus* five periods) with two replicates each period. At first test were used 40mL each of different propolis extracts (SLNC106, SLNC206, SLNC109, SLNC209) diluted in two liters of soybean oil and added to 75kg diet, providing total flavonoid content (TFC) in apigenin respectively of 0.55, 0.79, 2.59 and 2.11 mg/kg diet, plus reference diet without addition of propolis. At second test, based on the best results of the first test, elected SLNC206 extract the best. This extract was mixed at levels of 0, 20, 40, 60 and 80mL, in two liters of soybean oil added to 75 kg diet, providing TFC in apigenin, respectively of 0.0, 0.66, 0.99, 1.99 and 3.97 mg/kg diet. At first trial, only inclusion of SLNC209 propolis extract decreased apparent digestibility coefficient of DM. At second trial, increasing propolis extract SLNC206 inclusion improved linearly the apparent digestibility of CP, AEE, NFE, DM and ME of the diets. The results suggest that flavonoids added to the diet with propolis extract SLNC206 improve digestive utilization of nutrients and ME of diets for adult dogs.

Key Words: metabolizable energy, dry matter, dog nutrition

Introdução

Os cães são em muitas ocasiões, considerados membros da família e tratados como tal. Isso implica que sua alimentação, além de conter uma quantidade de nutrientes correta, equilibrada e disponível, deve otimizar sua saúde, atividade e longevidade (Miguel, 2000).

Muito se fala sobre os alimentos funcionais ou nutracêuticos, de forma a incentivar o uso de produtos e/ou alimentos que promovam melhoras para o metabolismo e a saúde do organismo (Mourão et al., 2005).

Grandes benefícios aos animais e humanos têm sido encontrados com a utilização de própolis. Ela tem sido muito utilizada na terapia humana, pelas suas potencialidades antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante e imunestimulante (Morales, 2000). Esses efeitos terapêuticos têm sido atribuídos aos dois grandes grupos de compostos fenólicos que compõem a própolis: os flavonoides, que são considerados como um dos principais compostos e os ácidos fenólicos (Morales, 2000).

Segundo Arauco et al. (2007), poucos trabalhos têm sido realizados, considerando-se a resposta dos animais em termos de índices zootécnicos frente a algumas dessas atividades biológicas da própolis.

Na maioria dos estudos, com caráter zootécnico, relacionado ao uso de própolis, foram avaliados apenas o consumo e as características de carcaça. Além do uso de própolis ser avaliado principalmente em ruminantes. Prado (2008), trabalhando com adição de 2 g de produtos comerciais contendo própolis, não verificaram efeito da adição destes produtos sobre o consumo médio de matéria seca (MS) de novilhos holandeses, que foi de 2,5% do peso corporal.

Normalmente, os rótulos dos alimentos completos para cães trazem valores da composição nutricional mínima para proteína bruta, extrato etéreo e fósforo e máxima para umidade, fibra bruta, cinzas ou matéria mineral e cálcio. Mas quando se avalia alimento para cães, os valores da composição nutricional são importantes, porém não menos importantes são os valores de palatabilidade e digestibilidade (Lôbo Jr et al., 2001).

Na literatura consultada, não há relato da aplicabilidade do extrato de própolis como aditivo nutricional para cães e de seus efeitos sobre a digestibilidade. Este experimento teve como objetivo avaliar o efeito da inclusão de diferentes extratos e concentrações de própolis sobre a digestibilidade da MS, proteína bruta (PB), extrato

etéreo ácido (EEA), extrativo-não-nitrogenado (ENN), além da energia metabolizável (EM), de dietas para cães Beagles adultos.

Material e Métodos

Foram realizados dois ensaios de digestibilidade aparente, o primeiro em julho de 2008 com o objetivo de avaliar a inclusão de diferentes extratos de própolis (SLNC106, SLNC206, SLNC109, SLNC209) e, o segundo, em dezembro de 2008 para avaliar diferentes níveis de inclusão do extrato de própolis, que proporcionou a melhor resposta na primeira fase (SLNC206).

Ambos os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Estudos de Nutrição Canina, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná - UFPR.

Foram obtidas própolis do apiário da Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá - UEM - Maringá, PR, acondicionadas em potes plásticos e armazenadas a temperatura de -22°C. Os extratos foram obtidos em concentrações crescentes de própolis entre 5 e 30% (p/p) e diluições de álcool variando entre 60 e 93,8% (p/p), pela turboextração, durante 15 min. Foram filtrados sob vácuo e submetidos à desalcoolização em evaporador rotatório (Buchi, modelo RT 210) até o limite de 15% de álcool. Em seguida, foram submetidos a um processo de secagem por nebulização em um nebulizador Labmaq com capacidade de 0,5 L/hora. Após secagem, foram acondicionados em frascos bem fechados e armazenados em temperatura de congelamento (-22°C) e denominados como SLNC106, SLNC206, SLNC109 e SLNC209. As preparações dos extratos, o teor de flavonoides totais (TFT) em apigenina por meio de cromatografia líquida de alta resolução e a incorporação no óleo foram realizadas no Laboratório de Desenvolvimento e Controle de Qualidade de Fitoterápicos e Apiterápicos do Departamento de Farmácia e Farmacologia da Universidade Estadual de Maringá – UEM, segundo protocolo adaptado de Franco & Bueno (1999).

Experimento 1 - digestibilidade de dietas suplementadas com diferentes extratos de própolis

Como base para todos os tratamentos foi usado um alimento completo comercial (Pop Dog, Kowalski – Quadro 1), de acordo com as exigências nutricionais para cães adultos (NRC, 2006).

Nutriente	Níveis de garantia	
	Umidade	(máximo)
Proteína Bruta	(mínimo)	28,0%
Extrato Etéreo	(mínimo)	8,0%
Matéria Fibrosa	(máximo)	5,0%
Matéria Mineral	(máximo)	9,0%
Cálcio	(máximo)	2,0%
Fósforo	(mínimo)	0,8%
Energia Metabolizável	(máximo)	2.990,0 kcal/kg

Quadro 1 – Níveis de garantia fornecidos na embalagem do alimento completo.

Neste ensaio foram avaliadas cinco dietas: dieta-controle que foi composta pelo acréscimo de 2 L de óleo de soja em 75 kg de alimento completo comercial, e quatro dietas-teste, que receberam 40 mL de diferentes extratos (SLNC106, SLNC206, SLNC109, SLNC209) diluídos primeiramente em 2 L de óleo de soja, e após adicionado a um volume de 75 kg de dieta comercial.

A mistura dos croquetes com o óleo foi feita num misturador do tipo duplo cone (35rpm) por um período de 10 min. A dieta-controle recebeu apenas inclusão de óleo de soja e foi misturada antes das dietas-teste.

Foram utilizados dez cães da raça Beagle, aos seis anos de idade; sendo seis fêmeas e quatro machos, com peso médio de 11 kg. Os animais foram cedidos por um canil particular, sendo oriundos de três ninhadas com datas de nascimento aproximadas. Os cães foram alojados em gaiolas metabólicas individuais, em um delineamento quadrado latino duplo 5x5 (cinco dietas *versus* cinco períodos), sendo a unidade experimental considerada a média dos dois animais que recebiam a mesma dieta em cada período.

A quantidade de alimento fornecida por animal foi calculada com base na necessidade energética diária de manutenção, calculada pela equação $132 \text{ kcal} \times \text{peso corporal (kg)}^{0,75}$ (NRC, 2006). A água foi fornecida “ad libitum” e a alimentação durante todo o período experimental foi fornecida duas vezes ao dia.

Cada período do ensaio de digestibilidade teve duração de 10 dias, sendo cinco dias de adaptação e cinco dias de coleta.

A fase de adaptação teve duração de cinco dias com a finalidade dos animais se adaptarem às gaiolas metabólicas e às dietas. Na fase de coleta, as amostras de fezes foram coletadas logo que produzidas, sendo identificadas e armazenadas em freezer. Os potes com as amostras foram identificados com etiquetas contendo o nome do cão e o tratamento ao qual pertencia.

Ao final da fase de coleta, as amostras foram descongeladas e homogeneizadas em recipientes de alumínio previamente identificado. As amostras foram levadas para a estufa a 65°C durante 48h. Após esse período, as amostras foram moídas e armazenadas em frascos esterilizados já identificados.

As dietas e as fezes coletadas foram analisadas para umidade, PB, EEA, fibra bruta, resíduo mineral e energia bruta, segundo protocolo adaptado de Silva & Queiroz (2002). Todas as análises foram feitas em duplicata, sendo refeito nos casos de diferenças acima de 5% entre os resultados das análises no laboratório de Nutrição Animal, do Departamento de Zootecnia da UFPR em Curitiba.

Os valores de coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) e energia metabolizável foram submetidos, inicialmente, ao teste de Bartlett para verificar homogeneidade das variâncias dos tratamentos, para posterior análise de variância e, as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Como ferramenta de auxílio às análises estatísticas, utilizou-se o programa estatístico MSTAT-C (Michigan State University, 1989).

Experimento 2 - digestibilidade de dietas suplementadas com níveis crescentes do extrato SLNC206

Com base no resultado do experimento 1, foi utilizado apenas um extrato, misturado em níveis de 0, 20, 40, 60 e 80mL, em dois litros de óleo de soja e adicionado a um volume de 75kg de dieta.

Da mesma forma que para o primeiro ensaio de digestibilidade, como base para todos os tratamentos, foi utilizado um alimento completo comercial (Pop Dog, Kowalski), de acordo com as exigências nutricionais para cães adultos (NRC, 2006).

Todos os procedimentos para mistura do extrato em óleo e, em seguida, sua incorporação nas dietas experimentais foram os mesmos do experimento anterior, bem como, a análise para cálculo do teor de flavonoides totais em apigenina (mg/kg) da dieta por meio de cromatografia líquida de alta resolução.

Também para este experimento foram utilizados dez cães da raça Beagle, aos seis anos de idade; sendo seis fêmeas e quatro machos. Os animais foram cedidos por um canil particular, sendo oriundos de três ninhadas com datas de nascimento aproximadas. Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas individuais, em um delineamento

quadrado latino duplo 5x5 (cinco dietas *versus* cinco períodos), sendo a unidade experimental considerada a média dos dois animais que recebiam a mesma dieta.

Todos os procedimentos para alimentação dos animais, coleta de fezes amostragens e análises laboratoriais foram os mesmo descritos no experimento anterior.

Os valores de CDA da MS, PB, EEA, ENN, além da EM foram submetidos, inicialmente, ao teste de Bartlett para verificar homogeneidade das variâncias dos tratamentos, para posterior análise de variância, onde os graus de liberdade dos tratamentos foram desdobrados em polinômios. Também foi utilizado o Teste de Dunnett para comparar as médias obtidas com a dieta-testemunha com cada uma das demais com a inclusão de diferentes níveis de própolis. Os dados foram submetidos à análise estatística por meio do programa estatístico SAEG (UFV, 2000).

Resultados e Discussão

Experimento 1

Os teores de flavonoides totais em apigenina (TFT) dos extratos de própolis foram dosados por meio de cromatografia líquida de alta resolução, e calculados para as dietas utilizadas no primeiro ensaio de digestibilidade e a ingestão média diária pelos cães está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Teor de flavonoides totais em apigenina (mg/kg) calculado para dieta e dose diária ingerida pelos cães (mg/kg peso vivo)

Identificação do produto	Teor de flavonoides (mg/kg)	CV%	Dose diária (mg/kg)
Dieta com SLNC106	0,55	1,23	0,017
Dieta com SLNC206	0,79	2,85	0,024
Dieta com SLNC109	2,59	0,30	0,078
Dieta com SLNC209	2,11	1,39	0,063

CV – coeficiente de variação.

As fezes produzidas pelos cães durante toda fase experimental foram de boa qualidade, não sendo verificados episódios de diarreia ou constipação. No primeiro ensaio de digestibilidade aparente, testando quatro diferentes produtos à base de própolis, os valores de CDA de PB, EEA, ENN e EM não foram afetados ($P>0,05$) pela inclusão de extrato de própolis na dieta. Entretanto, foi observado menor valor de CDA de MS da dieta com o produto SLNC209 ($P<0,01$) quando comparado aos outros quatro

tratamentos (Tabela 2). No entanto, esta diferença não foi suficiente para prejudicar a utilização digestiva dos demais nutrientes avaliados e da energia que se apresentaram semelhantes entre os tratamentos avaliados.

Tabela 2 – Valores dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo ácido (EEA), extrativo não nitrogenado (ENN) e energia metabolizável (EM) das dietas, controle e com diferentes extratos de própolis

CDA	Dietas					CV (%)
	Controle	SLNC106	SLNC206	SLNC109	SLNC209	
MS	87,70 ^a	88,08 ^a	88,51 ^a	88,08 ^a	85,15 ^b	2,00
PB	77,81	79,04	78,81	78,77	77,60	5,29
EEA	89,28	87,28	87,44	89,31	87,47	2,23
ENN	75,21	76,71	76,78	76,63	73,15	5,15
EM (kcal/kg)	2792,49	2716,22	2768,88	2799,80	2780,11	4,66

^{a,b} – Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

CV – Coeficiente de Variação.

Em relação aos extratos SLNC106 e SLNC109, apesar de não terem apresentado efeito sobre a utilização dos nutrientes da dieta, possuíam, na sua composição, propilenoglicol que resultava em resíduos de óleo aderido na embalagem pela maior viscosidade, sendo necessária, no experimento, a “limpeza” da parte interna da embalagem com o alimento para conseguir remoção total do produto.

Por outro lado, os produtos sem propilenoglicol (SLNC206 e SLNC209) exigiram agitação maior para sua homogeneização, mas permitiram maior facilidade na sua utilização sem apresentar aderências de produtos na embalagem.

Experimento 2

Com base nos resultados de digestibilidade da dieta e facilidade de manuseio do produto, o extrato SLNC206 foi escolhido para ser testado no segundo ensaio de digestibilidade, com inclusões em diferentes concentrações.

Os TFT calculados para as dietas, de acordo com as diferentes diluições do extrato SLNC206 em óleo de soja estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 – Teores de flavonoides totais em apigenina (mg/kg dieta) de acordo com as diferentes diluições do extrato SLNC206 em óleo de soja

Parâmetro	Volumes do extrato SLNC206 diluído em óleo de soja			
	20 mL	40 mL	60 mL	80 mL
Teor de flavonoides	0,66	0,99	1,99	3,97

Os valores de CDA da PB, EEA, ENN, MS e os valores de EM de dietas com diferentes níveis de flavonoides totais são apresentados na Tabela 4. Aplicando o teste de Dunett, apenas o valor de CDA da MS da dieta contendo 0,66 mg/kg TFT foi menor ($P < 0,05$) em relação aos obtidos com a dieta-testemunha, sem adição do extrato de própolis SLNC206. Excluindo os valores obtidos com a dieta-testemunha, que recebeu apenas inclusão de óleo de soja e não álcool presente no extrato etanólico de própolis, foram observadas melhoras lineares ($P < 0,05$) sobre os valores de CDA da PB, EEA, MS e EM das dietas à medida que aumentaram os teores de flavonoides totais, adicionados com o extrato de própolis SLNC206.

Essa melhora para o valor de CDA para EEA e PB também foi observada por Tatli & İsmail (2008), que testando o efeito do EEP (5 mg/Kg) na dieta de frangos expostos ao estresse térmico, verificaram melhora para ganho de peso, conversão alimentar e digestibilidade de extrato etéreo e PB dessas aves. Os autores concluíram que o suplemento de EEP é uma alternativa ao uso de antibióticos para contribuir no desempenho e digestibilidade das aves em condições de estresse térmico.

Tabela 4 – Valores dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo ácido (EEA), extrativo não-nitrogenado (ENN) e da energia metabolizável (EM) das dietas, com diferentes níveis de teor de flavonoides totais

CDA	Testemunha	Teores de Flavonoides Totais (mg/kg)				Média	CV
		0,66	0,99	1,99	3,97		
PB ¹	77,7	76,5	77,9	77,6	79,8	77,9	3,48
EEA ²	89,3	88	88,9	89,4	89,9	89,1	1,90
ENN	74,9	74	74,1	74,3	72,8	71,1	6,28
MS ³	87,6	85,2*	85,9	86,6	86,7	86,4	1,94
EM ⁴	2790	2664	2693	2736	2740	2724	2,13

CV= Coeficiente de Variação.

* Difere da Testemunha pelo Teste de Dunett ($P < 0,05$).

1- Efeito linear ($y = 76,338 + 0,8472 X$) $R^2 = 0,85$.

2- Efeito linear ($y = 88,127 + 0,4850 X$) $R^2 = 0,80$.

3- Efeito linear ($y = 85,3766 + 0,3802 X$) $R^2 = 0,71$.

4- Efeito linear ($y = 2669,12 + 20,5698 X$) $R^2 = 0,71$.

Oliveira (2005) encontrou aumento do consumo de MS quando forneceu EEP (68 mL) para vacas leiteiras. Em oposição, Stelzer et al. (2009), avaliando a adição de EEP a 30% (34 mL) nas rações de vacas produzindo acima de 20 kg de leite/dia também não observaram alterações no consumo, na digestibilidade e no desempenho destes animais.

Lana et al. (2005), em estudo com cabras leiteiras, observaram aumento da digestibilidade de PB e extrato etéreo nos animais que receberam óleo de soja na dieta, contendo ou não própolis. Estes pesquisadores avaliaram quatro dietas: controle, dieta contendo somente óleo de soja (120g), dieta somente com EEP a 30% (10 mL) e dieta com óleo de soja e EEP. A própolis adicionada sozinha não alterou a digestibilidade da dieta, sendo, no entanto, observada a diminuição de consumo de MS na presença de própolis.

Avaliando compostos fenólicos, 20 g/kg de dieta, presentes no chá verde, Choo (2003) observou a redução na digestibilidade da dieta, quando foram avaliadas dietas normolipídica e hiperlipídica em ratos.

São necessárias mais pesquisas com o uso de diferentes extratos de própolis, bem como sua concentração e tempo de uso, na dieta dos animais, avaliando respostas em termos de índices zootécnicos, efeitos adversos e sobre a utilização digestiva de nutrientes.

Conclusão

Nestas condições experimentais, os diferentes extratos de própolis nas doses utilizadas no primeiro ensaio não tiveram efeito na utilização digestiva de nutrientes, à exceção do SLNC209 que piorou o valor do coeficiente de digestibilidade da matéria seca quando comparada à dieta-controle. Já, a inclusão de níveis crescente de flavonoídes totais adicionados à dieta com o extrato de própolis SLNC206 melhoraram a utilização digestiva da PB, EEA, MS e EM para cães adultos.

Literatura Citada

- ARAUCO, L.R.R.; STÉFANI, M.V.; NAKAGHI, L.S.O. Efeito do extrato hidroalcoólico de própolis no desempenho e na composição leucocitária do sangue de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.29, n.1, p.227-234, 2007.
- CHOO, J.J. Green tea reduces body fat accretion caused by high-fat diet in rats through β -adrenoceptor activation of thermogenesis in brown adipose tissue. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.14, n.11, p.671-676, 2003.
- FRANCO, S.L.; BUENO, J.H.F. Otimização de processo extrativo de própolis. **Infarma**, v.11, n.11/12, p. 48-51, 1999.
- LANA, R.P.; CAMARDELLI, M.M.L.; QUEIROZ, A.C. Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.650-658, 2005.
- LÔBO JR., M.F.; REZENDE, A.S.C.; SALIBA, E.O.S. et al. Coeficientes de digestibilidade aparente pelos métodos de indicadores e coleta total de fezes em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 6, p. 691-694, 2001.
- MICHIGAN STATE UNIVERSITY. Department of Agricultural Economics. Department of Crop and Soil Sciences. **MSTAT-C**: microcomputer statistical program: versão: 2.1. East Lansing, 1989.
- MIGUEL, I. B. Introducción a la alimentación canina y felina: visión del mercado. In: CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA, 16., 2000, Barcelona. **Proceedings...** Madrid: FEDNA Fundación Española para el desarrollo de la Nutrición Animal, 2000.
- MORALES, W.F. Evidencia científica del propoleos desde el punto de vista médico. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE PROPOLEOS, 2000, Buenos Aires. **Anais...** Buenos Aires: Proapi, 2000. p.21-31.
- MOURÃO, D.M.; MONTEIRO, J.B.R.; COSTA, N.M.B. et al. Conjugated linoleic acid and weight loss. **Revista de Nutrição**, v.18, n.3, p.391-399, 2005.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs and cats**. Washington, D.C.: The National Academy, 2006.
- OLIVEIRA, J.S. **Utilização da monensina e da própolis para manipulação e fermentação ruminal em bovinos**. 2005. 76f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.
- PRADO, O.P.P. **Própolis e monensina sódica em dietas volumosas sobre a digestibilidade e características ruminais de bovídeos**. Maringá, 2008. 92f. Tese (Doutorado em Produção Animal)- Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002.
- STELZER, F.S.; LANA, R.P.; CAMPOS, J.M.S. et al. Desempenho de vacas leiteiras recebendo concentrado em diferentes níveis, associado ou não a própolis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.7, p.1381-1389, 2009.
- TATLI, S.P.; İSMAIL, S. Effect of dietary turkish propolis as alternative to antibiotic on performance and digestibility in broilers exposed to heat stress. **Journal of Applied Animal Research**, v.34, n.2, p.193-196, 2008.
- UFV-Universidade Federal de Viçosa. **SAEG**: sistemas de análises estatísticas e genéticas: versão 8.0. Viçosa, 2000.

IV - Condição corporal e biológica de cães que receberam o extrato de própolis na dieta

RESUMO - O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito da suplementação de extrato de própolis (SLNC206/SL49^(PI)) sobre o consumo de alimento completo, condição corporal: peso vivo, escore corporal e mensuração de tecido adiposo subcutâneo na região lombar e condição biológica: índice de proliferação de linfócitos, resposta vacinal contra o vírus da cinomose canina, hemograma, concentração sérica de fosfatase alcalina, creatinina, colesterol total e triacilglicerol (TAG). Por cinco meses, foram usados 16 cães da raça Beagle, com 11 meses de idade, divididos, ao acaso, em dois grupos: controle e o grupo que receberam dieta contendo extrato de própolis (SLNC206/SL49^(PI)), que forneceu um teor de flavonoides de 0,11 mg/kg de peso vivo por dia. Os animais que receberam a dieta com extrato de própolis apresentaram maior redução no peso, na espessura de tecido adiposo subcutâneo e na concentração de colesterol total ao final do experimento. No entanto, para as características: consumo, escore corporal, avaliação clínica, titulação da resposta vacinal, índice de proliferação de linfócitos, concentração sérica de fosfatase alcalina e creatinina não foram observadas diferenças entre os grupos.

Palavras-chave: Beagle, tecido adiposo, obesidade

^(PI) Patente: PI 05063930

Body and biological condition of dogs fed with propolis extract in diet

ABSTRACT - The objective of this experiment was to evaluate the effect of propolis extract (SLNC206/SL49^(PI)) on feed intake, body condition: body weight (bw), body score and tissue subcutaneous fat in the lumbar region, biological condition: index proliferation of lymphocytes, vaccination response against canine distemper virus, hemogram, serum alkaline phosphatase, creatinine, total cholesterol and triacylglycerol (TAG). For five months, 16 Beagle dogs, 11 months-old each, were used; they were randomly divided in two groups: control group and dogs fed with propolis extract (SLNC206/SL49^(PI)), which provided a total flavonoid content of 0.11 mg/kg of bw per day. The group fed with propolis extract showed a higher reduction in weight, thickness of the subcutaneous fat and total cholesterol at the end of the experiment. However, the characteristics: intake, body score, clinical assessment, vaccine response, lymphocyte proliferation index, serum alkaline phosphatase and creatinine did not differ between both groups.

Key Words: Beagle, fat tissue, obesity

^(PI) Patent: PI 05063930

Introdução

A própolis é conhecida e utilizada pelo homem desde os tempos mais remotos. Os sacerdotes do antigo Egito a utilizavam frequentemente como substância medicinal e como parte integrante dos unguentos e cremes de embalsamar. Mais tarde, persas, romanos e incas também fizeram uso da própolis para tratar infecções (Pereira et al., 2002).

A presença de diversos compostos fenólicos na própolis, principalmente os flavonoides, explicam, em parte, a grande variedade das propriedades terapêuticas (Koo & Park, 1997; Banskota et al., 2000), como anti-inflamatória, antimicrobiana, anestésica, antitóxica, antioxidante, imunoestimulatória, antitumoral e cicatrizante (Metzner et al., 1979; Santos et al., 2002).

Atualmente, a alimentação para animais de companhia visa promover uma correta condição corporal, prevenir o aparecimento de determinadas patologias ou acelerar a recuperação dos animais enfermos (Miguel, 2000).

Os animais de estimação dos grandes centros urbanos vivem cada vez mais confinados em pequenos espaços (apartamentos) e com vida sedentária. A conjunção de três fatores; castração, disponibilidade alta de alimentos e manejo inadequado do proprietário aumenta o aparecimento da obesidade (Laflamme et al., 1998; Borges, 2004).

Na literatura consultada, não foi encontrada informação sobre o uso de extrato de própolis na dieta de cães, para avaliar possíveis efeitos na condição corporal e biológica destes.

Este experimento teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação do extrato de própolis (SLNC206/SL49^(PI)), em cães adultos da raça Beagle, sobre o consumo de alimento, condição corporal: peso vivo, escore corporal e mensuração de tecido adiposo subcutâneo na região lombar; e condição biológica: índice de proliferação de linfócitos, resposta vacinal contra o vírus da cinomose canina, hemograma, concentração sérica de fosfatase alcalina, creatinina, colesterol total e triacilgliceróis (TAG).

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Estudos de Nutrição Canina, do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal do Paraná - UFPR.

Foram utilizados 16 cães da raça Beagle, sendo oito fêmeas e oito machos, com 11 meses de idade e peso médio de 10 kg, durante um período de cinco meses, de abril a agosto de 2009. Antes de iniciar o experimento, foi atestada a higidez dos cães com a realização de exames físico, hematológico, bioquímico e coproparasitológico em cada cão; os quais foram treinados a ingerirem o alimento em locais pré-estabelecidos das baias.

Os cães foram alojados em baias, as quais apresentavam piso de cimento e mediam 1,5 m de largura por 2,0 m de comprimento, mas também ficavam soltos, em gramado, por uma média de 6h por dia numa área de cerca de 1.000 m². Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos e oito repetições, quatro fêmeas e quatro machos.

Foi utilizada uma dieta comercial (Nova D+, Kowalski – Quadro 1) de acordo com as exigências nutricionais para cães (NRC, 2006) com ou sem suplementação de extrato de própolis (SLNC206/SL49^(PI)). Para composição da dieta-controle foram adicionados 2 L de óleo de soja em um volume de 75 kg de alimento comercial. Enquanto, para a dieta-teste, foram adicionados, primeiramente, 80 mL de extrato de própolis diluídos em 2 L de óleo de soja e, posteriormente, adicionado a um volume de 75 kg de dieta comercial, proporcionando teor de flavonoides totais em apigenina calculado de 3,97 mg/kg da dieta.

Nutriente	Níveis de garantia	
	Umidade	(máximo)
Proteína Bruta	(mínimo)	18,0%
Extrato Etéreo	(mínimo)	4,5%
Matéria Fibrosa	(máximo)	6,0%
Matéria Mineral	(máximo)	12,0%
Cálcio	(máximo)	2,4%
Fósforo	(mínimo)	0,8%
Energia Metabolizável	(máxima)	2.675,0 kcal/kg

Quadro 1 – Níveis de garantia apresentados na embalagem do alimento completo.

A inclusão do óleo de soja na dieta-controle e óleo de soja mais extrato de própolis na dieta-teste foram realizadas na fábrica de ração da Fazenda Experimental

Canguiri da UFPR. A mistura dos croquetes com o óleo foi feita num misturador do tipo duplo cone (35rpm) durante um período de 10 min. A dieta-controle foi manipulada primeiramente para evitar resquícios de extrato de própolis no misturador.

A energia metabolizável prevista das dietas experimentais, considerando os níveis de garantia apresentados no Quadro 1 e com acréscimo de óleo de soja ou óleo mais extrato de própolis foi de 2.745 kcal/kg.

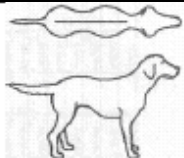
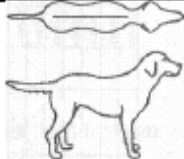
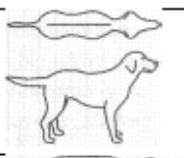


A água foi fornecida “ad libitum”, enquanto que o alimento durante todo o período experimental foi fornecido uma vez ao dia, às 9h da manhã. A quantidade fornecida por animal foi calculada pela necessidade energética diária de manutenção, ajustada de acordo com a fase de crescimento, temperatura do ambiente e energia metabolizável das dietas. A dieta contendo extrato de própolis proporcionou uma ingestão de flavonoides totais em apigenina de 0,11 mg/kg de peso vivo.

Os pratos utilizados foram identificados, individualmente, para facilitar a pesagem da comida oferecida e a sobra. Durante todo o período experimental, as quantidades fornecidas de alimento, bem como as sobras foram anotadas. Mesmo os cães tendo sido treinados para ingerirem o alimento em locais pré-estabelecidos e não trocarem de prato, para evitar erros, durante a ingestão do alimento sempre uma pessoa os acompanhavam na baia durante o tempo necessário para a ingestão total ou, quando isto não acontecia, pelo tempo máximo de 20 min, quando os pratos eram retirados da baia.

Condição corporal

Os cães foram pesados no início, meio e final do período experimental, sempre em jejum, para avaliação da manutenção de peso.

A condição corporal também foi avaliada pelo escore corporal, realizado no início e final do experimento pelo mesmo observador que não tinha informações a que grupo cada animal pertencia, para evitar erros de avaliações. A metodologia empregada foi de Sharon (1993), conforme demonstrado no Quadro 2.

1 muito magro		Costelas, vértebras lombares, ossos pélvicos e todas as saliências ósseas visíveis a distância, ausência de gordura palpável. Curvatura abdominal e cintura bem marcadas (animal caquético).
2 magro		Costelas facilmente palpáveis com mínima cobertura de gordura. Curvatura abdominal evidente.
3 normal / ideal		Costelas palpáveis com cobertura de gordura e base da cauda com um leve contorno (animal normal).
4 acima do peso		Costelas difíceis de palpar. Curvatura abdominal muito pouco marcada. Visto de cima, vê-se a cintura, ainda que esta não esteja marcada.
5 Obeso		Costelas muito difíceis de palpar, animal apresenta papo. (animal obeso). Depósitos de gordura visíveis na região lombar e na base da cauda. Curvatura abdominal ausente.

Quadro 2 – Sistema de avaliação da condição corporal de pequenos animais.
Fonte: Sharon (2003).

No início e final do experimento, pela manhã, antes de receberem a primeira refeição diária, foi avaliada a espessura do tecido adiposo subcutâneo (mm). O método de avaliação usado, neste experimento, foi descrito por Morooka et al. (2001), que fizeram a mensuração da profundidade e área da camada subcutânea de tecido adiposo em L6, L7 e S1, com ultrassom em plano transversal, sendo um indicador clínico de confiança para avaliar o depósito de gordura em cães da raça Beagle. Neste experimento, a espessura do tecido adiposo subcutâneo foi mensurado com ultrassom, usando transdutor linear de 7,5MHz em plano transversal na região da vértebra lombar (L7).

Condição biológica

Durante o experimento, para atestar a saúde dos cães, foi realizada, mensalmente, ausculta cardíaca e pulmonar, contagem de movimentos respiratórios e batimentos cardíacos por minuto, tempo de preenchimento capilar, aferição da temperatura

corporal, verificação da coloração das mucosas e tamanho dos linfonodos (axilar, cervical e poplíteal), por palpação.

Hemograma e perfil lipídico plasmático

Para avaliar os parâmetros hematológicos e bioquímicos foram realizadas três coletas de sangue durante o experimento, no início, meio e final do experimento. As coletas foram realizadas em jejum, pela venopunção da jugular externa com seringa de 5 mL ou 10 mL e agulha 25x8. Cerca de 3 mL de sangue foram destinados à obtenção de soro e 1,5 mL para obtenção de plasma com o uso de EDTA a 10%.

As análises hematológicas e bioquímicas foram realizadas no Laboratório Clínico do Hospital Veterinário do Cesumar, sendo realizadas num tempo máximo de 72h após a coleta. Foram avaliados números de hemácias e leucócitos, concentração de hemoglobina, hematócrito, contagem diferencial de leucócitos, concentração de proteína plasmática, colesterol total e TAG sérico.

Para determinação do hemograma foram utilizadas as técnicas de rotina descritas por Jain (1993). As contagens totais de eritrócitos, leucócitos e a determinação da concentração de hemoglobina foram realizados com auxílio do contador automático de células (Celm CC 540 veterinário). O hematócrito foi determinado pelo método do micro-hematócrito e as concentrações de proteínas plasmáticas pelo método do refratômetro.

Para a contagem diferencial de leucócitos foram confeccionadas lâminas nos momentos de coletas (sendo duas lâminas por indivíduo). Os esfregaços sanguíneos foram corados com corante de Wright¹ e, posteriormente, foi realizada uma leitura de 200 células.

O colesterol total e TAG foram analisados no aparelho BIOPLUS 2000. Foi usado o teste enzimático-colorimétrico com fator clareante de lípidos para determinação quantitativa do colesterol total² e TAG³ presente no soro.

¹ Laborclin®

² Colesterol Enzimático código 743051 – Laborclin/biodiagnóstica

³ Triglicérides GPO-Trinder Cód.: 743191 – Laborclin/biodiagnóstica

Índice de proliferação de linfócitos

A análise foi conduzida nas instalações do Laboratório de Fisiologia da Universidade Federal do Paraná – UFPR – Curitiba. Esta análise foi realizada somente no período final do experimento, ou seja, aos 15 meses de idade dos cães.

O sangue dos cães (10 mL) foi armazenado em tubo de ensaio previamente heparinizados. Após a coleta, o sangue foi submetido ao seguinte protocolo:

- a. centrifugação a 400 g por 10 min a 4°C;
- b. obtenção de alíquota do plasma;
- c. transferência do restante para um tubo falcon de 50 mL;
- d. adição do mesmo volume de PBS;
- e. preparo dos tubos de vidro (15 mL) com 3 mL de HISTOPAQUE®-1077;
- f. adição de 8 mL de sangue diluído com PBS em cima do HISTOPAQUE®-1077;
- g. fechamento com parafilm;
- h. centrifugação a 400 g durante 30 min a 12°C;
- i. desprezo da fase superior e transferência da camada intermediária para outro tubo – junção das duas camadas intermediárias em cada tubo (volume 2 mL) – Linfócitos e Monócitos;
- j. a camada constituída de hemácias e células polimorfonucleares é, então, transferida para um falcon de 50 mL.

Cultivo dos linfócitos

Uma vez isolados os linfócitos, 2×10^5 células por poço, foram cultivados em meio de cultura RPMI-1640 enriquecido com 10% de soro fetal bovino e antibióticos (penicilina 10.000U e estreptomicina 10 mg/L), em placas de 96 poços (volume final de 200µL), a 37°C em atmosfera de 95% ar / 05% CO², por 48h. Os linfócitos foram estimulados com 20µL/poço de solução hidroalcoólica dos mitógenos Concanavalina A (Con A), estimulador da proliferação de linfócitos T e 20µL de uma solução contendo (2-14C)-Timidina (0,02µCi/poço), sendo que as células foram cultivadas por um período adicional de 18h, nas mesmas condições descritas anteriormente.

Após este período, foram coletadas automaticamente em coletor múltiplo (Skatron Combi Multiple Cell Harvester, UK) em papéis filtro nº 11731 (Skatron Combi - UK). Neste processo não há necessidade de processos extrativos preparatórios para obtenção

de DNA celular. Os discos de papéis que contém a radioatividade incorporada no DNA foram transferidos para *vials* contendo 1 mL de líquido de cintilação e levados para mensuração em contador Beckman LS 6500. Os resultados foram expressos em índice de proliferação, calculado pela relação: valor da proliferação com estímulo/valor da proliferação sem estímulo.

Resposta vacinal

Para esta análise foram realizadas quatro coletas de sangue com intervalos de 28 dias. Após a primeira e segunda coleta foi feito um desafio ao sistema imunológico com a aplicação de vacina óctupla⁴ comercial para cães (contra cinomose, parvovirose, coronavirose, parainfluenza, adenovirose, hepatite infecciosa e leptospirose canina).

As amostras de soro das quatro coletas foram armazenadas em eppendorf de 1,5 mL e congeladas para posterior envio. A titulação de resposta vacinal para cinomose canina foi realizada no Laboratório de Virologia e Imunologia da Universidade Federal de Pelotas - UFPel - RS.

Anticorpos contra o vírus da cinomose canina foram avaliados mediante inibição da hemaglutinação (HI). Inicialmente, as amostras de soro foram diluídas a 1:5 com tampão salina borato (BBS; 1.5M NaCl, 0.5M H₃BO₃, 1.0M NaOH, pH 9.0). A seguir, foram tratadas para a remoção de inibidores inespecíficos de hemaglutinação e de aglutinação como descrito a seguir: ao mesmo volume de soro diluído foi adicionada uma suspensão de caulim a 25% em solução salina fosfatada (PBS; pH 7,2) e incubado durante 30 min à temperatura ambiente, homogeneizando periodicamente. Após centrifugação a 400 g, durante 10 min, o sobrenadante foi adsorvido em igual volume (50 mL) de hemácias de suínos diluídas a 50% em tampão VAD, pH 6.0 (0.15M NaCl, 0.3M Na₂HPO₄, 0.15M NaH₂PO₄), durante 1h, a 4°C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi coletado e estocado a -20°C até o momento da realização do teste. Amostras tratadas foram diluídas a partir de 1:20 até 20480 em microplacas com fundo em "V" usando tampão BABS (BBS com 0.2% de soro fetal bovino), incubadas com a amostra de vírus da cinomose canina (Cornell A7517 strain; quatro unidades hemaglutinantes/25 mL) e após 2h a 37°C, foram adicionados 50 mL de uma suspensão de hemácias de suíno a 0,5% (em VAD, pH 6,0).

⁴ Recombitek C6/CV - Merial®

A leitura foi feita após incubação noturna a 4°C. Os testes foram considerados válidos quando as hemácias dos poços controles haviam sedimentado totalmente e quando a titulação reversa confirmava as quatro unidades hemaglutinantes do vírus. Em todas as microplacas foram incluídas amostras negativas de soro e amostras com títulos de anticorpos conhecidos, como controles. Amostras de soro com título <20 foram consideradas negativas (Carmichael & Binn, 1981).

Os resultados foram submetidos à análise de variância. Inicialmente, as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto à sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. Quando os resultados revelaram existir diferença estatística significativa entre médias dos tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de F no nível de 5% de probabilidade. Como ferramenta de auxílio às análises estatísticas, utilizou-se o programa estatístico MSTAT-C (Michigan State University, 1989).

Resultados e Discussão

Condição corporal

Não foram observadas interações entre as dietas e idade dos animais sobre o consumo de alimentos e de energia, indicando que seus efeitos são independentes (Tabela 1). No entanto, foram observadas diferenças ($P < 0,01$) de acordo com a idade dos animais para ambas as características, corroborando com o descrito por Will & Morris (1996), que o cão da raça Beagle é considerado cão de porte médio e tende a crescer até cerca de 12 meses.

Tabela 1 – Consumo médio diário de alimento (g/dia) e energético (Kcal/dia) de cães Beagles, de acordo com a idade, com e sem a inclusão de extrato de própolis na dieta

Dietas	Idade dos cães (meses)			Média	Idade dos cães (meses)			Média
	11	13	15		11	13	15	
Controle	263,08	270,82	271,25	268,38	734,52	756,13	757,33	749,33
Própolis	263,98	268,83	268,75	267,19	725,42	738,74	738,53	734,23
Média	263,53 ^b	269,83 ^a	270,00 ^a	267,79	729,97 ^b	747,44 ^a	747,93 ^a	741,78
CV (%)	1,23				2,24			
probabilidades								
Dieta	0,7094				0,3652			
Idade	0,0001				0,0003			
D*I	0,2776				0,5545			

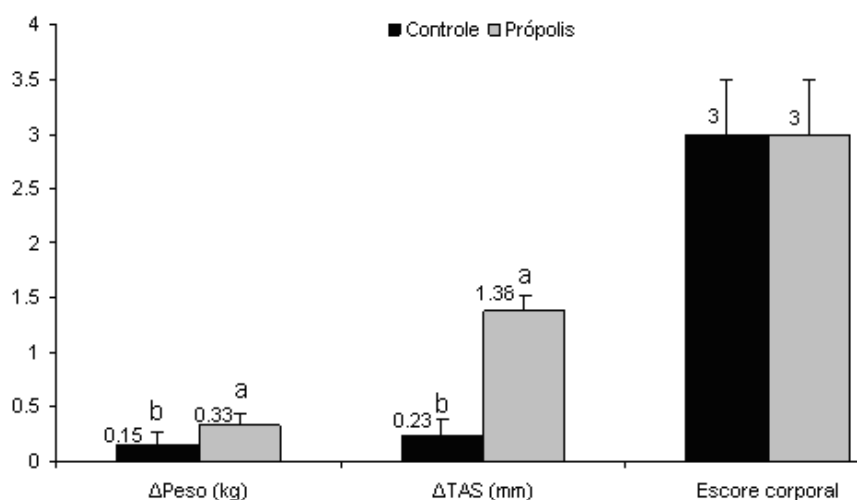
a,b - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Corroborando com o observado neste experimento, também não houve alteração de consumo dos animais em experimento realizado por Franco et al. (2007), os quais pesquisaram em frangos de corte, durante 42 dias, dietas contendo 0,0; 0,1, 0,2 ou 0,3% de extrato etanólico de própolis (EEP) a 15%, adicionado ao óleo de soja. E não observaram diferença no rendimento de carcaça e peso das aves entre os tratamentos.

Garcia (2001) testou ração peletizada com concentrações de 0,1; 0,2; e 0,3% de própolis em coelhos da raça Norfolk 2000 e observou maiores ganhos de peso nos animais que receberam ração com 0,1% de extrato seco de própolis e menores nos que receberam rações com 0,3% de extrato seco de própolis.

Diferentemente ao observado neste experimento, Arauco et al. (2007) descrevem que não observaram diferença no ganho de peso dos girinos os quais receberam própolis na ração, em níveis: 0,2; 0,5; 1,0 e 1,5%. O consumo de ração dos girinos durante o período experimental não teve diferença significativa entre os tratamentos. No entanto, os autores observaram que os girinos que receberam própolis apresentaram as maiores porcentagens de animais no estágio 42, indicando que o extrato hidroalcoólico de própolis pode ter favorecido a metamorfose nas condições experimentais.

Para o escore corporal dos cães, deste estudo, não foi observado diferença entre os animais alimentados com a dieta-controle e a suplementada com extrato de própolis (Figura 1), demonstrando uma mediana de valor que significa escore corporal normal / ideal.



^{a,b} = letras minúsculas diferentes na mesma variável diferem entre si pelo Teste F ($P < 0,01$).

Figura 1 – Diferença (Δ) (mensuração inicial menos final) do peso vivo animal e tecido adiposo subcutâneo da região lombar (TAS) e escore corporal dos cães que receberam dieta-controle ou com própolis por cinco meses.

Entretanto, houve diferença significativa, entre os grupos, para redução de peso dos cães durante o período experimental, e o tratamento que recebeu extrato de própolis na dieta apresentou maior redução de peso que o grupo-controle (Figura 1). Por sua vez, para mensuração de tecido adiposo subcutâneo da região lombar também foi observada diferença entre os grupos (Figura 1), no qual os cães que receberam extrato de própolis na dieta, ou 0,11 mg de flavonoides por kg de peso vivo por dia, apresentaram maior redução de tecido adiposo subcutâneo lombar que o tratamento-controle.

Os maiores depósitos de gordura acumulada localizam-se sob a pele, como gordura subcutânea, ao redor dos órgãos vitais e nas membranas que rodeiam os intestinos (Case et al., 1998). A condição corporal pode ser determinada por meio de diversas técnicas com diferentes graus de precisão e exatidão e a custos variados (Borges, 2005).

Os resultados deste estudo corroboram com o observado por Koya-Miyata et al. (2009), no qual a administração de extrato de própolis reduziu o ganho de peso de camundongos machos (50 mg/kg) e fêmeas (25 mg/kg); enquanto que a ingestão da dieta, hiperlipídica, não foi afetada pela administração de própolis. Segundo os autores, a própolis pode ser um inibidor de ganho de peso. Nesse estudo foram usados camundongos machos e fêmeas, com seis e sete semanas de idade, respectivamente, recebendo água e alimentação “ad libitum”. Os roedores foram divididos em três grupos de oito animais, grupo recebendo somente o veículo (etanol 2%) ou doses de própolis para machos de 5 mg/kg ou 50 mg/kg, e para fêmeas 2,5 mg/kg ou 25 mg/kg, via sonda estomacal duas vezes por dia (200µL) por quatro semanas. O peso do tecido adiposo retroperitoneal nos machos e peso do tecido adiposo perirenal nas fêmeas, que receberam extrato de própolis foi significativamente menor que o grupo-controle e somente os camundongos machos que receberam a maior dose de própolis apresentaram menor peso de tecido adiposo visceral.

Condição biológica

Os cães não apresentaram nenhuma alteração clínica durante a realização deste experimento (Tabela 2), assim como, não houve diferença entre os valores de hemograma, fosfatase alcalina e creatinina séricos entre os grupos (Tabela 3). Os valores observados se encontraram dentro da faixa de referência considerada normal para a espécie estudada.

Tabela 2 – Achados clínicos observados nos cães durante o período experimental

Parâmetros Clínicos	VR	Controle	Própolis
Ausculata cardíaca	Normal	Normal	Normal
Ausculata pulmonar	Limpa	Limpa	Limpa
Movimentos respiratórios por minuto	10-40	12	16
Batimentos cardíacos por minuto	60-160	84	88
Tempo de preenchimento capilar (segundos)	1-2	2	2
Coloração das mucosas	Rósea	Rósea brilhante	Rósea brilhante
Média Temperatura retal (°C)	37,5-39,2	38,7	39,0
Linfonodos	Normal	Normal	Normal

VR – valor de referência.

Tabela 3 – Valores de hemograma e análises bioquímicas sérica para fosfatase alcalina, creatinina, colesterol total e triacilgliceróis de cães alimentados com dietas suplementadas ou não com extrato de própolis SLNC206/SL49^(PD)

	Dietas		VR	CV (%)	p
	Controle	Própolis			
Hemácias (x10 ⁶ /μL)	5,65	5,97	5,5-8,5	9,73	0,97
Hemoglobina (g/dL)	15,33	15,60	12,0-18,0	10,18	0,64
Hematócrito (%)	42,92	45,21	37,0-55,0	7,52	0,15
Leucócitos totais (/μL)	9341,7	9320,8	6000-17000	17,46	0,23
Neutrófilos (/μL)	5643,5	6084,9	3000-11500	24,99	0,07
Eosinófilos (/μL)	182	270	100-1250	78,21	0,47
Linfócitos (/μL)	2786	2468	1000-4800	33,18	0,93
Monócitos (/μL)	721	516	150-1350	71,92	0,47
Proteína plasmática total (g/dL)	6,44	6,66	6,0-8,0	4,94	0,24
Fosfatase alcalina (UI/L)	58,7	50,7	20-156	56,34	0,58
Creatinina (mg/dL)	0,6	0,6	0,5-1,5	29,74	0,84

CV – coeficiente de variação.

VR – valor de referência.

Corroborando com o descrito por Turner et al. (2006), trabalhando com cavalos árabes recebendo, por 42 dias, via oral, um produto contendo própolis, observaram que os valores de hematócrito, hemoglobina, número de linfócitos e concentração sérica de lactato não foram alterados. Após o exercício, os autores constataram que os cavalos que ingeriram o produto à base de própolis apresentaram menor excreção de fósforo.

A modulação nutricional das respostas imunes específicas deve ser considerada na determinação das exigências nutricionais e na adequada manipulação dos nutrientes, assim como, no processamento dos alimentos e aditivos incluídos nas dietas (Fernandes et al., 2009). Segundo Perez (1989), a mudança na composição leucocitária observada

nos animais pode ser consequência de uma melhora na resposta imunológica após o consumo de própolis.

De acordo com o descrito por Arauco et al. (2007), os valores médios das porcentagens de linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos do sangue periférico de girinos de rã-touro não foram influenciados pelos diferentes níveis de própolis na ração (0,0; 0,2; 0,5; 1 e 1,5%). Os autores somente observaram diferença na porcentagem de monócitos, no qual os girinos que receberam o extrato hidroalcoólico de própolis a 1,5% e aqueles que não receberam, apresentaram a menor porcentagem desse grupo leucocitário no sangue.

Para a variável colesterol total plasmática foi observada maior redução para o grupo que recebeu extrato de própolis na dieta, enquanto que para redução de TAG sérico não foi observada diferença entre os tratamentos (Tabela 4). A redução na espessura de tecido adiposo subcutâneo da região lombar dos cães, deste experimento, pode ter ocorrido pela alteração no metabolismo lipídico, já que apresentaram maior redução na concentração de colesterol total sanguíneo.

Tabela 4 – Redução observada (concentração inicial menos concentração final) da concentração sérica de colesterol total e triacilglicerol dos cães que receberam dieta-controle ou dieta com inclusão de extrato de própolis

Dietas	Diferença entre valor inicial e final (redução)	
	Colesterol total (mg/dL)	Triacilglicerol (mg/dL)
Controle	15,94 ^b	37,98
Própolis	25,16 ^a	32,08
CV%	10,43	19,29
p	0,0001	0,1026

a,b, - Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de F ($P < 0,05$).

Esta redução da concentração de colesterol sérico também foi descrito por Koya-Miyata et al. (2009), em estudo com camundongos machos, observaram a redução das concentrações séricas de colesterol e TAG somente no grupo que recebeu 5 mg/kg de extrato de própolis. Foram analisados os níveis do RNAm dos fatores da transcrição associados com o metabolismo lipídico. Os níveis da expressão da proteína ligadora dos elementos regulados por esteróis 1 (SREBP-1), um fator chave na regulação de transcrição da síntese de ácidos graxos foi reduzido pela administração de extrato de própolis nas dosagens de 5 mg/kg e 50 mg/kg. A dosagem mais elevada de própolis diminuiu os níveis de RNAm da proteína ligadora dos elementos regulados por esteróis

2 (SREBP-2), a qual controla a biossíntese do colesterol. Os níveis de expressão da acetil-CoA carboxilase alfa e sintetase de ácido graxo em camundongos que receberam extrato de própolis foram menores que o grupo-controle. E os níveis de RNAm da enzima 3-hidróxi-3-metilglutaril-Coenzima A sintetase 1 e da esqualeno epoxidase foram reduzidos, dependendo da dose do extrato de própolis.

Entretanto, o nível de expressão da enzima 3-hidróxi-3-metilglutaril-Coenzima A redutase, enzima que determina a velocidade da síntese do colesterol, foi aumentada pela administração de extrato de própolis. Segundo Koya-Miyata et al. (2009), a própolis preveniu o aparecimento da obesidade em camundongos e um dos mecanismos responsáveis é a diminuição da síntese de ácidos graxos.

Sugere-se que neste experimento também tenha ocorrido a diminuição da síntese de ácidos graxos, visto que foi observada a redução de colesterol sérico e de tecido adiposo subcutâneo na região lombar dos cães que receberam extrato de própolis na dieta, dado interessante para um possível uso, futuro, na dieta de cães obesos.

Em experimento com erva mate tostada, que, semelhantemente a própolis, também possui flavonoides (quercetina e rutina) e ácidos fenólicos (ácido clorogênico), além de cafeína e saponina, usando dosagens de 1 ou 2 g/kg, por via oral, em 62 camundongos machos obesos por 60 dias, Arçari et al. (2009) observaram redução significativa no peso corpóreo, glicemia, resistência à insulina, níveis de colesterol e TAG séricos. A redução do peso corpóreo não foi atribuída à inibição do apetite, pois segundo autores, não houve alteração na quantidade ingerida de ração entre os grupos.

A ação antiobesidade também pode ser pela redução da glicemia pós-prandial, colesterol e TAG plasmático, conforme demonstrado por Rodriguez de Sotillo & Hadley (2002), usando ácidos clorogênicos em ratos. Uma das vias pela qual o ácido clorogênico parece influenciar na glicemia é pela inibição da ação da glicose-6-fosfatase hepática. Esse sistema enzimático é responsável pela regulação homeostática da glicose sanguínea, atuando no passo final da gliconeogênese e da glicogenólise, originando a glicose livre que é exportada para a corrente sanguínea (Arion et al., 1998). No entanto, Oliveira et al. (2008) não encontraram ação sobre a enzima glicose-6-fosfatase. Contudo, demonstraram aumento significativo na expressão gênica do contranportador intestinal de glicose SGLT1, responsável pela absorção intestinal da glicose.

Por outro lado, resultados contrários foram encontrados por Mani et al. (2006), os quais não observaram alterações nos níveis séricos de colesterol total, colesterol-HDL,

lipídios totais, TAG, aminotransferase e lactato desidrogenase, em experimento com ratos. Esses autores avaliaram a suplementação de concentrações diferentes de própolis de mg/kg/dia (1, 3 e 6) durante 30 dias; com 1 mg/kg/dia de EEP ou SHP durante 30 dias e; com 1 mg/kg/dia EEP durante 90 e 150 dias.

Biavatti et al. (2003), em experimento com pintainhos de sete dias de idade, inocularam diretamente no esôfago *Eimeria acervulina* (400 mil oocistos por dose). O uso de EEP (1 mL/kg ração) melhorou o desempenho dos frangos de corte de 14-21 dias. Os autores dosaram, no final do experimento, (28 dias de idade das aves) os níveis séricos de glicose, colesterol total, TAG, ureia, creatinina, fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase, sendo que apenas a fosfatase alcalina das aves apresentou-se maior no grupo que recebeu EEP (1 mL/kg de ração). Os resultados deste experimento revelaram que o EEP pode ser utilizado como antimicrobiano, mas são necessários mais estudos para encontrar a melhor concentração na dieta.

A ação sobre o perfil lipídico, além da dose do composto fenólico pesquisado, parece depender da presença de outros compostos, conforme demonstrado em estudo de Lopes et al. (2000). Esses autores usaram ração comercial com acréscimo de substâncias indutoras a hipercolesterolemia (colesterol, ácido cólico, Triton WR 1339) em coelhos machos, raça Nova Zelândia, e por via oral por meio de cápsulas foram fornecidos flavonoides. A combinação naringenina e chitosan promoveu redução de apenas TAG; embora a combinação de naringenina, antocianina e carmim reduziu significativamente TAG, colesterol total, e aumentou nível sérico de colesterol de alta densidade (HDL) (Lopes et al., 2000).

Assim como a própolis, o chá verde possui alta quantidade de flavonoides, principalmente catequinas, capazes de promover a diminuição do peso, gordura corporal e auxiliar na prevenção e tratamento da obesidade e de doenças associadas como diabetes. Em experimento com humanos, Nagao et al. (2005) obtiveram melhora do perfil lipídico, diminuindo a concentração de colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL) e TAG. Ashida et al. (2004) ofereceram a ratos chá verde ao invés de água por três semanas. O chá verde reduziu o peso do tecido adiposo sem qualquer mudança no peso corporal e consumo alimentar. Também foram reduzidas significativamente as concentrações sanguíneas de colesterol total e ácidos graxos livres.

Duloo et al. (1999) demonstraram aumento no gasto energético e diminuição no quociente respiratório de 24h de homens saudáveis, que consumiram o extrato de chá

verde que proporcionou um teor de 90 mg de epigallocatequina gallato, um flavonoide. Concluiu-se, neste estudo, que o composto fenólico do chá verde pode estimular a termogênese e a oxidação lipídica.

O índice de proliferação de linfócitos de cães que receberam extrato de própolis na dieta não foi alterado ($P>0,05$), como demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5 – Índice de proliferação de linfócitos dos cães da raça Beagle aos 15 meses de idade que receberam própolis ou não na dieta

	Índice de proliferação de linfócitos
Controle	1,26 ± 0,15
Própolis	1,24 ± 0,13
CV %	11,29
Significância	0,7858

CV – coeficiente de variação.

Na literatura consultada, não foram encontrados trabalhos sobre o uso de extrato de própolis na dieta de cães, mensurando o índice de proliferação de linfócitos. Em experimento com cães da raça Beagle aos 17 meses de idade, Nunes et al. (2008) observaram um valor de proliferação de linfócitos de 3,05 maior que o observado neste experimento.

Sá-Nunes et al. (2003), avaliando a proliferação de linfócitos em camundongos, com administração de 0,2 mL de solução hidroalcolica de própolis a 30%, por via intraperitoneal por três dias (2,5; 5 ou 10 mg/kg), observaram que não foi alterada a expressão e produção de interleucinas (IL), IL-2, IL-4 e IL-10. Em estudo “in vitro”, observaram efeito inibitório para proliferação de esplenócitos quando usado na concentração de 100 µg/mL. O tratamento com própolis pode pré-ativar os macrófagos esplênicos “in vivo” a produzir óxido nítrico, o que seria responsável pelo efeito inibitório sobre a proliferação de linfócitos.

A ação imunomoduladora da própolis também pode ser associada com a ativação e a estimulação da capacidade fagocítica do macrófago (Scheller et al., 1989). Já, Sforcin (2002) verificou que a atividade imune da própolis está relacionada às células natural killer, pois, observou aumento de células natural killer esplênicas de ratos dos grupos tratados com solução hidroalcolica de própolis a 10%, administrada por sonda ao estômago (10 mL) por três dias.

Na própolis são encontrados teores consideráveis de flavonoides, mas também aminoácidos, principalmente arginina e prolina (Gabrys et al., 1988). A prolina é

catabolizada via prolina oxidase em uma variedade de órgãos, incluindo o intestino delgado, fígado, rins, órgãos linfoides e placenta, gerando a pirrolina-5-carboxilato com a função de regular o estado redox celular e proliferação de células, incluindo linfócitos (Phang, 1985).

O peróxido de hidrogênio formado na reação é uma molécula sinalizadora e um agente citotóxico para bactérias patogênicas (Kim et al., 2005). A prolina constitui um terço da composição de aminoácidos do colágeno, portanto, é crucial para cicatrização de feridas e recuperação de lesões mediadas por células do sistema imune (Li et al., 2007).

Neste experimento, para a variável resposta vacinal contra o vírus da cinomose canina não foi observada diferença significativa entre os tratamentos (Figura 2). Resultado diferente ao observado por Kong et al. (2004), os quais em estudo com aves de corte e nove fitoterápicos, dentre eles, um polissacarídeo oriundo da própolis, avaliaram a resposta vacinal contra o vírus de Newcastle e o índice de proliferação de linfócitos. A inclusão de própolis (0,5 ou 1 mg), uma vez ao dia por três dias, por via subcutânea exerceu efeito sobre a resposta vacinal apenas na dosagem mais alta e somente aos 21 e 28 dias pós-vacinais. Para a proliferação de linfócitos periféricos, foi observado maior valor para as aves que receberam a dosagem maior da proteína de própolis a partir dos 28 dias. A própolis parece estimular a proliferação de linfócitos e a imunidade humoral, sendo que doses mais elevadas são mais eficazes do que doses mais baixas.

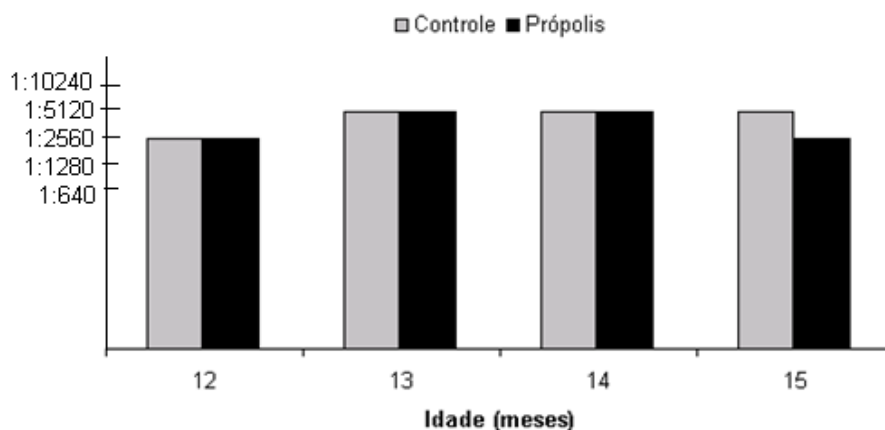


Figura 2 – Nível de diluição que apresentou hemaglutinação em cães da raça Beagle aos 12, 13, 14 e 15 meses de idade alimentados com dietas suplementadas ou não com extrato de própolis.

Ferreira et al. (2008) usaram própolis marrom como adjuvante para aumentar a resposta vacinal contra o vírus da cinomose canina. Os grupos de camundongos que receberam as concentrações mais altas da vacina ($1,5 \times 10^6$ e 3×10^6 TCDI50) acrescidas de 400 μ g de própolis apresentaram incremento significativo na resposta imune humoral quando comparados aos grupos que receberam as mesmas doses da vacina sem própolis.

As propriedades da própolis estão diretamente relacionadas à sua composição química, o que se constitui no principal desafio para o seu uso em fitoterapia, tendo em vista que a sua composição varia de acordo com a vegetação da região, a época da coleta e a técnica empregada, bem como em função da espécie da abelha e do grau de africanização da *Apis mellifera* no Brasil, fatores importantes na definição das suas propriedades físicas, químicas e biológicas (Pereira et al., 2002).

Conclusão

Considerando as condições da presente pesquisa, a adição do extrato de própolis no alimento de cães da raça Beagle, durante cinco meses estimulou a redução de peso e de tecido adiposo subcutâneo lombar dos cães e da concentração sérica de colesterol total plasmático.

Literatura Citada

- ARAUCO, L.R.R.; STÉFANI, M.V.; NAKAGHI, L.S.O. Efeito do extrato hidroalcoólico de própolis no desempenho e na composição leucocitária do sangue de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.29, n.1, p.227-234, 2007.
- ARÇARI, D.P.; BARTCHEWSKY, W.; DOS SANTOS, T.W. et al. Antiobesity effects of yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) in high-fat diet induced obese mice. **Obesity**, v.17, n.12, p.2127-2133, 2009.
- ARION, W.J.; CANFIELD, W.K.; RAMOS, F.C. et al. Chlorogenic acid analogue S 3483: a potent competitive inhibitor of the hepatic and renal glucose-6-phosphatase systems. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.351, n.2, p.279-285, 1998.
- ASHIDA, H.; FURUYASHIKI, T.; NAGAYASU, H. et al. Anti-obesity actions of green tea: Possible involvements in modulation of the glucose uptake system and suppression of the adipogenesis-related transcription factors. **BioFactors**, v.22, n.1-4, p.135-140, 2004.
- BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; ADNYANA, I.K. et al. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. **Journal of Ethnopharmacology**, v.72, n.1, p.239-246, 2000.
- BIAVATTI, M.W.; BELLAVAR, M.H.; VOLPATO, L. et al. Preliminary studies of alternative feed additives for broilers: *alternanthera brasiliensis* extract, propolis extract and linseed oil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.5, n.2, p.147-151, 2003.
- BORGES, F.M.O. Programas de redução de peso para cães e gatos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 4., 2004, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2004. p.1-48.
- BORGES, N.C. Técnicas para a determinação da composição corporal de cães e gatos. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO CLÍNICA DE CÃES E GATOS, 1., 2005, São Paulo. **Anais...** São Paulo: UnespJaboticabal, [2005]. CD-ROM.
- CARMICHAEL, L.E.; BINN, L.N. New enteric viruses in the dog. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, v.25, n.1, p.1-37, 1981.
- CASE, L.P.; CAREY, D.P.; HIRAKAWA, D.A. **Nutrição canina e felina: manual para profissionais**. Madrid: Harcourt Brace, 1998.
- DULOO, A.G. ; DURET, C.; ROHRER, D. et al. Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.70, n.6, p.1040-1045, 1999.
- FERNANDES, J.I.M. Interação Nutrição e imunologia em aves. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 6., 2009, Cascavel. **Anais...** Cascavel: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2009. p.17-30.
- FERREIRA, L.N.; FONSECA, P.F.; CAETANO, C.F. et al. Efeito adjuvante da própolis marrom em vacina viva com antígenos múltiplos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. **Anais...** Gramado: Conbravet, [2008]. CD-ROM.
- FRANCO, S.S.; ROSA, A.P.; LENGELER, S. et al. Índices produtivos e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de extrato etanólico de própolis ou promotores de crescimento convencionais. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p. 1765-1771, 2007.

- GABRYS, J.; KONECKI, J.; KROL, W. Free aminoacids in bee hive product (propolis) as identified and quantified by gas-liquid chromatography. **Pharmacological Research Communications**, v.18, n.6, p.516-518, 1988.
- GARCIA, C.E. **Efeitos da própolis sobre unidades formadoras de colônias de *Pasteurella mutocida*, desempenho produtivo e constituintes sanguíneas de coelhos**. 2001. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Faculdade de Ciências Agrárias/ Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.
- JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.
- KIM, S.W.; WU, G.; BAKER, D.H. Amino acid nutrition of breeding sows during gestation and lactation. **Pig News and Information**, v.26, n.1, p.89-99, 2005.
- KONG, X.; HU, Y.; RUI, R. et al. Effects of Chinese herbal medicinal ingredients on peripheral lymphocyte proliferation and serum antibody titer after vaccination in chicken. **International Immunopharmacology**, v.4, n.7, p.975-982, 2004.
- KOO, M.H.; PARK, Y.K. Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same region. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 61, n.2, p.367-369, 1997.
- KOYA-MIYATA, S.; ARAI, N.; MIZOTE, A. et al. Propolis prevents diet-induced hyperlipidemia and mitigates weight gain in diet-induced obesity in mice. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.32, n.12, p.2022-2028, 2009.
- LAFLAMME, D.P.; HUME, E.; HARRISON, J. Evaluation of zoometric measures as an assessment of body composition of dogs and cats. In: RALSTON PURINA CO, 1998, St Louis. **Anais...** St Louis: Nestlé-Purina, 1998.
- LI, P.; YIN, Y.L.; LI, D. et al. Amino acids and immune function. **British Journal of Nutrition**, v.98, n.1, p.237-252, 2007.
- LOPES, R.M.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J. et al. Flavonoides. **Biociência & Desenvolvimento**, v.3, n.14, p.18-22, 2000.
- MAN, F.; DAMASCENO, H.C.R.; NOVELLI, E.L.B. et al. Propolis: effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables. **Journal of Ethnopharmacology**, v.105, n.1, p.95-98, 2006.
- METZNER, J.; BEKEMEIER, M.; PAINTZ, M. et al. On the antimicrobial activity of propolis and propolis constituents. **Pharmazie**, v.34, n.2, p.97-102, 1979.
- MICHIGAN STATE UNIVERSITY. Department of Agricultural Economics. Department of Crop and Soil Sciences. **MSTAT-C**: microcomputer statistical program: versão: 2.1. East Lansing, 1989.
- MIGUEL, I. B. Introducción a la alimentación canina y felina: visión del mercado. In: CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA, 16., 2000, Barcelona. **Proceedings...** Madrid: FEDNA Fundación Española para el desarrollo de la Nutrición Animal, 2000.
- MOROOKA, T.; NIYAMA, M.; UCHIDA, E. et al. Measurement of the back fat layer in Beagles for estimation of obesity using two-dimensional ultrasonography. **Journal of Small Animal Practice**, v.42, n.2, p.56-59, 2001.
- NAGAO, T.; KOMINE, Y.; SOGA, S. et al. Ingestion of a tea rich in catechins leads to a reduction in body fat and malondialdehyde-modified LDL in men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, n.1, p.122-129, 2005.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs and cats**. Washington, D.C.: The National Academy, 2006.
- NUNES, E.A.; BONATTO, S.J.; DE OLIVEIRA, H.H.P. et al. The effect of dietary supplementation with 9-cis:12-trans and 10-trans:12-cis conjugated linoleic acid (CLA) for nine months on serum cholesterol, lymphocyte proliferation and polymorphonuclear cells function in Beagle dogs. **Research in Veterinary Science**, v.84, n.1, p.62-67, 2008.

- OLIVEIRA, D.M.; FREITAS, H.S.; SOUZA, M.F.F. et al. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) aqueous extract decreases intestinal SGLT1 gene expression but does not affect other biochemical parameters in alloxan-diabetic Wistar rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.1, p.10527-10532, 2008.
- PEREIRA, A.S.; SEIXAS, F.R.M.S.; AQUINO NETO, F.R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v.25, n.2, p.321-326, 2002.
- PEREZ I. Influencia de las dosis parenteral de propoleo sobre la respuesta imune (RES), en conejos. In: INVESTIGACIONES CUBANAS SOBRE EL PROPOLEO: MEMORIAS DEL SIMPOSIO SOBRE LOS EFECTOS DEL PROPOLEO EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL, 1989, Varadero. **Anais...** Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinária de Cuba, 1989. p.230-233.
- PHANG, J.M. The regulatory functions of proline and pyrroline- 5-carboxylic acid. **Current Topics in Cellular Regulation**, v.25, n.1, p.91-132, 1985.
- RODRIGUEZ de SOTILLO, D.V.R.; HADLEY, M. Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of: colesterol, triacylglycerol, and minerals in (*fa/fa*) Zucker rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.13, n.1, p.717-726, 2002.
- SANTOS, F.A.; BASTOS, E.M.A.; UZEDA, M. et al. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. **Journal of Ethnopharmacology**, v.80, n.1, p. 1-7, 2002.
- SÁ-NUNES, A.; FACCIOLIA, L.H.; SFORCIN, J.M. Propolis: lymphocyte proliferation and IFN- γ production. **Journal of Ethnopharmacology**, v.87, n.7, p.93-97, 2003.
- SCHELLER, S.; KROL, W.; SWIACK, I.J. et al. Antitumoral property of ethanolic extract of propolis in mice bearing Erlich carcinoma as compared to becomycin. **Zeitschrift Fur Naturforschung**, v.44, n.5, p.1063-1065, 1989.
- SFORCIN, J.M.; KANENO, R.; FUNARI, S.R.C. Absence of seasonal effect on the immunomodulatory action of brazilian propolis on natural killer activity. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v.8, n.1, p.19-29, 2002.
- SHARON, A. Clinical weight management for dogs and cats. In: WSAVA-Congress of the World Small Animal Veterinary Association, 28., 2003, Bangkok. **Proceedings...** Bangkok: WSAVA, 2003. p.56-69.
- TURNER, K.K.; NIELSEN, B.D.; O'CONNOR, C.I. et al. Bee pollen product supplementation to horses in training seems to improve feed intake: a pilot study. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.90, n.9, p.414-420, 2006.
- WILLIS, J.M.; MORRIS, J.G. Feeding puppies and kittens. In: KELLY, N.C.; WILLIS, J. **British small animal veterinary association manual of companion animal nutrition and feeding**. London: British Small Animal Veterinary Association. 1996.

V - Efeito da inclusão de extrato de própolis na dieta de cães sobre a palatabilidade e característica das fezes

RESUMO - Este experimento teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão de extrato de própolis (SLNC206/SL49^(PI)) na dieta de cães sobre a palatabilidade, primeira escolha do alimento e características das fezes: escore fecal e microbiologia (população microbiana intestinal). Para todos os ensaios foi utilizada uma dieta comercial (Nova D+), com ou sem suplementação do extrato de própolis que forneceu um teor de flavonoides totais em apigenina (TFT) de 3,97 mg/kg. Para o ensaio de palatabilidade e primeira escolha, foram utilizados 20 cães das raças Beagle, Siberian Husky, Labrador Retriever e Basset Hound do Canil Rancho da Pedra em Apucarana-PR. O experimento teve duração de três dias, totalizando 60 repetições. Para avaliação das fezes, foram usados 16 cães da raça Beagle, com 11 meses de idade, divididos, ao acaso, em dois grupos. O experimento teve duração de cinco meses. Ao final do experimento, foi feita a análise de microbiologia das fezes em dois tipos de meios de cultivo, em Ágar Padrão para Contagem e Ágar Bile Vermelho Violeta. A análise de primeira escolha apresentou maior porcentagem de animais para a dieta com inclusão de extrato de própolis e a adição de extrato de própolis, melhorou a palatabilidade da dieta dos cães. Não foram observadas diferenças entre os grupos para consistência das fezes. Ambos os meios de cultura apresentaram maiores valores de unidades formadoras de colônias nas fezes dos cães, que receberam extrato de própolis na dieta.

Palavras-chave: aceitabilidade, bactéria gram-negativa, nutrição de cães, odor

^(PI) Patente: PI 05063930

Effect of the propolis extract inclusion in dog diet on palatability and faeces characteristics

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate the effects of propolis extract (SLNC206/SL49^(PI)) inclusion in dog diet on palatability and faeces characteristics (score and microbiology). A commercial diet (Nova D+) was used with or without supplementation of propolis extract, providing total flavonoid content in apigenin (TFC) of 3.97 mg/kg. For the palatability and first choice test, twenty dogs breeds: Beagle, Siberian Husky, Labrador Retriever and Basset Hound from the Canil Rancho da Pedra, Apucarana-PR, were used for the experiment. The trial lasted three days, totalising 60 repetitions. For faeces characteristics test, sixteen beagle dogs, 11 months-old each were used and they were randomly divided in two groups. The trial lasted five months. At the end of the experiment, the microbiological analysis of the stools was performed using two kinds of culture medium, Standar Count Agar and Violet Red Bile Agar. The first choice analysis showed for diet containing propolis extract the highest percentage and the inclusion of propolis extract increased the diet palatability. There were no differences between groups for faecal score. Both cultures showed higher values of colony-forming unit in faeces of dogs fed with propolis extract diet.

Key Words: acceptability;, Gram negative, dogs' nutrition, odour

^(PI) Patent: PI 05063930

Introdução

O interesse pela ação farmacológica de produtos naturais tem crescido e encontrado significativa aceitação popular. Dentre esses produtos, a própolis tem se destacado pela sua aplicabilidade na indústria de alimentos e cosméticos. Isso se deve às suas diversas propriedades terapêuticas, entre elas: antimicrobiana, antitumoral, anestésica, anti-inflamatória e antiviral (Soares et al., 2006; Tavares et al., 2006; Longhini et al., 2007).

A composição química da própolis inclui flavonoides (como a galangina, quercetina, pinocembrina e kaempferol), ácidos aromáticos e ésteres, aldeídos e cetonas, terpenoides e fenilpropanoides (como os ácidos cafeico e clorogênico), esteroides, aminoácidos (arginina, prolina), polissacarídeos, hidrocarbonetos, ácidos graxos e outros compostos em pequenas quantidades. De todos esses grupos de compostos, o que vem chamando mais atenção dos pesquisadores é o grupo dos flavonoides (Volpi & Bergonzini, 2006; Park & Ikegaki, 1998).

A palatabilidade ou aceitabilidade deve ser sempre mensurada quando um novo ingrediente ou aditivo é incluído na alimentação dos animais. É uma medida da preferência do alimento e depende do sabor, da textura e do odor. A avaliação da palatabilidade é importante para indústria farmacêutica e de nutrição de animais de estimação. O ensaio de palatabilidade deve ser baseado em uma mensuração objetiva em que dois ou mais alimentos poderão ser classificados com base na preferência (Araujo & Milgram, 2004).

A presença dos animais de companhia, especialmente cães e gatos, dentro dos lares familiares é cada vez mais evidente e constante. Muitos são os avanços técnicos nos sistemas de criação, ou cuidados com os animais, que têm como principal objetivo tornar o convívio animal “versus” homem cada vez mais agradável e proveitoso.

Dentre as inovações, podem-se citar alimentos completos industrializados que suprem as exigências nutricionais dos animais nas diferentes fases de crescimento, as quais têm como objetivo diminuir o volume das fezes tornando-as mais firmes e secas e rações que contêm aditivos com a função de pré ou probióticos (Amrik & Bilkei, 2004).

Pelos efeitos da própolis citados na literatura, este experimento teve o objetivo de avaliar seu uso, na forma de extrato, sobre a palatabilidade, primeira escolha do alimento completo destinado a cães e características das fezes: escore fecal e microbiologia (população microbiana intestinal).

Material e Métodos

Para este experimento foram usadas duas dietas, tendo como base, uma dieta comercial (Nova D+, Kowalski – Quadro 1) de acordo com as exigências nutricionais para cães (NRC, 2006). À dieta-controle, sem adição de própolis, foram adicionados 2 L de óleo soja em 75 kg da dieta, enquanto que à dieta-teste foram incluídos aos 2 L de óleo de soja 80 mL de extrato de própolis (SLNC206/SL49^(PI)) e adicionado ao mesmo volume de 75 kg de alimento, que proporcionou um teor de flavonoides totais em apigenina de 3,97 mg/kg da dieta.

Nutriente	Níveis de garantia	
	Umidade	(máximo)
Proteína Bruta	(mínimo)	18,0%
Extrato Etéreo	(mínimo)	4,5%
Matéria Fibrosa	(máximo)	6,0%
Matéria Mineral	(máximo)	12,0%
Cálcio	(máximo)	2,4%
Fósforo	(mínimo)	0,8%
Energia Metabolizável	(máxima)	2.675,0 kcal/kg

Quadro 1 – Níveis de garantia apresentados na embalagem do alimento completo.

Palatabilidade e primeira escolha

O experimento para avaliar a palatabilidade e primeira escolha das dietas foi desenvolvido no Canil Rancho da Pedra – Apucarana-PR, durante o mês de janeiro de 2010.

Foram utilizados 20 cães adultos, mantidos em baias individuais, clinicamente hígidos, sendo oito cães da raça Beagle (6 fêmeas e 2 machos), quatro da raça Labrador Retriever (3 fêmeas e 1 macho), quatro da raça Husky Siberiano (3 fêmeas e 1 macho), e quatro da raça Basset Hound (2 fêmeas e 2 machos).

A inclusão do óleo de soja na dieta-controle e óleo de soja mais extrato de própolis na dieta-teste foram realizadas no próprio canil Rancho da Pedra em Apucarana. A mistura dos croquetes com o óleo foi feita em uma betoneira durante 10 min. A dieta-controle foi manipulada, primeiramente, para evitar resquícios de extrato de própolis no misturador.

Para realizar o ensaio de palatabilidade, ambas as dietas foram fornecidas diariamente, pareadas e simultaneamente em comedouros iguais, identificados para cada

tratamento. A disposição dos comedouros foi alternada a cada dia, evitando que o animal tivesse acesso, no primeiro momento, ao mesmo alimento durante o teste. Para a determinação da quantidade de alimento completo oferecido utilizou-se a fórmula descrita pelo NRC (2006) para cães adultos de canil, com acréscimo de 30%, garantindo assim a ocorrência de sobra de ambas as rações.

A primeira escolha foi analisada pela observação do primeiro alimento consumido pelo animal, no mesmo instante que as dietas foram oferecidas.

Os dados relacionados à avaliação da palatabilidade foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o MSTAT-C (Michigan State University, 1989) e as médias foram comparadas pelo teste de F ($P < 0,05$), enquanto a análise da primeira escolha foi feita por análise de frequência.

Características das fezes

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Estudos de Nutrição Canina, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná - UFPR.

Foram utilizados 16 cães da raça Beagle, sendo oito fêmeas e oito machos, com 11 meses de idade, durante um período de cinco meses, de abril a agosto de 2009.

Antes de iniciar o experimento, foi atestada a higidez dos cães com a realização de exames físico, hematológico, bioquímico e coproparasitológico em cada cão. Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos com oito repetições.

Os cães foram alojados em baias, que apresentavam piso de cimento e mediam cerca de 1,5 m de largura por 2 m de comprimento, e ficavam soltos por uma média de 6h por dia numa área de cerca de 1.000 m².

A inclusão do óleo de soja na dieta-controle e óleo de soja mais extrato de própolis na dieta-teste foram realizadas na fábrica de ração da Fazenda Experimental Canguiri da UFPR. A mistura dos croquetes com o óleo foi feita num misturador do tipo duplo cone (35rpm) durante 10 mins. A dieta-controle foi manipulada primeiramente para evitar resquícios de extrato de própolis no misturador.

A água foi fornecida “ad libitum”, enquanto que a alimentação durante todo o período experimental foi fornecida uma vez ao dia, às 9h. A quantidade fornecida por animal foi calculada pela necessidade energética diária de manutenção, e forneceu um teor de flavonoides totais em apigenina de 0,11 mg/kg de peso vivo dos cães.

Antes de iniciar o experimento, os cães foram treinados a ingerirem o alimento em locais pré-estabelecidos das baias, bem como não trocarem de prato e que permaneceriam com o prato por até 20 min. Os pratos utilizados foram identificados, individualmente, para facilitar a pesagem da comida oferecida e a sobra de alimento de cada animal.

Durante o experimento, para atestar a saúde dos cães, foi realizada, mensalmente, ausculta cardíaca e pulmonar, contagem de movimentos respiratórios e batimentos cardíacos por minuto, tempo de preenchimento capilar, aferição da temperatura corporal, verificação da coloração das mucosas e tamanho dos linfonodos (axilar, cervical e popliteal).

Consistência das fezes

A consistência das fezes foi anotada diariamente em todo o período experimental pela utilização de escores (Quadro 1), sendo o escore um para fezes líquidas e cinco para ressecadas.

Escore	Aspecto das fezes
1	Fezes líquidas
2	Fezes pastosas
3	Fezes pouco pastosas
4	Fezes normais
5	Fezes ressecadas

Quadro 1 – Sistema de avaliação da consistência das fezes por meio de escores.
Fonte: CASE et al. (1998).

Microbiologia das fezes

Após quatro meses de consumo das dietas do experimento, foi feita a análise de microbiologia das fezes. Os cães foram alojados em gaiolas metabólicas por dois dias e, em seguida, retirados, um de cada vez, da gaiola para um ambiente aberto, onde logo após defecar foi feita a coleta.

As fezes foram armazenadas em potes estéreis e enviadas, prontamente, ao Laboratório de Microbiologia Veterinária, da Universidade Estadual de Maringá, no campus de Umuarama-PR.

Foi feita a contagem de bactérias aeróbias mesófilas por meio do cultivo em Ágar Padrão para Contagem (PCA), incubadas por 24h a 36°C e contagem de coliformes por meio do cultivo em Ágar Bile Vermelho Violeta (VVB) por incubação a 36°C por 24h.

O meio de PCA permite crescimento das bactérias aeróbias mesófilas, as quais são constituídas por espécies da família Enterobacteriaceae (Silva et al., 1997). Já o meio VVB permite o crescimento de coliformes. Por definição, coliformes são bacilos aeróbicos e/ou anaeróbios facultativos, gram-negativos, não-esporulados, capazes de fermentar a lactose (Speck, 1984).

Para avaliação da palatabilidade, microbiologia das fezes e quando os resultados revelaram existir diferença estatística significativa entre médias de tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de F ($P < 0,05$). Para a característica de escore das fezes, foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

Como ferramenta de auxílio às análises estatísticas, utilizou-se o programa estatístico MSTAT-C (Michigan State University, 1989).

Resultados e Discussão

Palatabilidade e primeira escolha

Para palatabilidade foi observado diferença ($P < 0,05$) entre as dietas, conforme demonstrado na Tabela 1. A dieta-teste que apresentava inclusão de extrato de própolis teve maior palatabilidade e também foi a primeira escolha dos cães.

Tabela 1 – Médias e desvio-padrão da razão de ingestão diária e, porcentagem média de primeira escolha das dietas com ou sem suplementação de extrato de própolis

Alimentos	Razão de ingestão diária de alimento				Primeira Escolha (%)
	1º dia	2º dia	3º dia	Média	
Controle	0,104±2,08	0,112±2,24	0,108±2,16	0,108 ^b	18,33
Teste	0,214±4,29	0,235±4,70	0,227±4,54	0,225 ^a	81,67
Média	0,159	0,174	0,167	0,167	

^{a,b} -Médias seguidas de letras diferentes, na coluna, diferem ($P < 0,05$) para teste de F.

Corroborando com Sanchez & Galardi (1989), que sugeriram que a própolis possui uma ação estimulante sobre o apetite dos animais, pois, testando aplicações orais de emulsão aquosa de própolis (10%) em 60 leitões desmamados, observaram que os animais tratados tiveram maior ganho de peso.

Essa ação estimulante sobre o apetite dos animais não foi observada por Lana et al. (2005), que trabalhando com cabras leiteiras, verificaram interação entre óleo de soja e extrato etanoico de própolis, de modo que o óleo de soja reduziu os consumos diários de matéria seca, matéria orgânica e fibra detergente neutra somente na presença de própolis.

Loureiro et al. (2007) também verificaram redução no consumo de matéria seca em cordeiros alimentados com rações que continham 15 mg e 30 mg de EEP/kg de peso corporal em comparação aos animais do tratamento-controle.

Scapinello et al. (1998) afirmaram que o desempenho dos coelhos foi prejudicado pela inclusão da solução hidroalcoólica de própolis (SHP) na água de bebida, avaliando a influência da SHP sobre desempenho de coelhos Nova Zelândia Branco de 40 a 90 dias de idade,

A atividade biológica da própolis está sendo comprovada por diversos autores, no entanto, sua utilização na área veterinária e zootécnica tem sido limitada pela grande variabilidade nas amostras, ocasionadas pelas diferentes fontes vegetais, técnicas de extração, solventes e concentrações utilizadas, bem como as variadas técnicas para determinar sua composição química, tanto em termos da qualificação, quanto da quantificação de seus componentes.

Características das fezes

A inclusão do extrato de própolis na dieta não proporcionou diferença ($P=0,21$) no escore fecal durante todo o período experimental, tendo a mediana mensal para esta característica o valor que caracteriza as fezes normais (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores médios e desvio-padrão das unidades formadoras de colônia (UFC) incubadas em meio de ágar padrão para contagem (PCA) e ágar bile vermelho violeta (VVB) e escore fecal, de acordo com a inclusão de extrato de própolis

Dietas	PCA x10 ¹⁰ UFC/g	VVB x10 ⁶ UFC/g	Escore fecal
Controle	0,38 ^b ± 0,40	3,91 ^b ±0,58	4
Própolis	1,82 ^a ± 0,40	8,57 ^a ±0,55	4

a,b = médias seguidas de letras minúsculas diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de F ($P<0,05$).

Neste experimento, foi observada maior concentração de unidades formadoras de colônia no grupo que recebeu própolis na dieta (Tabela 2); com maior concentração de coliformes no meio de cultura PCA e enterobactérias que são gram-negativas, no meio VVB.

Estes resultados corroboram com o descrito por Mirzoeva et al. (1997), que citam que a própolis possui efeito sobre a permeabilidade da membrana citoplasmática bacteriana aos íons, causando a dissipação do potencial de membrana, o que a caracteriza como substância ionófora. Logo, a atividade antimicrobiana da própolis ocorre pela inibição de bactérias classificadas como gram-positivas.

Esta atividade antimicrobiana da própolis é atribuída, principalmente, aos compostos fenólicos: flavonona pinocembrina, flavonol galagina e éster feniletil do ácido cafeico, com um mecanismo de ação baseado, provavelmente, na inibição do RNA-polimerase bacteriano (Uzel et al., 2005). Também foi descrito que o ácido cafeico, ácido benzoico e ácido cinâmico agem na membrana ou parede celular do micro-organismo, causando danos funcionais e estruturais (Scazzocchio et al., 2005).

Vargas et al. (2004) também observaram que as bactérias gram-positivas são mais sensíveis que as gram-negativas, 92,6% e 42,5%, respectivamente; ao avaliar a ação antimicrobiana da solução alcoólica de própolis a 50% sobre isolados bacterianos gram-positivos e negativos, oriundos de animais.

No entanto, houve maior concentração de gram-positivos, em estudo com compostos fenólicos do chá preto, numa dosagem de 0,2%, em suínos, por duas semanas. Segundo Hara et al. (1995), houve aumento da concentração de *Lactobacillus* spp., que são gram-positivos, e nenhuma mudança ocorreu na concentração de outros micro-organismos ao longo do período experimental. Também foi observado que as concentrações fecais de amônia, fenol, p-cresol e escatol foram diminuídas, enquanto, as quantidades de ácidos graxos curtos, ácido acético e ácido láctico foram elevados.

A própolis pode ter uma ação semelhante ao frutano. Os fruto-oligossacarídeos inibem a produção de produtos finais da fermentação proteica, melhoram o ambiente intestinal por alterar as concentrações de micro-organismos, por exemplo, diminuem as concentrações de patógenos gram-positivos, como *Clostridium perfringens* (Swanson et al., 2002).

Em experimento “in vitro”, Oliveira et al. (2004) observaram que o extrato etanólico de própolis (30%) foi eficiente em reduzir a produção de amônia de fontes de proteína de maior degradabilidade, pela redução da atividade de desaminação. Também

foi observado por Stradiotti et al. (2004a,b) que a própolis foi eficiente em inibir a atividade de desaminação de aminoácidos pelos micro-organismos ruminais, tanto “in vitro”, quanto “in vivo”.

Já que a própolis atua sobre as bactérias gram-positivas ruminais, espera-se que sua adição à ração iniba o crescimento de bactérias proteolíticas (Hino & Russell, 1987) e, conseqüentemente, a desaminação e a proteólise (Russell & Martin, 1984).

São necessárias mais pesquisas nessa área, identificando os micro-organismos favorecidos pela aplicação de própolis na dieta dos cães, visto que, micro-organismos gram-positivos podem ser patogênicos, como *Clostridium* spp, ou benéficos importantes para manutenção da saúde intestinal dos cães, como, *Lactobacillus* spp.

Conclusão

Nas condições experimentais deste trabalho, a adição do extrato de própolis (SLNC206/SL49^(PI)) favoreceu a primeira escolha e a palatabilidade do alimento completo e proporcionou aumento da concentração de enterobactérias.

Literatura Citada

- AMRIK, B.; BILKEI, G. Influence of farm application of orégano on performances of sows. **The Canadian Veterinary Journal**, v.45, p.674-677, 2004.
- ARAUJO, J.A.; MILGRAM, N.W. A novel cognitive palatability assessment protocol for dogs. **Journal of Animal Science**, v.82, n.10, p.2200-2206, 2004.
- CASE, L.P.; CAREY, D.P.; HIRAKAWA, D.A. **Nutrição canina e felina: manual para profissionais**. Madrid: Harcourt Brace, 1998.
- GRANGE, J.M.; DAVEY, R.W. Antibacterial properties of propolis (bee glue). **Journal of the Royal Society of Medicine**, v.83, n.1, p.159-160, 1990.
- HARA, H.; ORITA, N.; HATANO, S. et al. Effect of tea polyphenols on fecal flora and fecal metabolic products of pigs. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.57, n.1, p.45-49, 1995.
- HINO, T.; RUSSEL, J.B. Relative contribution of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein *in vitro*. **Journal of Animal Science**, v.64, n.1, p.261-270, 1987.
- LANA, R.P.; CAMARDELLI, M.M.L.; QUEIROZ, A.C. Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.650-658, 2005.
- LONGHINI, R.; RAKSA, S.M.; OLIVEIRA, A.C.P. et al. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p.388-395, 2007.
- LOUREIRO, C.M.B.; SILVA SOBRINHO, A.G.; SANTANA, A.E. et al. Eficácia do extrato de própolis no controle de helmintoses de cordeiros naturalmente infectados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2007]. CD-ROM.
- MICHIGAN STATE UNIVERSITY. Department of Agricultural Economics. Department of Crop and Soil Sciences. **MSTAT-C: microcomputer statistical program: versão: 2.1**. East Lansing, 1989.
- MIRZOEVA, O.K.; GRISHANIN, R.N.; CALDER, P.C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potencial and motility of bacteria. **Microbiology Research**, v.152, n.3, p.239-246, 1997.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs and cats**. Washington, D.C.: The National Academy, 2006.
- OLIVEIRA, J.S.; LANA, R.P.; BORGES, A.C. et al. Efeito da monensina e extrato de própolis sobre a produção de amônia e degradabilidade *in vitro* da proteína bruta de diferentes fontes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.2, p.504-510, 2004.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M. Preparation of water and ethanolic extracts of propolis and evaluation of the preparations. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.62, n.11, p.2230-2232, 1998.
- RUSSELL, J.B.; MARTIN, S.A. Effect of various methane inhibitors on the fermentation of amino acids by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. **Journal of Animal Science**, v.59, n.1, p.1329-1338, 1984.
- SANCHEZ, M.; GALARDI, R. Influencia del propoleo en la conversión de lechones destetados. In: INVESTIGACIONES CUBANAS SOBRE EL PROPOLEO: MEMORIAS DEL SIMPOSIO SOBRE LOS EFECTOS DEL PROPOLEO EN LA

- SALUD HUMANA Y ANIMAL, 1989, Varadero. **Anais...** Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinária de Cuba, 1989. p.211-214.
- SCAPINELLO, C.; MOURA, L.P.P.; MARTINS, E.N. et al. Efeito da solução hidroalcoólica de própolis e robenidina no desempenho de coelhos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.1, p.150-156, 1998.
- SCAZZOCCHIO, F.; D'AURIA, F.D.; ALESSANDRINI, D. et al. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. **Microbiology Research**, v.4, n.1, p.327-333, 2005.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997.
- SOARES, A.K.A.; CARMO, G.C.; QUENTAL, D.P. et al. Avaliação da segurança clínica de um fitoterápico contendo Mikania glomerata, Grindelia robusta, Copaifera officinalis, Myroxylon toluifera, Nasturtium officinale, própolis e mel em voluntários saudáveis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, p.447-454, 2006.
- SPECK, L.M. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 2.ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 1984.
- STRADIOTTI JR., D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.1086-1092, 2004a.
- STRADIOTTI JR., D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação do extrato de própolis sobre a fermentação *in vitro* de diferentes alimentos pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1093-1099, 2004b.
- SWANSON, K.S.; GRIESHOP, C.M.; FLICKINGER, E.A. et al. Fructooligosaccharides and lactobacillus acidophilus modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs. **Journal of Nutrition**, v.132, n.12, p.3721-3731, 2002.
- TAVARES, J.P.; MARTINS, I.L.; VIEIRA, A.S. et al. Estudo de toxicologia clínica de um fitoterápico a base de associações de plantas, mel e própolis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.3, p.350-356, 2006.
- UZEL, A.; SORKUN, K.; ÖNÇAG, Ö. et al. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiology Research**, v.160, n.1, p.189-195, 2005.
- VARGAS, A.C. de; LOGUERCIO, A.P.; WITT, N.M. et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p.159-163, 2004.
- VOLPI, N.; BERGONZINI, G. Analysis of flavonoids from propolis by on-line HPLC-electrospray mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.42, n.1, p.354-361, 2006.
- WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v.37, n.2, p.99-105, 1998.

VI - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Em levantamento sobre o uso de própolis em produtos na linha humana foi constatada a existência de, aproximadamente, 90 produtos à base de própolis (dentre eles cápsulas, condicionador, xampu, sabonete, dentifrício, batom, bala, chá, protetor solar, gel pós-barba, creme, pomada etc.) disponíveis no mercado brasileiro.

No entanto, ainda há pouco estudo com comprovação científica das ações efetivas com o uso da própolis. A maioria dos estudos está relacionada ao uso da própolis na área de Odontologia. Em nosso trabalho não foram feitas avaliações odontológicas, sendo, portanto, sugerida para trabalhos futuros, visto que, o bom hálito e saúde bucal dos cães são desejos dos proprietários que convivem diretamente com seus animais de companhia, além da busca do aumento da longevidade destes animais. Sabe-se, atualmente, que algumas cardiopatias são decorrentes de problemas de tártaros e outras enfermidades bucais.

A atividade antimicrobiana da própolis já está comprovada cientificamente, contudo, seu mecanismo de ação ainda não está totalmente elucidado, bem como sua ação sobre o sistema imune. O entendimento da interação entre nutrientes e as respostas imunes é importante para a otimização da saúde dos animais.

No entanto, são poucos os trabalhos que têm a resposta dos animais frente às atividades biológicas da própolis, em termos de índices zootécnicos, imunológicos e possíveis efeitos adversos no organismo.

Na literatura consultada, não foram encontradas pesquisas relacionadas ao uso do extrato de própolis com cães. Considerando que a própolis está relacionada à melhora do sistema imune, é importante avaliar o seu uso na dieta de animais de companhia, com o intuito de reforçar as respostas humoral e celular frente ao estresse e às doenças.

Para avaliação do efeito da própolis sobre o sistema imune, neste experimento, foram realizadas três metodologias, contagem total de leucócitos, índice de proliferação de linfócitos e mensuração da resposta vacinal contra vírus da cinomose. Como não foi observada alteração para esses parâmetros, sugere-se, para experimentos futuros, o uso de outras metodologias, como avaliação da resposta vacinal por teste imunoenzimático (ELISA) ao invés de teste de hemaglutinação.

Mais estudos, com níveis maiores de flavonoides, são sugeridos com o intuito de encontrar o nível máximo deste componente que permita respostas fisiológicas.

Neste estudo foram realizados dois ensaios de digestibilidade, utilizando-se dez cães por tratamento. Ainda devem ser empreendidos esforços no sentido de padronizar metodologias em experimentos de digestibilidade, buscando as condições que permitam boa precisão nos resultados sem deixar de considerar os aspectos econômicos na condução dos experimentos.

Um achado intrigante, deste experimento, foi que a inclusão de extrato de própolis favoreceu a palatabilidade e a primeira escolha do alimento completo pelos cães. Considerando-se que há enfermidades que incluem um tratamento nutricional, como a obesidade; e um dos grandes problemas é a baixa palatabilidade do alimento completo destinado a cães obesos, pela sua alta concentração de fibra, a inclusão de extrato de própolis em dietas terapêuticas para estes casos seria de grande interesse. Já que demonstrou também reduzir colesterol total sérico e tecido adiposo subcutâneo lombar dos cães nas condições experimentais realizadas.

Sugerem-se, ainda, avaliações que permitam a identificação dos micro-organismos presentes nas fezes dos cães que ingeriram própolis; avaliação da produção de óxido nítrico pelos macrófagos, dosagem de interleucinas, entre outras análises que possam elucidar o mecanismo de ação da própolis.

É necessário o desenvolvimento de mais pesquisas que, entre outras coisas, avaliem diferentes extratos, concentrações, origem de própolis, bem como, elucidar seu modo de ação no organismo animal, para que então a própolis possa ser utilizada com segurança e eficiência nas prescrições relacionadas à melhoria da condição corporal e como possível agente antiobesidade, entre outros aspectos relacionados à fisiologia e ao metabolismo dos animais.