

Efeito do extrato alcoólico de própolis sobre o perfil bioquímico e o desempenho de coelhas jovens

Regina Conceição Garcia^{1*}, Marcos Eielson Pinheiro de Sá², Hélio Langoni² e Sílvia Regina Cunha Funari¹

¹Centro de Ciências Agrárias, campus de Marechal Cândido Rondon, Universidade Oeste do Paraná, 85960-000, Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. ²Médico Veterinário. *Autor para correspondência. e-mail: re_conbr@yahoo.com.br

RESUMO. Este estudo objetivou avaliar o desempenho corporal e o perfil bioquímico de 40 coelhos Norfolk 2000, *linhagem Botucatu*, fêmeas, com idade média de $97 \pm 4,18$ dias, alimentados com rações contendo álcool ou diferentes quantidades de extrato alcoólico de própolis (1000 ppm, 2000 ppm e 3000 ppm), por 35 dias. Analisaram-se os seguintes parâmetros bioquímicos séricos: glicose, uréia, creatinina, albumina, proteína total, transaminases (AST e ALT) e desidrogenase láctica (LDH), para as quais o sangue foi coletado antes e após o fornecimento das rações. Os níveis de glicose AST e LDH apresentaram diferenças entre tratamentos, sendo as maiores alterações nos animais do tratamento com 3000 ppm de EAP. Os coelhos que consumiram rações com 1000 ppm de EAP apresentaram melhor desempenho, enquanto os que receberam 3000 ppm de própolis na ração demonstraram os piores resultados, provavelmente por alterações no metabolismo.

Palavras-chave: própolis, coelhos, perfil bioquímico, desempenho.

ABSTRACT. Effect of the alcoholic extract of propolis on biochemical profile and performance of young female rabbits. This study aimed to evaluate the performance and biochemical profile of 40 Norfolk 2000 female rabbits, at age average of $97 \pm 4,18$ days, treated with diets of alcohol or different quantities of alcoholic extracts of propolis (1000, 2000 e 3000 ppm), for 35 days. Total protein, glucose, urea, albumin, creatinine, transaminase (AST e ALT) and lactate dehydrogenase (LDH) were analyzed, from blood samples collected before and after the treatment period. Differences among treatments were observed for glucose, AST and LDH. Animals receiving 3000 ppm of propolis in diet showed higher variations. The rabbits consuming diet of 1000 ppm of alcoholic extracts of propolis showed the best performance, while the animals receiving diet of 3000 ppm of extract demonstrated poorer performance, probably for metabolic changes.

Key words: propolis; rabbits; biochemical profile, performance.

Introdução

A própolis, produzida pelas abelhas a partir de material resinoso coletado das plantas misturado à cera, tem sido empregada amplamente na preparação de medicamentos em diversos países do mundo, inicialmente na Europa e Ásia e mais recentemente em alguns países da América do Sul, como Uruguai, Brasil e Argentina, e da América Central, como Cuba.

Sua ação antimicrobiana é reconhecida mundialmente, com muitos trabalhos científicos realizados nesse sentido, confirmando sua ação sobre bactérias, vírus, protozoários e fungos, bem como antiinflamatória, antioxidante e imunestimulante (Ghisalberti *et al.*, 1977; Ghisalberti, 1979; Hollands *et al.*, 1989; Rojas e Lugo, 1989; Machado *et al.*, 1989; Grange e Davey, 1990; Marcucci, 1995; Nieva Moreno *et al.*, 1999).

Na área veterinária, a própolis já foi testada em

casos de pododermite necrótica (*Footrot*) em ovinos (Tonhasca, 1988); na coccidiose em coelhos (Hollands *et al.*, 1984, 1988, 1989; Moura *et al.*, 1998); na pneumonia em bezerros (Rodriguez *et al.*, 1989); em enterites catarral, fibrinosa e hemorrágica, em bezerros (Fumero *et al.*, 1989; Garcia e 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 *et al.*, 1989); entre outros, sendo em todos esses trabalhos confirmada a sua ação terapêutica.

Banskota *et al.* (2000) 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, em ensaios biológicos, os quais apresentaram algumas diferenças entre as amostras.

Considerando-se a resposta dos animais às atividades biológicas da própolis, em termos de índices zootécnicos, poucos trabalhos têm sido realizados. Sanchez e 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, resultado de uma ação estimulante da própolis sobre o apetite dos animais.

A melhora observada no desempenho dos animais pode ser consequência de uma melhora na resposta imunológica dos mesmos após o consumo de própolis, pois, segundo Perez *et al.* (1989), estudando a influência da dose parenteral da própolis sobre a resposta imune em coelhos, as doses mais altas sugerem uma influência inibitória e as mais baixas mostraram melhores resultados, refletindo-se em níveis mais elevados de imunoglobulinas e anticorpos. Sforcin (1996) verificou que a atividade das células *natural killer* foi elevada nos grupos tratados com própolis, revelando sua ação imunomoduladora.

Entretanto, alguns autores têm relatado respostas exageradas ou inapropriadas do sistema imunológico frente à administração de própolis. Estudos recentes têm demonstrado que algumas substâncias presentes na própolis podem combinar-se com proteínas do organismo e tornarem-se imunogênicas, produzindo o quadro de hipersensibilidade (Paulino, 1999).

Outros pesquisadores não observaram reação alérgica alguma à própolis nos animais testados, como Scheller *et al.* (1977), em coelhos Chinchila, e Hollands *et al.* (1991), em camundongos. De acordo com os últimos, a própolis tem uma baixa ordem de toxicidade oral aguda em camundongos, sendo observadas LD₅₀ entre 2000 a 7300mg/kg e de 8000 a 40000mg/kg, para a própolis e para os flavonóides, 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, uréia e colesterol, somente a glicose apresentou uma elevação significativa nos animais que receberam álcool e extrato alcoólico de própolis. Sforcin *et al.* (1995) também estudaram o perfil bioquímico dos ratos, por meio da determinação das concentrações séricas de proteínas totais, glicose, uréia, creatinina, triacilgliceróis, colesterol e HDL-colesterol, bem como a atividade específica de transaminases (AST e ALT) e da desidrogenase láctica (LDH). Verificaram a ausência de alterações importantes nas variáveis bioquímicas séricas estudadas, indicando que a própolis não apresentou efeitos colaterais.

Além das propriedades biológicas mencionadas, a própolis oferece a vantagem de ser um produto natural e sua utilização na área zootécnica pode substituir ou reduzir o uso de quimioterápicos, os

quais, na maioria das vezes, não de uso humano, o que acaba encarecendo o produto final, quando se trata de produtos de origem animal, e, principalmente, oferecendo riscos à saúde do consumidor.

Entretanto, a despeito da atividade biológica da própolis comprovada por diversos autores, sua utilização na área veterinária e zootécnica tem sido limitada pela grande variabilidade nas amostras, devido às 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 disso, outro fator limitante à sua utilização é que seus componentes de maior ação biológica (flavonóides e ácidos fenólicos) são solúveis em álcool e, tanto este quanto a própolis, podem desencadear quadros de hipersensibilidade e intoxicação em organismos sensíveis, conforme exposto acima.

Na tentativa de observar a atividade da própolis em animais, já que *in vitro* a mesma tem demonstrado efetividade, este ensaio foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o perfil bioquímico sérico de coelhos, como forma de detectar alguma possível ação tóxica da mesma, bem como acompanhar o desempenho corporal dos animais, após o fornecimento de rações contendo diferentes quantidades de própolis.

Material e métodos

Local de instalação do apiário

Foram coletadas amostras de própolis de apiários dos municípios de Marília (Universidade de Marília - Unimar) e de Botucatu (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp, localizado na Fazenda Experimental Lageado), ambos no Estado de São Paulo.

Coleta de própolis

A própolis foi coletada de colônias de abelhas africanizadas *Apis mellifera* L., alojadas em colméias de madeira, modelo Langstroth.

A coleta foi realizada mediante a colocação de quadros extratores de própolis entre o ninho e a tampa das colméias, no período de agosto a dezembro de 1999. Assim que os espaços dos extratores foram preenchidos com própolis pelas abelhas, essa tampa foi raspada, colocada em sacos plásticos e armazenada ao abrigo da luz.

Preparo dos extratos alcoólicos de própolis

Foram preparadas tinturas de própolis da seguinte forma: a própolis foi pesada, triturada, colocada em uma vasilha de vidro e coberta com álcool etílico (90°

GL), a 30% (peso/peso). Essa vasilha foi tampada hermeticamente e mantida por 10 dias à temperatura ambiente, protegida da luz, sob agitação freqüente (Sforcin, 1996). Decorrido esse período, as soluções foram filtradas e armazenadas protegidas da luz.

Uma amostra do Extrato Alcoólico incorporado à ração foi enviada ao laboratório de Bromatologia da FMVZ para análise.

Determinações bioquímicas

Este ensaio foi realizado na Área de Produção de Coelhos da FMVZ/Unesp-Botucatu, Estado de São Paulo, utilizando-se 40 fêmeas jovens, da raça Norfolk 2000, *linhagem Botucatu*, com idade média de $97 \pm 4,18$ dias e peso médio de $3273,5 \pm 293,03$ kg.

Foram realizadas 2 coletas de sangue por animal, sendo uma antes e outra após o fornecimento de rações tratadas.

A coleta foi realizada utilizando-se agulha 30mmx7mm e seringa descartável de 3mL, sendo o sangue extraído das veias auriculares, colocado em tubos *vacutainer* e transportado ao Laboratório de Zoonoses Bacterianas e Fúngicas do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da FMVZ/Unesp-Botucatu, Estado de São Paulo.

O soro foi separado por meio de centrifugação do material a 3000 rpm, por 15 minutos, em centrífuga SORWALL NSF, e enviado ao Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Medicina - Unesp-Botucatu, Estado de Paraná, para determinação de glicose, de uréia, da albumina, da proteína total, da alanina aminotransferase (ALT, formalmente transaminase glutamato piruvato sérica, TGP), do aspartato aminotransferase (AST, formalmente transaminase glutamato oxalato sérica, TGO), da creatinina e de desidrogenase láctica (LDH).

Fornecimento de rações experimentais

O álcool e o Extrato Alcoólico de Própolis (EAP), nas diferentes concentrações descritas abaixo, foram incorporados às rações no misturador de Premix, antes da peletização das mesmas. Uma amostra do EAP foi enviada ao laboratório de Bromatologia da FMVZ para análise.

As rações foram preparadas e peletizadas na fábrica de rações da FMVZ e sua composição pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição percentual e química¹ da ração de coelhos utilizada (categoria de reprodutores).

Ingredientes	Porcentagem
--------------	-------------

Milho moído	30,00
Farelo de Soja	33,02
Farelo de Trigo	1,55
Feno de <i>Brachiaria decumbens</i>	27,53
Óleo de soja	2,99
Sal	0,89
Calcário	0,59
Fosfato bicálcico	2,73
Mistura mineral e vitamínica ²	0,70
Total	100,00
Energia Digestível (Kcal/kg)	2750
Proteína Bruta (%)	18,84
Fibra em Detergente Neutro (%)	27,22
Fibra em Detergente Ácido (%)	15,84
Ca (%)	1,10
P (%)	0,80
Metionina + Cistina	0,60

¹Composição química estimada com base nos valores tabelados dos alimentos.

²Composição do Premix Suprevit*: ácido fólico - 100mg; antioxidante - 40mg; cobre - 2400mg; coccidiostático - 6,6g; colina - 25g; ferro - 16.000mg; iodo - 200mg; manganês - 12.000mg; niacina - 6.000mg; selênio - 40 mg; vitamina A - 1.400.000 UI; vitamina B1 - 500mg; vitamina B12 - 2.500mg; vitamina B2 - 1.000mg; vitamina B6 - 400mg; vitamina D3 - 250.000 UI; vitamina E - 7.000mg; vitamina K3 - 400mg; zinco - 10.000mg; pantotenato de cálcio - 2.000mg; veículo q.s.p. 1.000g.

As rações experimentais foram fornecidas a partir de 04/02/2000. O período de quatro dias, até 08/02/2000, foi considerado de adaptação, não se considerando os dados de consumo nas análises estatísticas.

Os animais foram distribuídos casualmente em 5 tratamentos (8 repetições), de acordo com o tipo de ração:

- Tratamento 1: ração controle;
- Tratamento 2: álcool PA - 25,86mL/kg de ração;
- Tratamento 3: 8,62mL de Extrato Alcoólico de Própolis (EAP)/kg de ração - 1000 ppm ou 0,1% de Extrato Seco de Própolis (ESP);
- Tratamento 4: 17,24mL de EAP/kg de ração - 2000 ppm ou 0,2% de ESP.
- Tratamento 5: 25,86mL de EAP/kg de ração - 3000 ppm ou 0,3% de ESP.

O Extrato Alcoólico de Própolis foi preparado como descrito acima, porém a própolis bruta foi uma mistura daquelas obtidas nas regiões de Botucatu e de Marília. Quando o extrato estava pronto, foram tomadas 10 amostras de 10mL e colocadas em Beckers na estufa a 65°C por 72h e depois a 105°C, até que seus pesos secos se estabilizassem (aproximadamente 5 dias). A média das 10 amostras foi de 116mg de extrato seco por mililitro de Extrato Alcoólico. Os cálculos das quantidades de Extrato Alcoólico nos diferentes tratamentos foram feitos com base no peso do extrato seco. Sempre que for citado um tratamento com determinada proporção de Extrato Alcoólico de Própolis (0,1%, 0,2% ou 0,3%), subentende-se que essas proporções são referentes ao peso de extrato seco de própolis por quantidade de ração (peso/peso).

O álcool e o EAP, nas diferentes concentrações, foram incorporados às rações no misturador de Premix, antes da peletização.

As rações tratadas foram fornecidas do dia 1 de fevereiro ao dia 8 de março de 2000, totalizando 37

dias. Foram fornecidos 250g de ração por animal por dia, completando-se as sobras e, semanalmente, calculando-se o consumo pela diferença entre o fornecido e as sobras.

Foram realizadas pesagens semanais dos animais.

Análises estatísticas

Em função de apresentar critérios adequados de normalidade e de homogeneidade de variâncias (Testes de Lilliefors e Bartlett), os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias de tratamentos, após o fornecimento das rações tratadas, assim como as médias de épocas em cada tratamento, foram comparadas pelos testes de Tukey e Scott-Knott, com 5% de probabilidade.

O delineamento foi em blocos casualizado, com números iguais de repetições por tratamento, de acordo com a variável analisada.

Resultados e discussão

Os resultados da análise bromatológica do Extrato Alcoólico de Própolis incorporado à ração foram os seguintes: em 100% de matéria seca: 17,84% de matéria seca, 1% de proteína bruta, 96,06% de extrato etéreo e 0,42% de minerais.

Perfil bioquímico

As médias das análises das determinações bioquímicas obtidas para cada tratamento, os desvios-padrão, em cada parâmetro analisado, bem como os resultados do teste de Tukey, encontram-se na Tabela 2.

Aminotransferases (AST e ALT)

As análises de variância entre os períodos (antes e após o fornecimento das rações tratadas), considerando-se cada tratamento separadamente, indicaram reduções significativas dos níveis de AST nos tratamentos com 0,2% e 0,3% de EAP ($p < 0,0042$ e $p < 0,0237$, respectivamente). Os testes de Tukey confirmaram as diferenças entre as médias ($p < 0,01$ e $p < 0,05$, respectivamente para os 2 tratamentos), após o fornecimento das rações aos animais. Essa redução entre as épocas também foi significativa ($p < 0,018$) nos animais do grupo controle, porém não pelo teste de Tukey.

Tabela 2. Perfil bioquímico: médias e desvios-padrão dos níveis de transaminases (AST e ALT) e de desidrogenase lática (DHL) séricos de coelhos alimentados com rações contendo diferentes quantidades de Extrato Alcoólico de Própolis (0,1; 0,2 e 0,3%), álcool e controle.

Tratamento*		AST (U/litro)		ALT (U/litro)		DHL (U/litro)	
		P1	P2	P1	P2	P1	P2
Controle	\bar{X}	66,3 ^a	32,5 ^{bA}	30,5 ^a	19,0 ^b	173,3	218,9
	S _x	2,67	0,71	5,12	2,62	70,3	110,23
Álcool	\bar{X}	48,8	40,0 ^{AB}	21,8	19,4	146,0	197,1
	S _x	1,46	1,07	5,73	7,56	31,69	88,14

0,1% EAP	\bar{X}	46,3	42,5 ^{AB}	24,6	23,1	180,4 ^a	246,8 ^b
	S _x	1,3	1,03	8,88	10,43	41,87	40,72
0,2% EAP	\bar{X}	73,8 ^a	46,3 ^{bAB}	26,4	26,0	236,4	249,4
	S _x	81,3 ^a	50,0 ^{bb}	26,9	22,6	257,8	285,0
0,3% EAP	\bar{X}	3,27	1,6	9,37	5,04	65,22	76,02
	S _x	63,3	42,3	26,0	22,0	198,6	239,4

*parâmetros estatísticos: \bar{X} = média; S_x = desvio-padrão; P1 - período anterior ao fornecimento das rações tratadas; P2 - período posterior ao fornecimento das rações tratadas; Médias significativamente diferentes entre os períodos, em cada tratamento, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$ e $0,01$), estão indicadas por letras maiúsculas diferentes, na mesma linha; Médias significativamente diferentes entre os períodos, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), estão indicadas por letras minúsculas diferentes, na mesma linha; Médias significativamente diferentes entre os tratamentos, no período 2 (após o fornecimento das rações), pelo teste de Tukey ($P < 0,05$ e $0,01$), estão indicadas por letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna.

A análise de variância entre os tratamentos após o fornecimento das rações não indicou diferenças significativas ($p < 0,06$), porém o teste de Tukey indicou que a média de AST do tratamento com 0,3% de EAP foi mais elevada ($p < 0,05$) que a do grupo controle, no entanto pode-se observar que essa tendência já existia antes do fornecimento das rações.

De acordo com McLaughlin e Fish (1994), essa enzima está presente no fígado, no coração, na musculatura esquelética, nos rins e no pâncreas dos coelhos e seu aumento no plasma sugere danos celulares em um ou mais desses tecidos. Porém, quase todos os níveis séricos dessa enzima observados nos coelhos do experimento estão abaixo daquele citado por esses mesmos autores para fêmeas normais, em torno de 68,1 U/litro, exceto para os animais dos tratamentos com 0,2% e 0,3% de própolis, antes do fornecimento das rações. Os altos desvios-padrão dentro de cada tratamento são indicativos de alta variabilidade entre os animais.

Também para a alanina aminotransferase (ALT), a análise de variância e o teste de Tukey indicaram que houve redução significativa ($p < 0,0033$ e $p < 0,01$, respectivamente, para os dois testes estatísticos) nos níveis dessa enzima do primeiro para o segundo período de amostragem, somente nos animais do grupo controle, não sendo portanto essa diferença atribuída a tratamento algum, semelhante ao observado para a outra transaminase analisada.

A ALT é considerada uma enzima específica do fígado e, nos coelhos, apresenta-se em altas concentrações nos músculos cardíacos. Sua elevação no plasma é um bom indicador de injúrias nos hepatócitos (McLaughlin e Fish, 1994), porém os níveis observados nesses animais estão baixos em relação ao citado por esses autores, de 62,5 U/litro para as coelhas.

Com base nas análises estatísticas e na literatura, os níveis das enzimas AST e ALT no soro dos coelhos não indicaram alterações significativas em suas atividades específicas, após a administração de extratos alcoólicos de própolis ou de álcool. Esses dados reforçam os de Sforcin *et al.* (1995) e Said *et al.* (1999), analisando ALT, e Sforcin (1996), para AST e ALT, que também não observaram diferenças nos níveis das enzimas em questão após a administração de própolis a ratos.

Desidrogenase láctica (LDH)

Esta enzima está presente no citoplasma da maioria das células do corpo, onde ocorre em altas concentrações em relação aos níveis normais do plasma. Alterações nesses níveis podem indicar danos nos tecidos, principalmente cardíacos.

Neste trabalho, como pode ser observado pela Tabela 3, não houve diferença significativa entre a primeira e a segunda coleta, antes e após o fornecimento das rações, respectivamente, para a maioria dos tratamentos, exceto nos animais que receberam ração com 0,1% de EAP ($P < 0,004$) que apresentaram uma elevação significativa, com $p < 0,01$ pelo teste de Tukey, embora todos os tratamentos, inclusive o grupo controle, tenham apresentado essa tendência.

A análise de variância entre os tratamentos, após o fornecimento das rações, não indicou diferenças significativas nos níveis séricos dessa enzima. Observando-se esses níveis nos animais, antes de receberem as rações tratadas, nota-se as mesmas tendências. Assim como foi discutido para os níveis de AST, os altos desvios-padrão observados, principalmente no grupo controle, indicam uma alta variabilidade entre os animais, devido a outros fatores que não os tratamentos fornecidos.

Esses dados confirmam os obtidos por Sforzin (1996) em ratos, os quais apontam que, após o fornecimento de própolis a ratos, as atividades específicas da LDH permaneceram inalteradas. Os níveis foram altos em relação ao citado por McLaughlin e Fish (1994) para coelhas (78,5 U/litro), provavelmente devido a diferenças no manejo de coleta de sangue, o que, de acordo com esses autores, pode provocar elevações nesses níveis, já que essa discrepância pode ser verificada inclusive com relação aos animais do grupo controle.

Tabela 3. Perfil bioquímico: médias e desvios-padrão dos níveis séricos de albumina, de proteína total, de glicose, de uréia e de creatinina de coelhos alimentados com rações contendo diferentes quantidades de Extrato Alcoólico de Própolis (0,1%, 0,2% e 0,3%), álcool e controle. Cada valor expressa a média de 8 repetições.

Tratamento	Variáveis bioquímicas analisadas (mg/dl)										
	Albumina		Proteínas totais		Glicose		Uréia		Creatina		
	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	
Controle	\bar{X}	3,9	3,7 ^B	5,6	5,5 ^B	122,9 ^a	105,7 ^{ab}	49,0 ^a	53,9 ^b	1,3	1,24
	S _x	0,17	0,25	0,6	0,59	8,27	6,36	3,21	4,26	0,07	0,1
Álcool	\bar{X}	3,8 ^a	3,9 ^{ab}	5,4 ^a	5,8 ^{ab}	114,7	116,9 ^A	49,0 ^a	53,1 ^b	1,25	1,24
	S _x	0,19	0,13	0,31	0,18	11,84	12,21	4,95	4,7	0,09	0,1
0,1%	\bar{X}	3,8 ^a	4,0 ^{ba}	5,5 ^a	5,7 ^{ab}	120,8	110,9 ^{ab}	48,4 ^a	54,4 ^b	1,25	1,25
	S _x	0,24	0,12	0,27	0,25	11,97	11,8	2,5	6,04	,15	0,19
0,2%	\bar{X}	3,9	4,0 ^A	5,8	5,7 ^{AB}	11,6	106,3 ^{ab}	53,5	57,5	1,3	1,29
	S _x	0,23	0,06	0,34	0,07	8,0	11,57	9,05	3,55	0,13	0,12
0,3%	\bar{X}	3,8 ^a	4,0 ^{ba}	5,7 ^a	6,0 ^{ba}	99,6	101,5 ^B	52,3	57,5	1,21	1,29
	S _x	0,16	0,09	0,27	0,3	15,81	12,41	5,67	5,10	0,19	0,08
Médias		3,85	3,95	5,57	5,75	113,9	108,2	50,5	55,3	1,26	1,26

*parâmetros estatísticos: X = média; X_s = desvio-padrão; P1 - período anterior ao fornecimento das rações tratadas; P2 - período posterior ao fornecimento das rações tratadas; Médias significativamente diferentes entre os períodos, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), estão indicadas por letras minúsculas diferentes, na mesma linha; Médias significativamente diferentes entre os tratamentos, no período 2 (após o fornecimento das rações), pelo teste de Tukey ($p < 0,05$ e $0,01$), estão indicadas por letras maiúsculas

diferentes, na mesma coluna.

Albumina

As médias e os desvios-padrão dos níveis séricos de albumina podem ser observados na Tabela 3.

Quando as médias das épocas foram analisadas separadamente em cada tratamento, os animais que receberam rações com 0,1% e 0,3% de EAP e com álcool, apresentaram uma elevação ($p < 0,034$, $p < 0,016$ e $p < 0,0042$, respectivamente para cada tratamento), após o fornecimento de rações tratadas aos coelhos, sendo as diferenças entre as médias significativas pelo teste de Tukey, a 5,5% e 1%, respectivamente. Os animais do grupo controle foram os únicos a apresentar tendência de redução, enquanto os que receberam rações tratadas tenderam a apresentar elevações nesses níveis.

A análise de variância entre os tratamentos, após o fornecimento das rações, indicou diferenças ($p < 0,0004$) entre os animais que receberam os 3 níveis de EAP em relação aos do grupo controle, sendo as diferenças entre essas médias confirmadas pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). Porém, as diferenças entre blocos (animais) também foram significativas ($p < 0,04$) pela análise de variância, indicando a grande variabilidade entre os animais, independentemente do tratamento.

Os níveis observados nesses animais estão próximos aos normais em coelhos, que, segundo McLaughlin e Fish (1994), estão em torno de 3,04 miligramas/decilitro para fêmeas (80 animais analisados) e até 3,9 miligramas/decilitro em machos (81 animais analisados). Geralmente, de acordo com os autores, reduções nos níveis de proteína total e albumina séricos podem estar associados com doenças hepáticas ou renais.

Proteína total

Os níveis de proteína sérica total (Tabela 3) apresentaram tendência à elevação para todos os tratamentos em conjunto, da primeira para a segunda amostragem, respectivamente antes e após o fornecimento das rações tratadas, sendo essa diferença significativa nos tratamentos que receberam 0,1, 0,3 e álcool ($p < 0,045$, $p < 0,019$ e $p < 0,033$, respectivamente para cada tratamento), e também pelo testes de Tukey ($p < 0,05$) para os 3 tratamentos citados.

A análise de variância entre os tratamentos, após o fornecimento das rações, indicou diferenças ($p < 0,0124$) entre eles e o teste de Tukey indicou que os níveis de proteína total foram mais elevados ($p < 0,01$), nessa amostragem, nos animais que receberam 0,3% de EAP em relação aos do grupo controle.

Segundo McLaughlin e Fish (1994), a redução na albumina ou proteína total pode estar associada a doenças renais ou hepáticas. Citam também que os

níveis séricos de proteína total são geralmente elevados por desidratação, hipertermia e choque.

Os valores observados nesse experimento (média de 5,66mg/dL) foram ligeiramente inferiores aos observados por Barbosa *et al.* (1992a). De acordo com os mesmos autores, os níveis de proteína total, avaliados em coelhos de 70 dias de idade, foram maiores ($p < 0,05$) durante o inverno (média de 6,88mg/dL) em relação aos observados no verão (média 6,04mg/dL), provavelmente por uma alteração nas funções metabólicas, com o objetivo de manter a homeostase orgânica.

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

Glicose

Indicadora do metabolismo de carboidratos, seus níveis no sangue podem ser alterados por fatores genéticos e ambientais, como idade, temperatura corporal, alimentação e alguns medicamentos, entre outros, de acordo com McLaughlin e Fish (1994).

Os níveis de glicose dos animais, no presente trabalho (Tabela 3), apresentaram uma redução significativa ($p < 0,0005$) entre a primeira e a segunda coleta somente nos animais do grupo controle, com diferenças entre as médias significativas a 1% pelo teste de Tukey. Comparando-se as duas amostragens, antes e após o fornecimento das rações, respectivamente, verifica-se uma tendência dos animais que receberam 0,3% de EAP e dos que receberam álcool na ração a apresentarem elevação nos níveis de glicose, enquanto os animais do grupo controle e dos grupos que receberam própolis em níveis menores, a apresentarem reduções. Essas elevações nos níveis de glicose dos tratamentos 4 e 5 podem sugerir algum efeito do álcool, uma vez que nesses tratamentos foram utilizadas as maiores quantidades (25,86mL/kg de ração, em ambos os tratamentos) em relação ao grupo controle e aos tratamentos 2 e 3 (8,62 e 17,24mL/kg de ração, respectivamente). Tal elevação poderia ser devida à inibição no metabolismo de carboidratos, provocada por alguma lesão hepática. Porém, embora tenham apresentado algumas alterações, encontram-se dentro dos limites de glicose no sangue de coelhos, citados por McLaughlin e Fish (1994), com concentração média de $127 \pm 14,41$ mg por decilitro, utilizando 80 fêmeas.

A análise de variância dos níveis de glicose entre os tratamentos, após o fornecimento das rações, indicou diferenças significativas ($p < 0,0335$) entre eles, e o teste de Tukey indicou níveis mais elevados nos animais que receberam álcool na ração em relação aos que receberam 0,3% de EAP ($p < 0,05$). A diferença entre blocos (animais) também foi significativa ($p < 0,0234$), sugerindo grande variabilidade na característica.

Hollands *et al.* (1991) e Sforcin (1996) não observaram alterações nos níveis sanguíneos de glicose em ratos tratados, porém, em ambos os experimentos, os autores trabalharam com soluções hidroalcoólicas de própolis.

Uréia e creatinina

Os níveis de uréia e creatinina no sangue podem ser bons indicadores da função renal em coelhos, de acordo com McLaughlin e Fish (1994), porém são insensíveis na detecção de danos renais discretos, sendo que seus valores permanecem normais, mesmo que 50-75% dessa função seja perdida. A concentração de uréia no sangue reflete sua taxa de produção durante o catabolismo de aminoácidos e sua excreção pelo rim, enquanto os níveis de creatinina no sangue resultam do balanço entre sua produção no músculo, resultado do catabolismo da creatina, e sua excreção renal (Sforcin, 1996).

Os níveis de uréia sérica dos coelhos apresentaram uma elevação significativa entre a primeira e a segunda coletas, nos animais do grupo controle e nos animais que receberam 0,1% de EAP e álcool nas rações ($p < 0,0018$, $p < 0,025$ e $p < 0,04$, respectivamente para cada tratamento), e os testes de Tukey foram significativos a 1,5% e 5%, respectivamente.

A análise de variância entre os tratamentos, após o fornecimento das rações, não indicou diferenças significativas entre eles.

Os níveis séricos de creatinina não apresentaram diferenças significativas entre as duas coletas e nem entre os tratamentos após o fornecimento das rações. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Sforcin (1996) que também não verificou alterações nesses parâmetros, reforçando a ausência de injúrias renais drásticas mediante a administração de própolis.

Os níveis de uréia e creatinina observados foram pouco mais elevados que os obtidos por Barbosa *et al.* (1992a), no período do verão, de $43,18 \pm 1,61$ mg/dL e $1,39 \pm 0,03$ mg/dL, respectivamente, e ao citado por McLaughlin e Fish (1994), para fêmeas ($37,47 \pm 9,29$ mg/dL).

Hollands *et al.* (1991) verificaram níveis de uréia mais elevados em ratos que receberam álcool (33,5mg/dL) e extrato alcoólico de própolis (15,5mg/dL), em relação aos do grupo controle (10,5mg/dL), atribuindo esse nível superior nos animais que receberam álcool puro ao efeito hepatoprotetor da própolis, uma vez que as quantidades de álcool foram iguais para ambos os tratamentos e que a elevação nos níveis de uréia são observados em casos de alcoolismo. Esse efeito hepatoprotetor foi confirmado por Banskota *et al.* (2000).

Desempenho das coelhas em recría

Os dados de desempenho dos animais durante o

período experimental são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Médias e desvios-padrão dos dados do Consumo Médio Diário de Ração (CMDR), Ganho de Peso Médio Diário (GPMD) e Conversão Alimentar (CA) de coelhos alimentados com rações com diferentes quantidades de Extrato Alcoólico de Própolis (calculadas com base no Extrato Seco de Própolis) e com Álcool (90%).

Tratamentos	Características		
	CMDR (g/animal)	GPMD (g/animal)	CA
Controle	86,96 ± 44,46	13,94 ab ± 9,86	9,86 ± 24,39
Álcool	87,37 ± 37,42	12,22 ab ± 7,73	11,20 ± 14,53
0,1% ESP	96,08 ± 46,00	15,57 a ± 9,39	7,33 ± 15,75
0,2% ESP	104,72 ± 34,95	12,43 ab ± 7,20	9,12 ± 6,90
0,3% ESP	85,88 ± 23,01	10,05 b ± 6,74	10,37 ± 10,79
Média	92,20	12,84	9,57

Obs: Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna, diferem entre si, pelo teste de Tukey (P < 0,05).

O consumo médio de ração por dia (CMDR) não diferiu significativamente entre os animais dos diferentes tratamentos pelo teste F, apresentando diferença significativa (p < 0.0001) entre as coletas (5 semanas). O teste Scott e Knott indicou que o consumo foi significativamente inferior nas 2 últimas semanas (71,44 e 73,38g/dia, respectivamente) em relação às 3 primeiras (97,94, 103.80 e 114.43g/dia, respectivamente), para todos os tratamentos conjuntamente. As diferenças entre as coletas não foram testadas em cada tratamento, pois a interação entre tratamentos e coleta não foi significativa, mas o comportamento de cada tratamento no tempo pode ser observado na Figura 1.

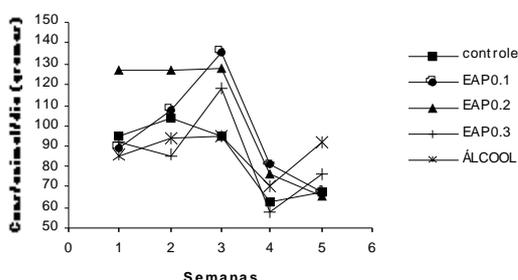


Figura 1. Perfil do consumo médio diário, por animal, de rações com diferentes tratamentos (controle, 0,1% de Extrato Alcoólico de Própolis - EAP, 0,2% de EAP, 0,3% de EAP e álcool), em relação ao tempo.

O consumo médio diário geral foi semelhante ao observado por Furlan *et al.* (1994), para coelhos da raça Nova Zelândia Branco (78,38g/dia), no período de 70 a 90 dias de idade. Embora as diferenças entre tratamentos e a regressão polinomial entre eles não tenham sido significativas, pode-se observar a tendência de aumento de consumo até o nível intermediário de própolis e uma redução no nível mais elevado. Pode-se inferir sobre a possibilidade de uma diminuição na palatabilidade da ração.

A análise de regressão polinomial também não foi

significativa entre os períodos e nem para a interação entre tratamentos e períodos. A tendência observada na Figura 1 para tratamento com 0,2% de ESP pôde ser percebida na prática, em um pré-ensaio, no qual foi observada uma maior atratividade dessa ração logo que foi oferecida aos animais.

Quanto à redução observada nas duas últimas semanas para todos os tratamentos, embora os fatores ambientais climatológicos não tenham sido controlados, como o experimento foi conduzido durante o verão, podem ter ocorrido elevações de temperatura, diminuindo a ingestão de alimento. De acordo com Barbosa *et al.* (1992b), em condições fisiológicas normais, o coelho mantém sua temperatura corporal (38,5°C). Caso a temperatura ambiente se eleve, o consumo de ração diminui sempre na ordem de 1% a 2% para cada grau acima de 27 °C a 28°C, temperatura considerada limite pela maioria dos autores.

Essa redução verificada no consumo de ração, provavelmente provocada pelo estresse calórico, pode ter influenciado na elevação nos níveis de uréia e redução nos de glicose séricos discutidos acima, confirmando o que foi observado por Barbosa *et al.* (1992b).

O ganho de peso médio diário (GPMD) diferiu (p < 0,0072) entre os tratamentos, sendo que o teste de Tukey indicou que os maiores ganhos foram obtidos pelos animais que receberam rações com 0,1% de ESP e os menores pelos que receberam rações com 0,3% de ESP, não diferindo dos outros tratamentos. A média geral do ganho de peso médio diário por animal (12,79 gramas) foi próximo ao observado por Furlan *et al.* (1994), de 14,45g, utilizando coelhos no período de 70 a 90 dias de idade, principalmente se for considerado que a taxa de crescimento é muito inferior (em média) em coelhos após os 90 dias de idade.

A análise de regressão polinomial entre os níveis de própolis (0%, 0,1%, 0,2% e 0,3%), excluindo o álcool, indicou que o comportamento das médias de ganho de peso pode ser representado por uma equação quadrática:

$$Y = 16,37 + 3,02 X - 1,34 X^2 \quad F = 12.18 \quad \text{e} \quad R^2 = 0,9997$$

Em que:

Y = ganho de peso diário de cada animal;

X = níveis de própolis;

Do grupo controle para o primeiro nível de própolis houve um aumento do ganho de peso, tal qual a tendência observada para o consumo de ração. Porém, conforme os níveis se elevaram nas rações, foi observada uma relação inversa no ganho de peso.

Tanto os níveis de AST como os de glicose apresentaram-se ligeiramente alterados nos animais do tratamento com maior nível de própolis (0,3%), diferindo significativamente dos animais que receberam tratamento com menor nível de própolis (0,1%). Essas alterações, embora discretas, podem

sugerir alguma ligeira disfunção hepática provocada pela concentração mais elevada de ESP. Entretanto, uma vez que essas diferenças já foram detectadas antes do fornecimento das rações, para ambos os parâmetros bioquímicos, podem não estar relacionadas ao fornecimento de própolis e serem intrínsecas aos animais dos respectivos grupos, mas podem ter influenciado o aproveitamento das rações pelos mesmos, refletindo em menor e maior ganho de peso, respectivamente.

Hollands *et al.* (1991) também observaram maiores valores nos níveis de uréia no sangue de animais que receberam própolis e álcool, sendo superior no segundo, e sugeriram um efeito hepatoprotetor da própolis. Porém, os autores não verificaram alterações significativas nos ganhos de peso dos ratos. No presente trabalho, não foram observadas diferenças significativas nos níveis de uréia dos animais após receberem rações com álcool, em relação aos outros tratamentos, porém o ganho de peso desses animais também foi pequeno, embora não tenha diferido significativamente dos outros tratamentos. Somente os níveis de glicose dos animais alimentados com rações com álcool e com 0,3% de ESP (maior nível alcoólico que as demais) apresentaram uma ligeira elevação, podendo indicar alguma disfunção hepática, como já foi discutido anteriormente.

Quanto aos períodos, houve diferença significativa ($p < 0,0001$) entre os tratamentos, tendo sido as diferenças entre as médias indicadas pelo teste Scott e Knott. O ganho de peso foi decrescente da primeira à última amostragem, como pode ser observado pela Figura 2, para todos os tratamentos.

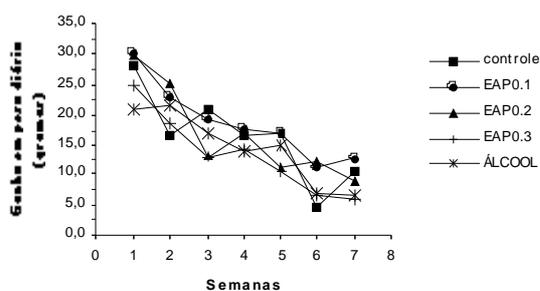


Figura 2. Perfil do ganho médio de peso diário, por animal, alimentado com rações com diferentes tratamentos (controle, 0,1% de Extrato Alcoólico de Própolis - EAP, 0,2% de EAP, 0,3% de EAP e álcool), em relação ao tempo.

Embora não tenha havido interação significativa entre períodos e tratamentos, pode se observar as tendências obtidas para cada um deles. O ganho de peso dos animais, nos primeiros 4 dias do experimento, apresentou uma redução, exceto para os animais do grupo controle, sendo esse período considerado de adaptação. Observa-se que esta

redução foi maior nos animais dos tratamentos com maiores níveis de própolis, sendo que para o maior nível, os animais ganharam menor peso até o final do experimento, juntamente com os que só receberam álcool na ração. Os animais do nível intermediário recuperaram em parte esse ganho e, como se observa pela Figura 3, apresentaram pesos finais superiores aos demais tratamentos, seguido pelos animais do tratamento com 0,1% de ESP, os quais mantiveram seus ganhos sempre mais elevados em relação aos demais. Observa-se também que, nos períodos correspondentes, de maneira geral para todos os tratamentos, os dados de ganho de peso e de consumo tiveram os mesmos comportamentos.

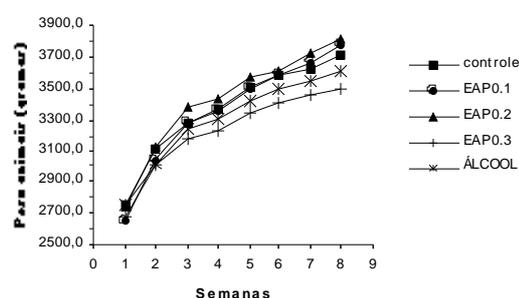


Figura 3. Perfil do peso médio dos animais alimentados com rações com diferentes tratamentos (controle, 0,1% de Extrato Alcoólico de Própolis - EAP, 0,2% de EAP, 0,3% de EAP e álcool), em relação ao tempo.

Para os animais que receberam álcool nas rações, embora tenham apresentado um ligeiro aumento no consumo com o início do fornecimento, com menores alterações ao longo do tempo que os dos tratamentos com própolis, e sendo superior no final do período, essa tendência não foi diretamente relacionada ao ganho de peso.

Embora não tenham sido encontradas diferenças significativas, os valores da conversão alimentar apresentaram-se relativamente melhores em animais alimentados com as rações controle e com 0,1% de ESP, e piores para aqueles alimentados com rações contendo 0,3% de própolis. Os desvios-padrão estimados para as variáveis discutidas foram altos, indicando alta variabilidade das mesmas entre os animais, porém, não devido às fontes de variação controladas.

As conversões alimentares observadas foram altas em relação àquelas obtidas por Furlan *et al.* (1994) para animais, machos e fêmeas, na fase final de crescimento, de 70 a 90 dias, com média de $5,74 \pm 0,23$, provavelmente por serem fêmeas mais velhas.

De maneira geral, as tendências observadas indicam que a adição de própolis em pequenas quantidades à ração melhorou o desempenho dos animais, prejudicando o mesmo quando adicionada em níveis mais elevados.

Esses dados não estão de acordo com os observados por Scapinello *et al.* (1998), estudando o desempenho de coelhos que receberam solução hidroalcoólica de própolis (SHP) e robenidina (coccidiostático), pois eles concluíram que a inclusão de SHP prejudicou o desempenho dos coelhos, tanto no período de 40 a 70 dias de idade, como no total do experimento de 40 a 90 dias de idade. Também observaram que o uso de robenidina permitiu um melhor desempenho dos animais do que do uso de SHP. Esses autores, entretanto, forneceram a SHP na água e a robenidina na ração. Além das diferenças nos fornecimentos dos tratamentos, os níveis de extrato resinoso na água foram muito baixos, já que a solução hidroalcoólica de própolis ainda foi adicionada à água, e a robenidina, que é o princípio ativo, foi acrescentada em maiores quantidades à ração. A quantidade de álcool do tratamento “placebo” (2,2mL por litro de água, ou seja, 0,22%) também foi bem superior em relação ao tratamento que conteve o maior nível de SHP (0,064%), fator que pode ter interferido no consumo da ração, pois o álcool pode ter funcionado como estimulante do apetite, superestimando os resultados observados (maiores nos animais desse grupo). Por outro lado, Dierckx e Funari (1999) também não observaram diferenças significativas para ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar em leitões que receberam rações com diferentes níveis de extrato alcoólico de própolis (0,05%, 0,15% e 0,45%), um tratamento sem própolis, sem coccidiostático e promotor de crescimento (controle negativo) e um tratamento com própolis e sem os outros dois aditivos (controle positivo). Os autores observaram tendência de pior desempenho produtivo dos animais do grupo controle negativo.

Uma vez que este experimento teve por objetivo principal verificar possíveis sinais de intoxicação nos coelhos, mediante o fornecimento de própolis, e conseqüentemente, o que poderia refletir em termos de desempenho corporal, e que, até os níveis testados, esse fornecimento foi positivo, fica a sugestão de trabalhos que possam testá-lo em rações para coelhos de outras categorias, talvez também como promotor de crescimento, pelas ações biológicas que possui.

Conclusão

A adição de própolis em pequenas quantidades à ração (0,1% de Extrato Seco de Própolis) demonstrou-se efetiva sobre o desempenho dos animais, tendo melhorado o ganho de peso dos mesmos e sua conversão alimentar.

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.

Referências

- BANSKOTA, A. H. *et al.* Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. *J. Ethnopharmacol.*, Sharmon, v. 72, p. 239-246, 2000.
- BARBOSA, R. R. *et al.* Desempenho de coelhos da raça Nova Zelândia Branco, criados em diferentes tipos de instalações durante as estações do verão e do inverno. 3. Constituintes bioquímicos. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v.21, p. 797-806, 1992a.
- BARBOSA, R. R. *et al.* Desempenho de coelhos da raça Nova Zelândia Branco, criados em diferentes tipos de instalações durante as estações do verão e do inverno. 1. Temperatura corporal, frequência respiratória, consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v.21, p.779-786, 1992b.
- DIERCKX, S. M. A. G.; FUNARI, S. R. C. Uso da própolis na alimentação de leitões desmamados como aditivo e na prevenção à diarreia. *Archivo Latinoamericano de Producción Animal*, v.7: p. 109-116, 1999.
- FUMERO, A. P. *et al.* Diarrea infecciosa del ternero: Resultados preliminares de los tratamientos con NB-1 (una modificación de CNB-R5). In: ASIS, M. *Investigaciones cubanas sobre el propoleo: Memorias del 1º Simposio sobre los efectos del propoleo en la salud humana y animal, 1988.* Varadero. Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinaria, Cuba, 1989, p. 150-151.
- FURLAN, A. C. *et al.* Exigência nutricional de fósforo de coelhos Nova Zelândia Branco nas fases de 35 a 70 e de 70 a 90 dias de idade. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, 23, p. 841-851, 1994.
- GARCIA, M.; HERNANDEZ, R. Aplicación de propolina en las enteritis en terneros. In: ASIS, M. *Investigaciones cubanas sobre el propoleo: Memorias del 1º Simposio sobre los efectos del propoleo en la salud humana y animal, 1988.* Varadero. Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinaria, Cuba, 1989, p.108-12.
- GHISALBERTI, E. L. *et al.* Potencial drugs from propolis. In: FRIGERIO, A.; GHISALBERTI, E.L. *Mass spectrometry in drugs . metabolism.* 1. ed. New York and London: Plenum Press, 1977, p.111-29.
- GHISALBERTI, E. L. Propolis: a review. *Bee World*, Gerards Cross, v. 60, p. 59-84, 1979.
- GRANGE, J. M.; DAVEY, R. W. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J. R. Soc. Med.*, London, v. 83, p. 159-60, 1990.
- HOLLANDS, I. *et al.* Efficacy of propolis against infection by intestinal *Eimeria* in rabbits. *Rev. Cubana Cienc. Vet.*, Habana, v. 15, p. 157-63, 1984.
- HOLLANDS, I. *et al.* Comparative analysis of action of propolis, sulphaquinoxalina and sulphamethazina in rabbits whith coccidiosis. *Rev. Cubana Cienc. Vet.*, Habana, v. 19, p. 99-104, 1988.
- HOLLANDS, I. *et al.* El propoleo y sus posibilidades en el tratamiento de la coccidiosis del conejo. In: ASIS, M. *Investigaciones cubanas sobre el propoleo: Memorias del 1º Simposio sobre los efectos del propoleo en la salud humana y animal, 1988.* Varadero. Matanzas: Consejo

- Científico del Instituto de Medicina Veterinaria, Cuba, 1989, p.100-108.
- HOLLANDS, I. *et al.* Demonstración ultraestructural del efecto citohepatoprotector del propoleos. *Rev. Cubana Cienc. Vet.*, Habana, v. 22, p. 85-90, 1991.
- MACHADO, J. M. *et al.* Acción del propoleo contra algunos virus de los animales. In: ASIS, M. *Investigaciones cubanas sobre el propoleo: Memorias del 1º Simposio sobre los efectos del propoleo en la salud humana y animal, 1988.* Varadero. Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinaria, Cuba, 1989, p. 147-148.
- MARCUCCI, M. C. Propolis, chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, Paris, v. 26, p. 83-99, 1995.
- MCLAUGHLIN, R. M.; FISH, R. E. Clinical Biochemistry and Hematology. In: MANNING, P. J. *et al. The biology of the laboratory rabbit.* Academic Press, 1994, p. 111-125.
- MOURA, L. P. P. *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. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 27, p. 325-30, 1998.
- NIEVA MORENO, M. I. *et al.* Screening of antibacterial activity of Aimacha del Valle (Tucumán, Argentina) propolis. *J. Ethnopharmacol.*, Sharmon, v. 68, p. 97-102, 1999.
- PAULINO, N. Reação de hipersensibilidade à própolis. *Revista da Universidade de Franca*, Franca, v. 7, p. 16, 1999.
- PEREZ, I. *et al.* Influencia de las dosis parenteral de propoleo sobre la respuesta imune (RES), en conejos. In: ASIS, M. *Investigaciones cubanas sobre el propoleo: Memorias del 1º Simposio sobre los efectos del propoleo en la salud humana y animal, 1988.* Varadero. Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinaria, Cuba, 1989, p. 230-3.
- RODRIGUEZ, R. *et al.* Neumonía del ternero: efecto clínico de los antibioticos NB-2, variante del CNB-A17, y la oximicina comercial. In: ASIS, M. *Investigaciones cubanas sobre el propoleo: Memorias del 1º Simposio sobre los efectos del propoleo en la salud humana y animal, 1988.* Varadero. Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinaria, Cuba, 1989, p. 149-150.
- ROJAS, N. M.; LUGO, S. Efecto antifungico del propoleo sobre cepas del género Candida. In: ASIS, M. *Investigaciones cubanas sobre el propoleo: Memorias del 1º Simposio sobre los efectos del propoleo en la salud humana y animal, 1988.* Varadero. Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinaria, Cuba, 1989, p.42-54.
- SAID, R. A. *et al.* Atividade hepatoprotetora do extrato aquoso da própolis, nos quadros de insuficiência hepática fulminante induzidos por acetaminofem, em camundongos. *Revista da Universidade de Franca*, Franca, v. 7, p. 57, 1999.
- SANCHEZ, M.; GALARDI, R. Influencia del propoleo en la conversión de lechones destetados. In: ASIS, M. *Investigaciones cubanas sobre el propoleo: Memorias del 1º Simposio sobre los efectos del propoleo en la salud humana y animal, 1988.* Varadero. Matanzas: Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinaria, Cuba, 1989, p. 211-214.
- SCAPINELLO, C. *et al.* Efeito da solução hidroalcoólica de própolis e robenidina no desempenho de coelhos em crescimento. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 27, p. 150-156, 1998.
- SHELLER, S. *et al.* Biological properties and clinical application of propolis. VII. Investigation of immunogenic properties of ethanol extrat of propolis. *Arzneimittel-Forschung Drug Research*, Aulendorf, v. 27, p. 12, 1977.
- SFORCIN, J. M. *Efeito da sazonalidade sobre as propriedades imunomoduladora e antibacteriana da própolis e perfil bioquímico dos ratos.* 1996. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1996.
- SFORCIN, J. M. *et al.* Serum biochemical determinations of propolis-treated rats. *J. Venom. Anim. Toxins*, Botucatu, v. 4, p. 31-7, 1995.
- TONHASCA, J. G. *Utilização da própolis (pasta e solução) no tratamento curativo da pododermite necrótica em ovinos.* 1988. Trabalho de Graduação (Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1988.

Received on September 03, 2003.

Accepted on January 29, 2004.