

**Ácido undecilênico de óleo de mamona como antisséptico em cães***Undecilenic acid of mamone oil as antiseptic in dogs*

Allysson Vinícius Benevides Marinho¹, Nilza Dutra Alves², Francisco Marlon Carneiro Feijó³, Gardênia S. de Oliveira Rodrigues^{*4}, Caio Sérgio Santos⁵, Andrea Sant'Anna⁶

RESUMO: O presente estudo teve como objetivo avaliar a possibilidade do uso do ácido undecilênico, extraído a partir do óleo de mamona (*Ricinus communis*), como antisséptico em cães (*Canis lupus familiaris*). Para tanto, foi utilizado um protótipo de esteira, fabricada com a resina da mamona, coberta com tapete adesivo impregnado com o ácido, sobre o qual os animais do estudo caminhavam. O trabalho foi desenvolvido com 54 cães e as amostras dos suabes dos coxins foram coletadas dos membros anteriores direito (controle) e esquerdo (teste), sendo que as amostras controle e teste foram colhidas, respectivamente, antes e depois da utilização da esteira. Após a coleta, os suabes eram acondicionados em caixas isotérmicas com gelo reciclável e encaminhados para processamento no Laboratório de Microbiologia Veterinária. Após período de incubação a 37°C por 24 à 48h foi realizada a contagem individual de cada placa em UFC/ml, os resultados foram obtidos a partir das médias das duplicatas para cada diluição. Dos 54 animais, 81,48% apresentaram redução da população microbiana, 14,81% apresentaram ausência de variação da população microbiana e 3,70% apresentaram aumento da população microbiana. Considerando-se apenas os resultados viáveis observou-se que 95,65% apresentaram redução da população microbiana, portanto pode-se concluir que o ácido undecilênico possui ação antisséptica, reduzindo consideravelmente a população de microorganismos presentes nos coxins dos cães.

Palavras-chave: Animais domésticos. Micro-organismos. *Ricinus communis*

ABSTRACT: The present study aimed to evaluate the possibility of using undecylenic acid, extracted from castor oil (*Ricinus communis*), as an antiseptic in dogs (*Canis lupus familiaris*). For this purpose, a prototype of a treadmill, made of castor resin, covered with an acid impregnated adhesive mat, on which the animals of the study were walked, was used. The work was developed with 54 dogs and the samples of the swabs of the cushions were collected from the right (control) and left (test) anterior limbs, and the control and test samples were collected, respectively, before and after the use of the treadmill. After the collection, the swabs were packaged in isothermal boxes with recyclable ice and sent for processing in the Laboratory of Veterinary Microbiology. After incubation at 37°C for 24 to 48 hours, the individual counts of each CFU / ml plate were performed, the results were obtained from the means of the duplicates for each dilution and organized into tables and figures. Of the 54 animals, 81.48% presented a reduction of the microbial population, 14.81% presented absence of variation of the microbial population and 3.70% presented increase of the microbial population. Considering only the viable results, 95.65% presented a reduction of the microbial population, therefore it can be concluded that the undecylenic acid has an antiseptic action, considerably reducing the population of microorganisms present in dogs' cushions

Key words: Domestic animals. Microorganisms. *Ricinus communis*

*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 05/02/2018; aprovado em 21/09/2018

Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Av. Francisco da Mota, 272, 59625-900 Mossoró, Rio Grande do Norte, e-mail:

¹abenevidesmarinho@yahoo.com; ²nilzadutra@yahoo.com.br; ³marlon@ufersa.edu.br; ⁴gardeniavg@yahoo.com.br; ⁵caio.srg@gmail.com;

⁶garsilolirod@gmail.com



INTRODUÇÃO

É crescente a preocupação dos profissionais da área de controle de infecção relacionada à assistência a saúde em relação à redução da suscetibilidade dos micro-organismos aos agentes antissépticos. De acordo com a Sociedade Europeia de Microbiologia Clínica (2000), a resistência microbiológica é conceituada como a insusceptibilidade do micro-organismo ao material testado (ex. antimicrobianos, antissépticos, preservativos) e ocorre quando o micro-organismo adquire genes que permitem a interferência no mecanismo de ação do antimicrobiano por mutação espontânea de DNA ou por transformação e transferência de plasmídeos.

Mesmo com o aumento do número de micro-organismos multirresistentes em ambientes hospitalares e em outros serviços de saúde, os antissépticos ainda continuam desempenhando um papel importante no controle das infecções hospitalares, atuando de forma a minimizar a disseminação de microrganismos (SALVAGE et al., 2014). Para a verificação da qualidade dos antissépticos, vários aspectos como princípio ativo, estabilidade, toxicidade, atividade antimicrobiana entre outros, devem ser considerados e avaliados. No Brasil a regulamentação dos biocidas está a cargo do Ministério da Saúde, por meio da Divisão de Saneantes Domissanitários (DISAD), que cuida dos saneantes e desinfetantes, e da Divisão de Medicamentos (DIMED), que trata da normatização dos antissépticos (REIS et al., 2011).

Os antissépticos são formulações com função de eliminar ou inibir o crescimento de micro-organismos quando aplicados sobre a pele ou mucosas. Estes podem ser classificados como agentes bactericidas devido à capacidade de destruir as bactérias nas formas vegetativas, e como agentes bacteriostáticos porque inibem o crescimento do microrganismo sem destruí-lo. Uma característica importante a ser acrescida aos antissépticos é a atividade residual, ou seja, atividade química persistente sobre a pele (SANTOS et al., 2011).

Nesse sentido, conhecer a atividade antimicrobiana dos antissépticos de uso padronizado em serviços de saúde é de extrema importância para se adequar e racionalizar o uso dos mesmos. Em tempo, a legislação em nosso país estabelece que biocidas devam ser analisados quanto à sua atividade antimicrobiana reforçando a importância deste tipo de avaliação. A busca por novos agentes é um passo importante para solucionar problemas relacionados à resistência microbiana, toxicidade, atividade residual, dentre outros e, claro, favorecer a interação entre homens, animais e ambiente (ARMSTRONG; BOTZLER, 2008).

Dentre os novos agentes estudados está o ácido undecilênico, um dos derivados mais valiosos do óleo de mamona (*Ricinus communis*), fabricado através da pirólise do óleo. A pirólise em altas temperaturas (400°C) divide a molécula do ácido ricinoléico no grupo hidroxila para formar heptaldeído, ácido undecilênico e outros produtos secundários. Os dois produtos principais, ácido undecilênico e heptaldeído, são matérias-primas importantes para a fabricação de compostos poliméricos, farmacêuticos e cosméticos. O ácido undecilênico possui uma longa história como droga antifúngica, sendo muito usado para tratar alguns tipos de infecções por fungos (MUTLU; MEIER, 2010).

Sendo assim, o presente estudo teve por objetivo avaliar a ação do ácido undecilênico, extraído a partir do óleo de mamona (*Ricinus communis*), como antisséptico em cães.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido com 54 cães (*Canis lupus familiares*) de guardiões acima de 18 anos e de ambos os sexos, residentes em Mossoró/RN, entre fevereiro de 2016 e abril de 2017. Os tutores foram convidados a participar da pesquisa mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), contendo todas as informações a respeito do projeto, o protocolo n. 23091.005950/2015-49, envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, Subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA. Nos critérios de exclusão, ficaram os cães recém-nascidos, cães que não possuíam guardiões, ou seja, animais abandonados, e cães cujos tutores não aceitaram assinar o TCLE.

Após esclarecimentos sobre a pesquisa, os tutores responderam um questionário sobre a identificação dos animais e seu respectivo ambiente doméstico. Em sequência foi realizada uma coleta, amostra controle, no coxim do membro anterior direito e em seguida o animal foi colocado em um protótipo de esteira antisséptica de 80 cm, por tempo mínimo de um minuto. Esse protótipo de esteira, fabricado com a resina da mamona, recoberto com tapete adesivo impregnado com o ácido undecilênico com concentração de 1,8% no látex do papel na tentativa de reduzir a população de micro-organismos mesófilos aeróbios presente nos coxins desses animais e promovendo a redução da propagação de agentes possivelmente patogênicos. Posteriormente uma nova coleta, amostra teste, no coxim do membro anterior esquerdo foi realizada. As amostras controle e teste foram colhidas por meio de suabes esterilizados.

As amostras foram processadas no Laboratório de Microbiologia Veterinária (LAMIV) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) em Mossoró/RN. Para a semeadura e posterior contagem dos micro-organismos foram realizados respectivamente o método das diluições seriadas e o método de contagem em placas. Inicialmente sucedeu-se o método das diluições seriadas que consiste na realização de diluições decimais sucessivas (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) das amostras coletadas, a partir da suspensão microbiana obtida das lavagens dos suabes em 2 ml de solução salina 0,85% estéril. Em seguida, foi realizada a semeadura de 0,1 ml, em duplicata, das mesmas, em ágar padrão para contagem com auxílio de alça de Drigalski.

Após a finalização da semeadura, as placas foram colocadas em posição invertida e levadas para incubar a 37°C durante 24 à 48h. Após o prazo estipulado de incubação, as placas de Petri foram retiradas da estufa e postas em uma bancada para a realização da contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por ml. Para a obtenção do resultado em UFC/ml foi necessário multiplicar os valores das leituras de cada placa por 10, pois em cada placa foi adicionado 0,1 ml durante a semeadura.

Para a contagem, foram selecionadas as placas com número de colônias entre 30 e 300 UFC/ml. Em todas as situações, foi utilizada a notação científica na apresentação

dos resultados, com apenas uma casa decimal depois da vírgula e aproximando para cima quando a segunda casa decimal foi igual a cinco ou maior. Os cálculos foram realizados com base nas técnicas básicas de contagem de micro-organismo em placas do Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos (SILVA et al., 2007). Os dados foram agrupados em planilhas e posteriormente analisados e interpretados em conjunto para verificar a eficácia da utilização da esteira antisséptica em cães. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida do teste de comparações múltiplas. O nível de significância utilizado foi $\alpha=5\%$. As análises foram realizadas através do Programa SPSS 15.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A população composta por 54 cães de propriedade particular, escolhidos ao acaso. Em relação ao sexo, dos 54 animais temos 17 machos (31,48%) e 37 fêmeas (68,52%). Quanto a raça verificamos que 26 animais foram sem raça definida (SRD) (48,15%) e 28 animais de raça (51,85%), dos animais de raça observou-se que 5 animais são da raça poodle (9,26%), 4 animais das raças Golden retriever (7,41%); 4 da raça Pinscher (7,41%), 2 animais das raças Beagle (3,70%), Chow-chow (3,70%), Cocker spaniel (3,70%), Husky siberiano (3,70%), Rottweiler (3,70%) e Yorkshire terrier (3,70%), e 1 animal das raças Dálmata (1,85%), Maltês (1,85%) e Pastor alemão (1,85%). Os resultados foram semelhantes aos encontrados na Pesquisa Nacional de Saúde (PNS 2013), onde, dos 52,2 milhões de cães no Brasil, 28,7% deste total, a maioria absoluta, são cães sem raça definida (SRD), em seguida prossegue as seguintes raças: Yorkshire terrier (7,5%), Poodle (6,1%), Maltês (5,6%), Labrador e Golden retriever (5,1%) entre outras raças.

Em relação a faixa etária, dos 54 animais temos 25 animais (46,30%) com idade ente 0 e 2 anos (a idade mínima para participar da pesquisa foi de 2 meses), 15 animais (27,78%) com idade entre 3 e 5 anos, 7 animais (12,96%) com idade entre 6 e 8 anos, 4 animais (7,41%) com idade entre 9 e 11 anos, 2 animais (3,70%) com idade entre 12 e 14 anos e 1 animal (1,85%) com idade igual ou superior a 15 anos.

Quanto ao ambiente no qual habitam, 14 animais (25,92%) vivendo apenas no interior da casa de seus tutores, 15 animais (27,78%) vivendo apenas no quintal e 25 animais (46,30%) vivendo tanto no interior da casa como no quintal. Canatto (2010), em sua pesquisa de caracterização populacional, observou que o quintal obteve 49%, seguido do interior do domicílio com 26%, para outras respostas obteve-se 25%. Nos distritos, a categoria interior do domicílio de 0% a 96,1%, na vila Curuçã e Itaim Bibi, respectivamente. A categoria quintal variou de 3,9% no Itaim Bibi a 87,7% no Jaguarã. Vale ressaltar que o tipo de ambiente no qual os animais domésticos são criados é influenciado por vários fatores como cultura e características socioeconômicas da população local.

Com relação às contagens microbianas, verificou-se que, dos 54 cães utilizados, 44 animais (81,48%) apresentaram redução da população microbiana no coxim após o pisoteio sobre o tapete adesivo, impregnado com ácido undecilênico, da esteira antisséptica, por tempo mínimo de 1 minuto. Em 8 animais (14,81%) não houve visualização de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) nas amostra controle e teste,

não sendo possível a comparação devido a ausência de variação. Em 2 animais (3,70%) houve aumento da população microbiana da amostra teste em relação a amostra controle.

Colocações semelhantes foram citadas por Soares et al. (2001), onde o antisséptico Andriodermol[®], que contém ácido undecilênico em sua composição, inibiu todas as estirpes de dermatófitos em concentrações tão baixas quanto 1:1200. Com exceção de um isolado de *T. mentagrophytes*, o Andriodermol[®] foi letal para todas as estirpes estudadas na diluição de 1:150. McLain et al. (2000) verificaram que o ácido undecilênico apresentou atividade antimicrobiana antifúngica, inibindo a morfogênese de *Candida albicans*. Vale ressaltar que há uma grande escassez de referencial teórico com relação ao ácido undecilênico, visto que poucas pesquisas têm sido realizadas.

Nas leituras unitárias de cada placa de Petri com as diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , provenientes das amostras controle e teste de 8 animais não foram visualizadas a presença de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), quando não é detectada nenhuma UFC em todas as placas reporta-se o resultado considerando-se a maior concentração (10-1). O resultado final foi apresentado por estimativa, sendo, portanto a contagem para controle e teste contabilizada como ($< 1,0 \times 10^1$ UFC/ml (Est.)), em decimal (< 10 (Est.)), ou seja, inferior a 10 UFC/ml. Desse modo, não há variação para efeito comparativo entre amostras controle e teste nesses animais.

De uma forma geral os resultados obtidos estão em sintonia com os estudos sobre o ácido undecilênico apresentados por McLain et al. (2000) onde afirmou que o provável mecanismo de ação do ácido undecilênico (AUD) sobre células microbianas está relacionado à capacidade da droga de inibir enzimas relacionadas à síntese de ácidos graxos. Os ácidos graxos são molécula importantes na regulação do pH intracelular, e a inibição de sua síntese pode impedir a alcalinização do citoplasma.

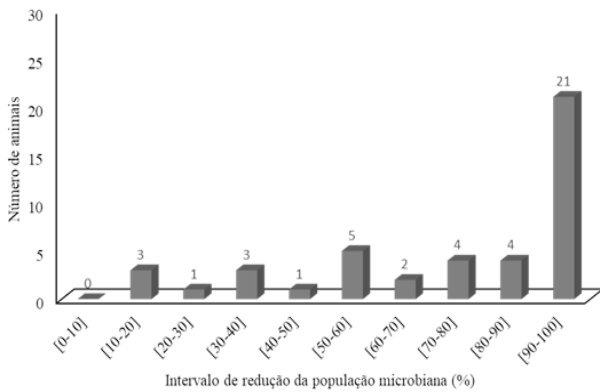
Considerando-se apenas os resultados viáveis, ou seja, descartando-se os 8 animais onde não foram visualizados UFC nas amostras controle e teste, tem-se 46 animais, dos quais 44 (95,65%) apresentaram redução da população microbiana e 2 (4,35%) apresentaram aumento da população microbiana. O aumento da população microbiana nos 2 animais citados pode ser explicada pela presença excessiva de matéria orgânica ocasionando uma redução direta na atividade dos compostos antimicrobianos por uma reação química que resulta em menor quantidade do composto disponível para matar micro-organismos (SILVA, 2014), fato que pode ter acontecido nesta pesquisa e portanto deverão ser realizados trabalhos para análise destes dados.

Outra possibilidade, descrita por Gonçalves (2012), refere-se ao estágio de desenvolvimento do micro-organismo, este verificou que a presença de ácido undecilênico não alterou a contagem celular, atividade metabólica, estrutura dos biofilmes e secreção enzimática nos estágios iniciais de colonização de *C. albicans* ou *C. glabrata*. Sua ação antimicrobiana foi identificada apenas em biofilmes maduros de *C. albicans*.

Com relação a eficácia do ácido undecilênico, dos 44 animais onde se verificou redução da população microbiana, em 21 animais (47,73%) a redução da quantidade de micro-organismos foi superior a 90% e igual ou inferior a 100%, quando comparadas às amostras controle e teste; em 4 animais (9,09%) a redução foi superior a 80% e igual ou inferior a 90%; em 4 animais (9,09%) a redução foi superior a

70% e igual ou inferior a 80%; em 2 animais (4,55%) a redução foi superior a 60% e igual ou inferior a 70%; em 5 animais (11,36%) a redução foi superior a 50% e igual ou inferior a 60%; em um animal (2,27%) a redução foi superior a 40% e igual ou inferior a 50%; em 3 animais (6,82%) a redução foi superior a 30% e igual ou inferior a 40%; em um animal (2,27%) a redução foi superior a 20% e igual ou inferior a 30%; em 3 animais (6,82%) a redução foi superior a 10% e igual ou inferior a 20% (Figura 1).

Figura 1. Número de cães por intervalo de redução da população microbiana em porcentagem, sendo considerado apenas os que apresentaram redução da população microbiana.



Com relação às características de cada animal e a ação do produto, verificou-se que, de uma forma geral uma grande parcela dos animais eram SRD, havia uma grande quantidade de cães de diferentes raças e de ambos os sexos, a maior parte da população apresentava-se entre 0 e 2 anos sendo que a porcentagem populacional diminuía ao longo das faixas etárias crescentes, além disso, a maior parte dos cães viviam com acesso livre entre casa e quintal. (Figuras 2, 3, 4 e 5).

Dessa forma, não se verificou relação entre a ação do produto e o sexo, a raça, a idade e o ambiente doméstico dos animais, ou seja, a eficiência antisséptica da esteira foi independente aos fatores citados. Provavelmente, os aspectos que influenciam a eficácia dos antissépticos são a concentração e o tempo de contato, a temperatura, o pH, a presença de material orgânico ou não, o tipo e a concentração do micro-organismo agressor, forma de armazenamento e outros fatores, conforme citados por Adams (2003).

Figura 2. Relação entre contagem microbiana e o sexo dos animais (valor-p=0,0001 ($p < 0,01$); fêmea ($\chi^2 = 37,0$), macho ($\chi^2 = 21,12$))

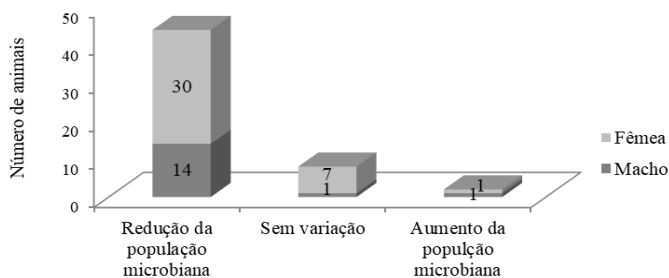


Figura 3. Relação entre contagem microbiana e a raça dos animais (valor-p=0,0000 ($p < 0,01$); sem raça definida ($\chi^2 = 40,69$) cães de raça ($\chi^2 = 20,21$))

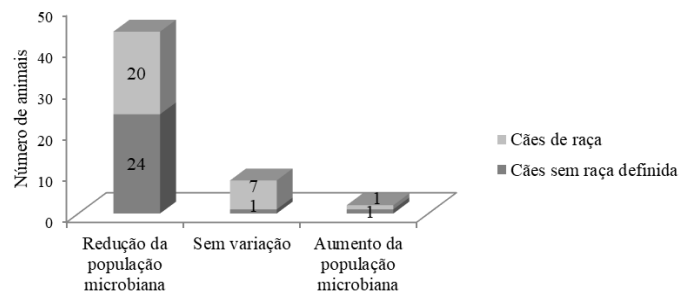


Figura 4. Relação entre contagem microbiana e a faixa etária dos animais (valor-p=0,02 ($p < 0,05$); $\chi^2 = 29,12$).

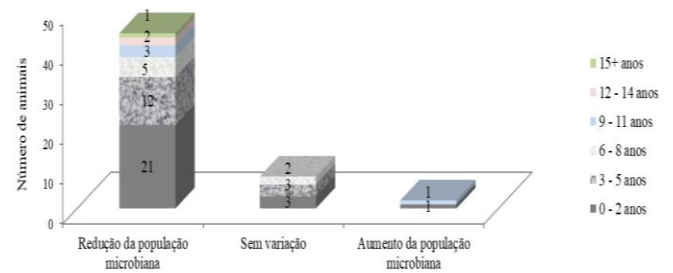
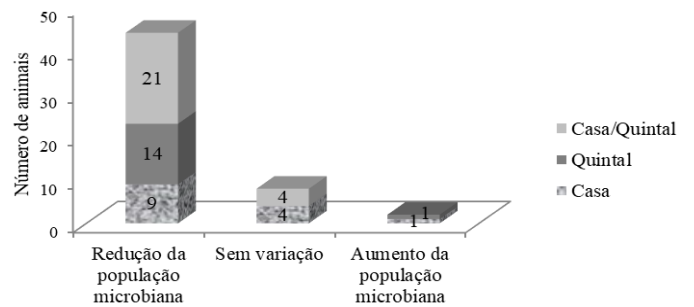


Figura 5. Relação entre a contagem microbiana e o ambiente dos animais (valor-p=0,02 ($p < 0,05$); $\chi^2 = 20,06$).



CONCLUSÕES

O ácido undecilênico extraído do óleo de mamona, impregnado em papel adesivo acoplado em esteira, possui ação antisséptica, reduzindo consideravelmente a população de micro-organismos presentes nos coxins dos cães.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, H. R. Farmacologia e terapêutica em veterinária. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.
- ARMSTRONG, S. J.; BOTZLER, R. G. The animal ethics reader. London: Routledge, 2008.
- CANATTO, B. D.; SILVA, E. A.; BERNARDI, F.; MENDES, M. C. N. C.; PARANHOS, N. T.; DIAS, R. A.. Caracterização demográfica das populações de cães e gatos supervisionados do município de São Paulo. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.64, n.6, p.1515-1523, 2012.

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Ternology relatting to methods for the determination of susceptibility of bactéria to antimicrobial agentes. Clin Microbiol Infect. v.6, n.9, p. 503-508, 2000.

GONÇALVES, L. M. Ação do ácido undecilênico liberado por material reembasador sobre os biofilmes de Candida albicans ou Candida glabrata. 34 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba/SP, 2012.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/população/pns/2013>>. Acessado em: 20/06/2017.

MCLAIN, N.; ASCANIO, R.; BAKER, C.; STROHAVER, R. A.; DOLAN, J. W. Undecylenic acid inhibits morphogenesis of Candida albicans. Antimicrob Agents Chemother. v.44, n.10, p.2873-2875, 2000.

MUTLU, H.; MEIER, M. A. R. Castor oil as a renewable resource for the chemical industry. Eur. J. Lipid Sci. Technol., v. 112, p. 10-30, 2010.

REIS, L. M.; RABELLO, B. R.; ROSS, C.; SANTOS, L. M. R. Avaliação da atividade antimicrobiana de antissépticos e desinfetantes utilizados em um serviço público de saúde. Revista brasileira de Enfermagem, Brasília, v.64, n.5, p. 870-875, 2011.

SALVAGE, R.; HULL, C. M.; KELLY, S. L. Use of 70% alcohol for the routine removal of microbial hard surface bioburden in life science cleanrooms. Future Microbiol, v.9, n.10, p.1123–1130, 2014.

SANTOS, S. S. F.; ARANTES, J. G.; LEÃO, M. V. P.; JORGE, A. O. C. Avaliação do efeito overnight de antissépticos bucais. vClípe Odonto, v.3, n.1, p.9-12, 2011.

SILVA, A. F. Estudo farmacognóstico e avaliação das atividades biológicas de Raphanus sativus var. oleiferus Metzg. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas/MG, 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R.; OKASAKI, M. M. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 3. ed. São Paulo: Logomarca Varela, 2007.

SOARES, M .M. S. R.; CURY, A. E. In vitro activity of antifungal and antiseptic agents against dermatophyte isolates from patients with tinea pedis. São Paulo, 2001.