

ESTUDO DA POTENCIALIZAÇÃO DOS EFEITOS ANTIMICROBIANO E CICATRIZANTE DO MUCO DE ESCARGOTS *ACHATINA FULICA*, ATRAVÉS DA ADIÇÃO DE PRÓPOLIS EM SUA DIETA BASE.

EVALUATE THE INCREASE ANTIMICROBIAL AND HEALING PROPERTIES OF THE MUCOUS EXTRACTED FROM THE SNAIL *ACHATINA FULICA* , THROUGH THE ADDITION OF PRÓPOLIS IN YOUR DIET.

MICHELE RIBEIRO DA SILVA¹; MARIA DE FÁTIMA MARTINS²; JULIANA DE VAZZI PINHEIRO³

SILVA, M. R.*; MARTINS, M.F.; PINHEIRO, J.V.

1. Médica Veterinária, mestranda em Nutrição e Produção Animal – FMVZ/ VNP/ USP, Pirassununga/S.P. E-mail: ribeiromi@usp.br

2 - Profa. Dra. – Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) / Coordenadora Técnica do Helicário Experimental da FMVZ/USP, Av. Duque de Caxias Norte, 225 Cep 13.630-000, Pirassununga, S.P. E- mail: fmartins@usp.br

3. Colaboradora/Mestranda em Nutrição e Produção Animal – FMVZ/ VNP/ USP, Pirassununga/S.P. E-mail: jupinheirovet@usp.br

RESUMO

Os escargots da espécie *Achatina fulica* são caracóis africanos comestíveis e para essa finalidade foram introduzidos no Brasil em 1988 para substituir o escargot europeu *Helix sp.* (SOUZA, 2006). Contudo, o hábito alimentar conservador da população brasileira ocasionou prejuízos aos criadores de escargots no Brasil, desencadeando uma soltura irresponsável e anti-ética desses moluscos no meio ambiente, o que proporciona uma associação direta dos caracóis à impactos ambientais, sendo objeto de estudos e pesquisas correlatas. Autores como Martins, et al. (2003), Sírio, et al. (2005) e Lorenzi, et al. (2006) descreveram efeitos benéficos, antimicrobianos e cicatrizantes do muco extraído de caracóis *Achatina sp.*, e a potencialização destes efeitos a partir do acréscimo de plantas medicinais à dieta base de escargots, constatando a capacidade de retenção no organismo dos escargots as propriedades de alimentos por eles ingeridos. As atividades antimicrobiana e cicatrizante também são conhecidas na utilização da própolis produzida por abelhas da espécie *Apis mellifera*. Partindo dessas premissas, a adição de extrato de própolis na composição da dieta base oferecida para escargots possibilitará avaliar um possível efeito sinérgico desses dois zooterápicos (muco e própolis), nas atividades antimicrobianas e cicatrizantes, comparando ainda, os resultados obtidos através da aplicação deste muco em lesões cirurgicamente induzidas em animais de laboratório e ou cultivo celular. O enfoque farmacológico associado às propriedades cicatrizantes deste molusco, amplia o campo de atuação da zooterapia, pois se traduz na capacidade de exploração da diversidade biológica dos moluscos da espécie *Achatina fulica*

que foram jogados de forma desordenada no meio ambiente e que em condições de controle no laboratório podem vir a contribuir para o desenvolvimento de um biofármaco com capacidade cicatrizante e antimicrobiana, e que será empregado na forma de gel e ou pomada, e ainda resultar em uma possível patente, através do indicativo de sua importância terapêutica para o reparo tecidual de lesões veterinárias e humanas.

Palavras-chave: Escargots; *Achatina fulica*; cicatrização; muco; própolis

ABSTRACT

The snail species *Achatina fulica*, is an edible African giant land snail species that was introduced into Brazil in 1988 as a substitute for the european escargot *Helix Sp.* (Souza 2006). However, the conservative eating habits of the brazilian population have caused losses to breeders of escargot in Brazil due to the irresponsible, unethical release of the species into the environment. This species is known for it's invasive nature and most of the literature focuses on the species disruption to the environment. Thus, the first objective of the study and related research focuses on these environmental impacts.

Authors such as, Martins, *et al* (2003), Sírio, *et al.* (2005) e Lorenzi, *et al.* (2006), have described beneficial attributes, antimicrobial and healing properties, of the mucous extracted from the small *Achatina* species. They have also described the potential benefits of feeding the snails a base diet enriched with medicinal plants to prove the capacity of the organisms to retain the aforementioned properties after ingestion.

Lastly, our research will also examine the addition of propolis, to the base ration diet of snails. Propolis is a resinous material, obtained from local plant sources, used as a sealant in bee hives. For the purpose of these studies, the focus will be propolis specifically associated with the bees of the species *Apis mellifera*. The antimicrobial and healing properties of propolis have been well recognized and described. The objective of this work is thus, to evaluate the healing effects of zootherapics (Zoological therapeutics) and it's application in veterinary medicine as a bio-pharmaceutical.

Key-words: Snails; *Achatina fulica*; healing; mucous; propolis

INTRODUÇÃO

Os caracóis terrestres ou “escargots” *Achatina fulica* possuem em toda sua superfície corpórea glândulas produtoras de muco, uma secreção glicoproteica que protege o corpo do animal contra desidratação, auxilia na locomoção, captura de alimentos, reprodução e proporciona resistência a infecções por microorganismos, devido à presença de um fator antimicrobiano. (IGUCHI, *et al.*, 1982).

Autores como Martins, *et al.* (1996; 2003) ; Sírio (2005) e Lorenzi (2006) verificaram a capacidade antimicrobiana e cicatrizante do muco extraído de escargots *Achatina sp.*, podendo esta ser potencializada com acréscimo de plantas medicinais à dieta dos escargots. Iyomasa *et al.* (2002) constatou histologicamente uma diferença na maturação do epitélio, em favor da

aplicação da secreção mucosa de caracóis sobre a área lesada quando comparada a um grupo controle.

A própolis, assim como o muco dos escargots, é um agente zoterápico, com atividades antimicrobiana e cicatrizante. (PARK, *et al.*, 1998). Partindo dessas premissas, esse trabalho objetiva adicionar extrato de própolis na composição da dieta base oferecida para escargots para avaliar um possível efeito sinérgico desses dois zoterápicos, nas atividades antimicrobianas e cicatrizantes em lesões cirurgicamente provocadas em camundongos.

MATERIAL E MÉTODOS

Serão utilizados para esta pesquisa 50 escargots adultos da espécie *Achatina sp.*, com peso médio de 100 gramas, sendo que destes, 25 receberão ração base e 25 receberão ração base acrescida de própolis.

A coleta do muco será realizada manualmente, através de estimulação da superfície glandular dos escargots, não acarretando em sacrifício dos animais. O muco será utilizado em 5 diferentes tratamentos, em lesões induzidas cirurgicamente em 15 camundongos.

Os camundongos serão divididos em 5 diferentes grupos, cada grupo contendo 3 animais, porém, estes serão mantidos em gaiolas individuais, priorizando o bem-estar. Água potável e ração específica balanceada serão fornecidas *ad libitum*.

As lesões serão cirurgicamente induzidas, ou seja, em condições ideais de assepsia, sedação e analgesia. Após anestesia dos camundongos e preparo da região, uma lesão circular será realizada no dorso de cada animal, com auxílio de “punch” de 0,5mm de diâmetro, tesoura e pinça.

Cada um dos 05 grupos receberá um diferente tratamento:

1. Grupo Controle;
2. Grupo 02: Aplicação do muco puro extraído de escargots *Achatina fulica* alimentados com ração base;
3. Grupo 03: Aplicação do muco puro extraído de escargots com dieta base acrescida de própolis, em diferentes concentrações;
4. Grupo 04: Aplicação de pomada à base de muco extraído de escargots com dieta base normal;
5. Grupo 05: Aplicação de pomada à base de muco liofilizado extraído de escargots com dieta base acrescida de extrato de própolis.

ANÁLISES

Análise Macroscópica:

Avaliação da lesão macroscopicamente. Os camundongos serão avaliados diariamente e pesados, as observações do reparo cicatricial serão comparadas entre os grupos, registradas através de protocolos específicos e fotografias.

Análise Histológica:

Os animais serão anestesiados e biopsiados na área lesionada cirurgicamente. As amostras serão fixadas e processadas para a inclusão de parafina, coradas e analisadas ao microscópio de luz, e as tomadas fotográficas feitas em fotomicroscópio, sendo observados os processos

inflamatórios e cicatricial Serão avaliados os diferentes graus de reparo tecidual entre os 5 grupos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Autores como Martins, *et al.* (1996; 2003); Sírio (2005) verificaram a capacidade antimicrobiana e cicatrizante do muco extraído de escargots *Achatina sp.* utilizado em lesões induzidas cirurgicamente em camundongos e coelhos e, um estudo realizado por Iyomasa *et al.* (2002) constatou histologicamente uma diferença na maturação do epitélio, em favor da aplicação da secreção mucosa de caracóis sobre a área lesada quando comparada a um grupo controle.

Sírio, *et al.* (2005) e Lorenzi *et al.* (2006) fizeram uso de dietas acrescidas de plantas medicinais com finalidades cicatrizantes, apresentando resultados potencializadores e que requerem estudos posteriores no processo de cicatrização.

Estudos envolvendo produtos naturais vêm sendo desenvolvidos pelo homem, desde o século XVIII e nos séculos XIX, XX e XXI estão sendo implementados, tendo os benefícios da utilização da própolis comprovados por diferentes autores, assim como, suas propriedades antiséptica, antimicótica, bacteriostática, antiinflamatória, anestésica, antioxidante, cicatrizante e anticarcinogênica, (FARNESI, 2007) sendo, desde modo, a própolis um zoterápico, com possibilidades de aplicação nas indústrias farmacêuticas e alimentícias. Entretanto, não são encontrados trabalhos em literaturas nacional e internacional fazendo uso de própolis na dieta de moluscos *Achatina sp* com a finalidade de implementar o processo de cicatrização.

Partindo dessas premissas, a adição de extrato de própolis na composição da dieta base oferecida para escargots possibilitará avaliar um possível efeito sinérgico desses dois zoterápicos (muco e própolis), nas atividades antimicrobianas e cicatrizantes, comparando ainda, os resultados obtidos através da aplicação deste muco em lesões cirurgicamente induzidas em animais de laboratório e ou cultivo celular.

O enfoque farmacológico associado às propriedades cicatrizantes deste molusco, amplia o campo de atuação da zooterapia, pois se traduz na capacidade de exploração da diversidade biológica dos moluscos *Achatina sp* que foram jogados de forma desordenada no meio ambiente e que em condições de controle no laboratório podem vir a contribuir para o desenvolvimento de um biofármaco com capacidade cicatrizante e antimicrobiana.

O resultado esperado é a potencialização dos efeitos antimicrobiano e cicatrizante do muco de escargots *Achatina fulica*, através da adição de própolis em sua ração base.

CONCLUSÃO

Esta pesquisa visa resultar em um biofármaco com propriedades cicatrizantes à base de muco de escargots, alimentados com ração base acrescida de própolis, que será liofilizado e empregado na forma de gel e ou pomada, e ainda uma possível patente deste muco, através do indicativo de sua importância terapêutica para o reparo tecidual de lesões veterinárias e humanas.

AGRADECIMENTOS

Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior – Capes

REFERÊNCIAS

BALLANCE, S.; HOWARD, M.; WHITE, K. N.; McCROHAN, C. R.; THORNTON, D. J.; SHEEHAN, J. K. Partial characterisation of high-molecular weight glycoconjugates in the trail mucus of the freshwater pond snail *Lymnaea stagnalis*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v. 137, 2004, p. 475-486.

CAETANO, F. A. M. “**Estudo comparativo do aparelho reprodutor do molusco *Achatina fulica* criado em cativeiro e asselvajado**”. 2005. 61 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

CAMPION, M. The structure and function of the cutaneous glands in *Helix aspersa*. **The Quarterly Journal on Microscopical Science**, v. 102, Parte 2,

COSTA NETO, E. M. Os moluscos na zooterapia: medicina tradicional e importância clínico-farmacológica. **Revista Biotemas**, 19, 2006.

CRAZE, P. G.; BARR, A. G. The use of electrical-component freezing spray as a method of killing and preparing snails. **Journal of Molluscan Studies**, v. 68, p. 192–192, 2002.

DEYRUP-OLSEN, I.; LUCHEL, D. L. Secretion of mucous granules and other membrane-bound structures: a look beyond exocytosis. **International Review of Cytology**, v. 183, p. 95-141, 1998.

EURIDES, *et al.* Morfologia e morfometria da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com solução aquosa de barbatimão. **Rev. Fac. Zootecnia. Vet. Agro. Uruguaiana**, v. 2/3, n.1, p.37-42 jan/dez. 1995/1996.

EHARA, T.; KITAJIMA, S.; KANZAWA, N.; TAMIYA, T.; TSUCHIYA, T. Antimicrobial action of achacin is mediated by L-amino acid oxidase activity. **FEBS Letters**. v. 531, n. 3, p. 509-512, 2002.

FARNESI, A. P. Efeitos da própolis de abelhas africanizadas e meliponídeos em microorganismos. **Dissertação** (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

HELICICULTURA. Material didático do curso de Helicicultura, FMVZ/USP, Pirassununga, 2004.

IBAMA. **Breve histórico do caramujo-gigante africano no Brasil**. Disponível em: www.ibama.gov.br/sp Acesso em agosto, 2007.

IGUCHI, S. M. M.; AKAWA, T.; MATSUMOTO, J. J. Antibacterial activity of snail mucus mucin. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 72A, n. 3, p. 571-574, 1982.

IYOMASA, M.; MARTINS, M. F.; PACHECO, P.; MIZUSAKI, C. I.[†]; FIGUEIREDO, L. D.; SÍRIO, O. J.; CAETANO, F. A. M. Evaluation of the *Achatina fulica* snail glycoproteic mucus in surgical injury of rabbits. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v.18, n. 2, p. 149, 2002.

LORENZI, A. T. Estudo colorimétrico e espectroscópico do muco de caracóis *Achatina sp* alimentados com rações acrescidas de plantas medicinais. **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Usp, Pirassununga, 2006.

MARTINS, M. F.; PACHECO, P.; MIZUSAKI, C. I. [†]; IYOMASA, M. M.; SILVESTRINI JR, P. I.; FUZETO, A. P. "Avaliação fenotípica e histológica de feridas cirúrgicas de coelhos tratados com secreção mucoglicoprotéica de escargot *Achatina fulica*". **Arquivo do Instituto Biológico**, n. 67, p. 1-145, 2000.

MITRA, D.; SARKAR, M.; ALLEN, A. K. Purification and characterization of an agglutinin from mucus of snail *Achatina fulica*. **Biochimie**, v. 70, n. 12, p. 1821-1829, 1988.

OBARA, K.; OTSUKA-FUCHINO, H.; SATTAYASAI, N., NONOMURA, Y.; TSUCHIYA, T.; TAMIYA, T. Molecular cloning of the antibacterial protein of the giant African snail, *Achatina fulica* Férussac. **European Journal Biochemistry**, v. 209, p. 1-6, 1992.

OTSUKA-FUCHINO, H.; WATANABE, Y.; HIRAKAWA, C.; MATSUMOTO, J. J.; TSUCHIYA, T. Bactericidal action of a glycoprotein from the body surface mucus of giant African snail. **Comparative Biochemistry and Physiology Part**, v. 101, n. 3, p. 607-613, 1992.

PARK, *et al.* Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Cienc. Tecnol. Aliment.** V.18 n.3 Campinas, 1998.

SÍRIO, O. J." **Verificação da potencialização do efeito cicatrizante do muco de caracóis do gênero *Achatina* promovida por dieta à base de confrei**". 2005. 87 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

SÍRIO, O. J.; FIGUEIREDO, L. D.; IYOMASA, M. M.; PRADO, I. M. R.; RECHIA, C. G. V.; PACHECO, P.; MARTINS, M. F. "Investigation of partial composition of *Achatina fulica* snail mucus and its effects on surgical injuries in rabbits". In: CONGRESS OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, 4., 2003, Ribeirão Preto/SP.