



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ETNOBIOLOGIA E CONSERVAÇÃO
DA NATUREZA – CURSO DE DOUTORADO

DIÓGENES DE QUEIROZ DIAS

**FAUNA MEDICINAL EM COMUNIDADES RURAIS DO CEARÁ:
ETNOVETERINÁRIA E BIOPROSPECÇÃO**

CRATO-CE

2019

DIÓGENES DE QUEIROZ DIAS

**FAUNA MEDICINAL EM COMUNIDADES RURAIS DO CEARÁ:
ETNOVETERINÁRIA E BIOPROSPECÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza (PPGEtno) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Universidade Regional do Cariri (URCA) e da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), como requisito para obtenção do título de Doutor em Etnobiologia e Conservação da Natureza.

Área de Concentração: Biodiversidade.

Linha de Pesquisa: Sistemas Cognitivos e uso de recursos Naturais.

Orientador:

Prof. Dr. Waltécio de Oliveira Almeida
(Universidade Regional do Cariri – URCA)

Co-orientadores:

Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho
(Universidade Regional do Cariri – URCA)

Prof. Dr. Felipe Silva Ferreira (Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF)

CRATO-CE

2019

Tese apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Etnobiologia e Conservação da Natureza (Área de Concentração: Biodiversidade / Linha de Pesquisa: Sistemas Cognitivos e uso de recursos Naturais), outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

A citação de qualquer trecho desta Tese é permitida, desde que seja feita em conformidade com as normas da ética científica.

Apresentado em 30 de janeiro de 2019.

Orientador:

Dr. Waltécio de Oliveira Almeida, Universidade Regional do Cariri

Co-orientadores:

Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho, Universidade Regional do Cariri

Dr. Felipe Silva Ferreira, Universidade Federal do Vale do São Francisco

Examinadores:

Dr. Francisco Assis Bezerra da Cunha, Universidade Regional do Cariri – Membro Externo

Dr. Samuel Vieira Brito, Universidade Federal do Maranhão – Membro Externo

Dr. Alexandre Magno Rodrigues Texeira, Universidade Regional do Cariri – Membro Externo

Dr. Marta Regina Kerntopf, Universidade Regional do Cariri – Membro Interno

Suplentes:

Dr. Luiz Marivando Barros, Universidade Regional do Cariri – Membro Externo

Dr. Fabio Hideki Yamada, Universidade Regional do Cariri – Membro Externo

Dedico aos meus pais, *José Ademir Dias* e *Maria Valcira de Queiroz Dias*, e a minha esposa, *Irlanda Leandro de Melo*, pelo apoio, dedicação e amor incondicional.

“Tu te tornas responsável por aquilo que cativas”.

(Antoine de Saint-Exupéry – “O pequeno príncipe”)

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por ter me guiado por mais esta etapa da vida.

Aos meus pais, **José Ademir Dias** e **Maria Valcira de Queiroz Dias**, por não medirem esforços na minha educação, me ajudando a concretizar cada um dos meus sonhos.

A minha esposa, **Irlanda Leandro de Melo**, pelo companheirismo, dedicação e amor incondicional.

Aos meus familiares, em especial ao meu primo **Saulo Queiroz de Araújo**, pela estadia em sua casa no Recife durante o primeiro ano de doutorado, e a minha tia **Maria Denisete Queiroz Macêdo Mendes**, por todo cuidado relacionado a minha estadia durante estes três últimos anos no Cariri.

Ao meu orientador, prof. Dr. **Waltécio de Oliveira Almeida** pela orientação, pelo apoio constante e por tantas oportunidades concedidas.

Aos meus co-orientadores, prof. Dr. **Henrique Douglas Melo Coutinho** e prof. Dr. **Felipe Silva Ferreira**, pelo apoio, sugestões e reuniões que ajudaram a construir este trabalho.

A amiga e colega desde o período de mestrado, prof. Dra. **Débora Lima Sales**, pelo auxílio em muitas etapas deste trabalho.

Ao amigo **Gyllyandeson de Araújo Delmondes**, pelo apoio nas análises estatísticas e na estruturação desta tese.

A minha turma de doutorado aqui na URCA: profa. Dra. **Delmacia Gonçalves de Macêdo**, pelo apoio e amizade durante as disciplinas que ocorreram em Recife.

Aos professores que compuseram a banca de qualificação, profa. Dra. **Marta Regina Kerntopf**, prof. Dra. **Maria Flaviana Bezerra Moraes Braga** e prof. Dr. **Francisco Assis Bezerra da Cunha**, minha gratidão pelas valiosas sugestões.

Ao prof. Dr. **Marcos Fábio Gadelha Rocha** da Universidade Estadual do Ceará, por auxiliar na busca pelas cepas bacterianas necessárias para os testes microbiológicos.

Aos professores doutores; prof. Dr **José Galberto Martins da Costa** e profa. Dra **Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro** por possibilitar a extração dos óleos fixos e identificação dos ácidos graxos.

Aos coordenadores, professores e funcionários do programa de Pós-graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza – da Urca, da UFRPE e da UEPB pelos ensinamentos transmitidos.

A Secretaria de Educação Básica do Ceará por ter cedido a liberação para cursar este programa de doutorado.

Agradeço a todos que fizeram e que fazem parte da minha vida acadêmica, saibam que todos vocês foram fundamentais nessa etapa importantíssima na minha vida. Gratidão pelas diversas contribuições para o meu crescimento pessoal e profissional.

Por fim, agradeço as instituições de fomentos Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP). Minha gratidão!

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO GERAL	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. ETNOZOOLOGIA	15
2.2. ZOOTERAPIA	15
2.3. ETNOVETERINÁRIA	17
2.4. BIOPROSPECÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL	18
2.5. RESISTÊNCIA ANTIBACTERIANA E ZOOTERÁPICOS	19
3. REFERÊNCIAS	22
4. MANUSCRITO 1: ZOOTERÁPICOS USADOS EM PRÁTICAS ETNOVETERINÁRIAS QUE OCORREM EM ÁREAS RURAIS DO CARIRI CEARENSE, BRASIL	30
5. ARTIGO 1: BIOPROSPECÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DO ÓLEO FIXO DE <i>Sus scrofa domesticus</i> LINNAEUS (1758) FRENTE À BACTÉRIAS DE INTERESSE VETERINÁRIO	64
6. ARTIGO 2: BODY FAT MODULATED ACTIVITY OF <i>Gallus gallus domesticus</i> LINNAEUS (1758) AND <i>Meleagris gallopavo</i> LINNAEUS (1758) IN ASSOCIATION WITH ANTIBIOTICS AGAINST BACTERIA OF VETERINARY INTEREST	84
7. ARTIGO 3: ANTIBACTERIAL AND ANTIBIOTIC MODIFYING ACTIVITY EVALUATION OF RUMINANTS' BODY FAT USED AS ZOOTHERAPEUTICS IN ETHNOVETERINARY PRACTICES IN NORTHEAST BRAZIL	110
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	135
ANEXOS	136

Resumo

A proposta deste estudo foi documentar as práticas zoterápicas na etnoveterinária desenvolvida em áreas rurais dos municípios de Barbalha, Crato e Missão Velha, localizados no sul do Ceará, Nordeste do Brasil; e investigar, através de estudos de bioprospecção, se há fundamentação para o uso da gordura de animais domésticos - *Sus scrofa domesticus* Linn., *Gallus gallus domesticus* Linn., *Meleagris gallopavo* Linn., *Ovis aries*, *Capra hircus* e *Bos taurus* – como antimicrobianos e/ou agentes modificadores da ação de antibióticos. As informações referentes as práticas zoterápicas foram obtidas através de entrevistas semi-estruturadas e complementadas por entrevistas livres e conversas informais. Foram entrevistadas 52 pessoas, que forneceram informações sobre quais espécies foram usadas como zoterápicos e suas formas uso na medicina veterinária. 39 espécies de animais, distribuídas em 28 famílias, foram identificadas como sendo utilizadas medicinalmente. Os táxons mais representativos foram: aves (13 espécies), mamíferos (12) e répteis (8). *Gallus gallus*, *Bos taurus* e *Ovis aries* foram as espécies que apresentaram maior frequência relativa de citação (FRC) e valor de uso (VU). Dentre as espécies citadas 19 foram registradas pela primeira vez como tendo uso medicinal na etnoveterinária. As categorias de uso medicinal que apresentaram maior fator de consenso dos informantes foram: musculoesquelético (0,92), inflamatório (0,74) e miscelâneas (0,73). Para o estudo de bioprospecção foram utilizadas as gorduras corporais dos animais domésticos, as quais foram extraídas em um aparelho do tipo Soxhlet. A composição química dos óleos foi determinada pela cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Para investigar o possível efeito antimicrobiano e a atividade modificadora da ação de antibióticos foi realizada a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e a atividade modulatória utilizado o método de Microdiluição em Caldo. A análise química revelou que nos óleos fixos dos animais domésticos em estudos houve uma predominância de ácidos graxos insaturados e, que dos compostos químicos identificados, o ácido oléico (ácido 9-octadecanóico) foi o único que esteve presente na composição de todos os óleos. Na investigação da atividade antibacteriana os resultados das CIMs demonstraram que os óleos fixos, quando testados isoladamente, não apresentaram atividade antibacteriana (CIMs \geq 512 $\mu\text{g/mL}$). No entanto, quando associados aos antibióticos, estes foram eficazes em modificarem a sua ação, promovendo um efeito sinérgico: 1) óleo fixo de *Sus scrofa* quando associado com amicacina e amoxicilina; 2) óleo fixo de *Gallus gallus* quando associado com amicacina, amoxicilina, norfloxacino e oxitetraciclina; 3) óleo fixo de *Meleagris gallopavo* quando associado com amicacina, amoxicilina e norfloxacina; 4) óleos fixos de *Capra hircus* e *Bos taurus* quando associado com amicacina, amoxicilina, norfloxacina e oxitetraciclina; e 5) óleo fixo de *Ovis aries* quando associado com amicacina, amoxicilina e oxitetraciclina. Os resultados obtidos neste estudo ajudam a preservar o conhecimento etnoveterinário e reforça a importância da bioprospecção de produtos naturais como uma ciência útil na investigação das propriedades medicinais de zoterapêuticos como uma fonte de novos fármacos.

Palavras-chave: Etnozoologia; ácidos graxos; atividade antimicrobiana.

Abstract

The proposal of this study was to document the zotherapeutic practices in ethnoveterinary, developed in rural areas of Barbalha, Crato and Missão Velha cities, located in the south of Ceará state, Northeast of Brazil; and investigate, through bioprospecting studies, whether there is substantiation in the use of domestic animal fat - *Sus scrofa domesticus* Linn., *Gallus gallus domesticus* Linn., *Meleagris gallopavo* Linn., *Ovis aries*, *Capra hircus* e *Bos Taurus* – as antimicrobial and/or antibiotic modifier action. The information regarding the zotherapeutic practices were obtained through semi-structured and complemented with free interviews and informal conversations. A number of 52 people were interviewed, they gave information about what species have been used as zotherapeutics in the veterinary medicine. A total of 39 species of animal, distributed among 28 families, were identified as medicinally used. The most representative taxa were: birds (13 species), mammals (12), reptiles (8). *Gallus gallus*, *Bos taurus* e *Ovis aries* were the species which showed the most relative citation frequency (RCF) and used value (UV). Among the cited species, 19 were first recorded as having medicinal use in ethnoveterinary. The categories of medicinal use that presented the greatest factor of informant consensus were: skeletal muscle (0.92), inflammatory (0.74) miscellaneous (0.73). In the bioprospecting study the body fat of the domestic animals were utilised, and extracted in a soxhlet apparatus. The chemical composition were determined by chromatography coupled with mass spectrometer. To investigate the possible antimicrobial effect and the modifying activity of the antibiotic action, the minimum inhibitory concentration (MIC) and modulatory activity were determined using the Microdilution method in Broth. The chemical analysis revealed that in the fixed oil of domestic animals studied, there were predominance in unsaturated fatty acids and, among the chemical compounds identified, the oleic acid (9-Octadecenoic acid) was the only one present in the compositions of all oils. Investigating the antibacterial activity the results of MICs have shown that the fixed oils, when tested singly, have not shown antibacterial activity (MICs \geq 512 μ g/mL). However, when associated to the antibiotics, they were effective in modifying the antibiotic action, producing a synergistic effect: 1) *Sus scrofa* fixed oil, when associated with amikacin and amoxicillin 2) *Gallus gallus* fixed oil, when associated with, amoxicillin, norfloxacin and oxytetracycline; 3) *Meleagris gallopavo* fixed oil, when associated with amikacin, amoxicillin, norfloxacin; 4) *Capra hircus* and *Bos taurus* fixed oil, when associated with amikacin, amoxicillin, norfloxacin and oxytetracycline; and 5) *Ovis aries* fixed oil, when associated with, amikacin, amoxicillin and oxytetracycline. The obtained results in this study may help to preserve the knowledge and reinforces the natural products bioprospecting importance as a useful science in the investigation of zotherapeutics medicinal properties of as a source of new drugs.

Keywords: Ethnozology; fatty acids; antimicrobial activity.

INTRODUÇÃO GERAL

1. INTRODUÇÃO GERAL

As práticas e saberes populares são utilizadas por criadores, e fazendeiros para prevenir e tratar doenças em rebanhos e animais de estimação (MATHIAS, 2007). A etnoveterinária é o uso dos conhecimentos, práticas, habilidades e crenças populares relativas à saúde animal. Este termo foi utilizado pela primeira vez na década de 80 por McCORKLE (BARBOZA et al., 2007). Diversos fatores como: o incremento dos custos com serviços veterinários, a dificuldade em adquirir fármacos sintéticos e a crescente demanda por alimentos orgânicos têm aumentado o interesse no estudo da medicina etnoveterinária (CÁRCERES et al., 2004).

O conhecimento médico veterinário tradicional foi adquirido pelas comunidades ao longo de muitos anos, e devido as rápidas mudanças culturais, sócio-econômicas e ambientais, esses conhecimentos estão sendo perdidos (MATHIAS, 2001). Na etnoveterinária existem estudos que descrevem o uso medicinal de plantas (FAROOQ et al., 2008), minerais (ALAWA et al., 2002) e animais (BARBOZA et al., 2007).

De acordo com Souto et al. (2010) o número de estudos que procuram registrar animais usados medicinalmente é crescente, e vem sendo registrado praticamente em todos os continentes, refletindo a difusão desta prática enquanto um dos ramos de pesquisas etnobiológicas. No Brasil a partir da década de 1980 o aumento do número de publicações sobre zooterapia mostraram a importância deste tipo de pesquisa para comunidades tradicionais de distintas paisagens sócio-cultural-ambiental (ALVES, 2009). Entretanto, apesar da grande diversidade cultural e biológica, os levantamentos no Brasil que relata o uso zoterápicos na etnoveterinária são escassos (BARBOZA et al., 2007), estando todos estes estudos restritos a municípios do estado da Paraíba (BARBOZA et al., 2007; CONFESSOR et al., 2009; SOUTO, 2009; SOUTO et al., 2010; SOUTO et al., 2011a,b; SOUTO et al., 2012).

Os registros destes tipos de trabalhos são ferramentas-chave no registro de recursos biológicos de caráter utilitário para comunidades locais (SOUTO et al., 2010) além de permitir uma melhor avaliação do impacto sobre as espécies que são exploradas (ALVES et al., 2007a).

Recursos naturais, além de suportarem os sistemas de saúde tradicionais em diferentes culturas no mundo, também representam uma fonte importante na produção

de fármacos (ALVES & ROSA, 2007). O valor da biodiversidade para a saúde humana e animal tem sido reconhecido na literatura, e um dos seus mais óbvios benefícios é o fato que grande parte dos fármacos produzidos é proveniente da natureza (ALVES & ROSA, 2007, MONTEIRO, 2010). Neste contexto, o conhecimento médico tradicional pode representar uma ferramenta importante em estágios iniciais de pesquisas farmacêuticas (FERREIRA et al., 2010).

A crescente incidência de efeitos adversos associados às drogas convencionais, aliadas ao aumento da resistência microbiana aos antibióticos, desinfetantes e germicidas e a importância clínica dada às infecções, tem feito com que cientistas busquem cada vez mais por produtos naturais que possuam princípios ativos que apresentem atividade antibacteriana intrínseca ou combinada com antibióticos, podendo representar uma nova forma de fazer frente aos microrganismos multirresistentes, além de impedir o contato destes microrganismos com os antibióticos, diminuindo o risco de selecionar novos ou melhores mecanismos de resistência bacteriana (RECIO & RIOS, 1989; PAULO et al., 1992; MATIAS, 2010).

A gordura é um dos principais produtos zoterápicos utilizados para o tratamento de enfermidades em seres humanos (ALVES, 2009; FERREIRA et al., 2009; ALVES & SOUTO, 2011) e outros animais (BARBOSA et al., 2007; SOUTO et al., 2011; SOUTO et al., 2012a,b). A bioprospecção vêm buscando validar a ação antimicrobiana de gordura corporal de animais silvestres (FERREIRA et al., 2009, CABRAL et al., 2013; DIAS et al., 2013; SALES et al., 2014).

Pesquisas que buscaram avaliar a atividade antimicrobiana de gorduras de origem animal indicam que esta ação farmacológica provavelmente ocorre pela presença de maior quantidade de ácidos graxos insaturados presentes na composição lipídica dos animais. (CABRAL et al., 2013; SALES et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2014). Entretanto, estudos sobre a atividade antimicrobiana de ácidos graxos de origem animal ainda são escassos (FERREIRA et al., 2009).

Um fator apontado para a ausência de atividade antimicrobiana entre os zoterápicos é que a quantidade de espécies que foram avaliadas quanto ao seu potencial antimicrobiano ainda é pequena (FERREIRA et al., 2009; FERREIRA et al., 2012; FERREIRA et al., 2015). Este fator é reforçado por alguns estudos que têm demonstrado que as diferentes composições de ácidos graxos existentes em cada espécie

animal podem promover resultados diferentes (FERREIRA et al., 2009; CABRAL et al., 2013; DIAS et al., 2013; SILVA et al., 2011).

Estudos que realizaram a avaliação das atividades antibacteriana e modificadora da ação de antibióticos das gorduras de animais silvestres levaram em conta a escolha de espécies largamente utilizadas na medicina tradicional (FERREIRA et al., 2009; DIAS et al., 2013; SALES et al., 2014). Apesar do número de espécies de animais domésticos citados como zoterápicos ser menor que a de animais silvestres, muitos destes também estão entre os mais utilizados como zoterápicos (BARBOZA et al., 2007; CONFESSOR et al., 2009; SOUTO et al., 2011).

Atualmente ocorre uma ausência de estudos que procuram validar a atividade antibacteriana e modificadora de gorduras dos animais domésticos, sendo que este tipo de análise poderia contribuir para uma melhor compreensão da ação farmacológica dos ácidos graxos de origem animal, como também servir de subsídio para análises posteriores sobre a possibilidade de substituição de produtos de animais silvestres por animais domésticos (FERREIRA et al., 2015).

Diante do exposto as perguntas que nortearam o estudo foram: i) na etnoveterinária ocorre o uso dos zoterápicos entre os grupos humanos de áreas rurais do Ceará. ii) há fundamentação para o uso da gordura de animais domésticos como antimicrobianos.

Este trabalho doutoral representa um esforço no sentido de preservar o conhecimento etnoveterinário e validar a atividade antimicrobiana de espécies de animais domésticos – *Sus scrofa domesticus* Linn. (porco), *Gallus gallus domesticus* Linn. (galinha), *Meleagris gallopavo* Linn. (peru), *Ovis aries* (carneiro), *Capra hircus* (cabra e bode) e *Bos taurus* (boi) – utilizadas nas práticas de medicina veterinária em áreas rurais da região do Cariri cearense, Nordeste do Brasil. Diante disso, foram idealizadas duas hipóteses: 1) Os habitantes de comunidades rurais do Ceará utilizam zoterápicos no tratamento de animais domésticos; e 2) A gordura corporal dos animais domésticos possui atividade antimicrobiana.

Para testar as hipóteses levantadas foram realizados dois estudos, o levantamento sobre o uso de zoterápicos na medicina veterinária e a realização de protocolos experimentais de bioprospecção para quantificação dos compostos químicos e avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos fixos obtidos das gorduras corporais

dos animais domésticos supracitados, objetivando verificar se há fundamentação do uso destes animais nas práticas etnoveterinárias, o que permitiu com que fossem originadas quatro produções científicas, as quais estão relacionadas no quadro abaixo:

Quadro 1 – Produções científicas originadas da tese de doutorado intitulada “Fauna Medicinal em Comunidades Rurais do Ceará: Etnoveterinária e Bioprospecção”, de autoria de Diógenes de Queiroz Dias, do Programa de Pós-graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza, no ano de 2019.

Título	Periódico	Qualis em Biodiversidade	Fator de Impacto
Manuscrito 1: Zooterápicos usados em práticas etnoveterinárias que ocorrem em áreas rurais do Cariri cearense, Brasil	Journal of Ethnopharmacology	A1	3.115
Artigo 1: Bioprospecção da atividade antibacteriana e modulatória do óleo fixo de <i>Sus scrofa domesticus</i> Linnaeus (1758) frente à bactérias de interesse veterinário	Chemistry and Physics of Lipids	B1	2.766
Artigo 2: Body fat modulated activity of <i>Gallus gallus domesticus</i> Linnaeus (1758) and <i>Meleagris gallopavo</i> Linnaeus (1758) in association with antibiotics against bacteria of veterinary interest	Microbial Pathogenesis	B2	2.332
Artigo 3: Antibacterial and antibiotic modifying activity evaluation of ruminants' body fat used as zooterapeutics in ethnoveterinary practices in Northeast Brazil	Journal of Ethnopharmacology	A1	3.115

Em adição, o desenvolvimento deste trabalho permitiu vislumbrar a riqueza do conhecimento etnoveterinário associado ao uso de zooterápicos em áreas rurais do Cariri cearense. Outro aspecto interessante do estudo é a presença do efeito sinérgico promovido pelos óleos fixos obtidos das gorduras corporais dos animais domésticos quando associados a diferentes antibióticos, os quais podem ser úteis como possíveis agentes opoterápicos visto a crescente incidência de resistência bacteriana.

REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. ETNOZOOLOGIA

Produtos oriundos da fauna são utilizados de diferentes formas, especialmente para fins alimentares, mas também como ferramentas, vestuário, uso medicinal e mágico-religioso (ALVES et al., 2009b; INSKIP & ZIMMERMANN, 2009). A diversidade de interações que as mais variadas culturas humanas mantêm com os animais é abordada através da etnozootologia, ciência esta que busca compreender como os mais variados povos percebem e interagem com os recursos da fauna (ALVES & SOUTO, 2011).

Historicamente, a etnozootologia resulta da associação de estudos desenvolvidos em diferentes áreas, como: a zootologia, a sociologia, a antropologia e a ecologia humana (ALVES & SOUTO, 2011). Considerando que a etnozootologia faz parte de uma ciência maior, a etnobiologia, o histórico de desenvolvimento se sobrepõe (ALVES & SOUTO, 2010).

A etnobiologia tem demonstrado que populações nativas ou locais possuem um profundo conhecimento sobre a natureza e importância de vários recursos biológicos para os mais variados povos (BEGOSSI et al., 1999; HANAZAKI et al., 2009). Este conhecimento vem ganhando atenção em todo o mundo, uma vez que os saberes e as técnicas tradicionais completam o conhecimento científico em áreas como: pesquisa e avaliação de impactos ambientais; manejo de recursos e desenvolvimento sustentável (MORIN-LABATUT & AKATAR, 1992; JOHANNES, 1993; SILITOE, 1998).

2.2. ZOOTERAPIA

A zooterapia está inserida na categoria das práticas médicas tradicionais (ANDRADE & COSTA-NETO, 2006) É definida como a cura de doenças de humanos e animais através do uso de terapêuticos obtidos de animais ou derivados destes. Não deve ser esquecido que neste contexto, a palavra “doença” deve utilizada em um sentido amplo, referindo-se tanto às enfermidades de origem personalística (provocada por um agente humano ou sobrenatural) quanto àquelas de origem naturalísticas (causadas pela intervenção de causas ou forças naturais) (FOSTER, 1983).

O uso de produtos terapêuticos de origem animal tem constituído parte significativa do inventário de substâncias medicinais presentes em várias culturas humanas (LEV, 2003). No século XIII, Alberto Magno prescreveu testículos de porcos para tratar a impotência masculina, o útero das lebres para mulheres inférteis e o cérebro dos camelos, leões e lebres contra a epilepsia e a loucura (MOUSSON-LANAUZE, 1926). Em 1893, o médico Charles-Édouard Brown-Séquard escandalizou o mundo científico e leigo, ao relatar para a *Société de Biologie*, o impressionante aumento de sua força física e mental após receber uma injeção subcutânea de um líquido extraído dos testículos de cães e ratos, tornando esta experiência o marco inicial da endocrinologia (BROWN-SÉQUARD, 1893). E nas pesquisas etnozoológicas deste século ainda encontramos uma grande variedade de animais (selvagens e domésticos) constituindo a farmacopéia de diversos povos ao redor do mundo (ALVES & ROSA, 2006; ALVES & ROSA, 2007a,b; FALODUN et al., 2008; SOUTO, 2009; Ferreira et al., 2012).

A prática zoterápica, é historicamente antiga e geograficamente disseminada (MARQUES, 1994) No Brasil, a partir da década de 1980 é crescente o número de trabalhos sobre zoterapia, demonstrando a importância desta ciência para comunidades tradicionais (ou locais) de paisagens sócio-culturais-ambientais distintas (ALVES, 2009; ALVES & SOUTO, 2011).

Nas práticas zoterápicas, os animais podem ser utilizados integralmente ou em partes (ex: pena, couro, dente, gordura, leite, carne, chifre, espinho, escama, ossos, sangue, fígado, carne e cabeça), e até produtos do metabolismo (ALVES & ALVES, 2011). Animais vivos também são empregados no tratamento de doenças. Andrade & Costa-Neto (2005) registraram no estado da Bahia que os moradores da cidade de São Félix cospem na boca do peixe cambotá (*Callichthys sp.*), soltando-o em seguida, sendo esta prática etnomédica usada para tratar tuberculose, diabetes e câncer. No semiárido Paraibano e Pernambucano, o pássaro canção (*Cyanocorax cyanopogon*) é utilizado em “simpatia” popular para tratar pessoas asmáticas, devendo esta ave ser alimentada com os restos alimentares do enfermo (ALVES et al., 2008a; ALVES et al., 2009b).

Diferentes formas de preparo e administração de recursos zoterápicos são descritas. Ossos são moídos para serem ingeridos como chá ou adicionado às refeições (ALVES & ALVES, 2011). Banhas e óleos geralmente são usados na forma tópica (através de massagens) ou ingeridos (ALVES & ROSA, 2006). A banha (ou gordura) é apontada como um dos recursos zoterápicos de maior uso (FERREIRA et al., 2009)

FERREIRA et al., 2012; ALVES & ALVES, 2011). Este produto oriundo de diversas espécies de peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos têm sido registrada no uso de diversas doenças como: osteoporose, asma, infecção urinária, diarreia, sinusite, reumatismo, câncer (FERREIRA et al., 2009; FERREIRA et al., 2012; ALVES & ALVES, 2011).

2.3. ETNOVETERINÁRIA

Os primeiros seres humanos que iniciaram o processo de atividades ligadas à criação de animais também se preocupavam com a saúde e o bem-estar destes, sendo que perder um animal implicaria na perda de alimento ou meio de transporte. Este cuidado com a saúde animal surgiu após a domesticação de antigas espécies selvagens usadas como transporte ou fonte direta de alimento. Este contexto marca, portanto, o surgimento das práticas etnoveterinárias (SOMVANSI, 2006; BARBOZA et al., 2007).

No Código de Hammurabi, na Babilônia, já existiam leis relativas aos honorários cobrados por pessoas que tratavam bovinos e equídeos. O Egito, a China e a Arábia desenvolveram os primeiros centros de práticas e conhecimentos veterinários. Entretanto, em grande parte da história, o conhecimento médico estava mais relacionado com crenças religiosas do que com a ciência. Isso mudou drasticamente no fim do século 20, principalmente após a Segunda Guerra Mundial, quando a quimioterapia para controle das doenças tornou-se predominante e as enfermidades passaram a ser tratadas com base na fisiologia, patologia e imunologia (VAN VEEN, 1997).

Até a década de 1970 é relevante o fato de uma única medicina tradicional em cada comunidade ou localidade ter sido ignorada (MCCORKLE, 1986; BIZAMA, 1994), onde pesquisas desenvolvidas estavam focadas na medicina tradicional para humanos (KALA, 2005; KHALID et al., 2007) ou na etnoveterinária (LANS & BROWN, 1998; LANS et al., 2001), e via de regra, ao contrário da etnomedicina humana, os curandeiros e suas práticas foram ignoradas pela comunidade veterinária moderna (MATHIAS & MCCORKLE, 2004). Por este motivo, pesquisas etnoveterinárias estão aumentando em todo o mundo, tanto pelo interesse de registrar o conhecimento etnoveterinário acerca do manejo de terras e de animais em sociedades

tradicionais ou indígenas, como também devido ao interesse em produzir substitutos terapêuticos válidos para os medicamentos alopáticos (PIERONI et al., 2004).

No universo acadêmico, o termo etnoveterinária surgiu através do estudo de Constance M. MacCorkle, onde ela se refere a etnoveterinária como “as investigações sistemáticas de crenças populares na medicina veterinária” (McCORKLE, 1986). Estudos etnoveterinários sistêmicos sobre remédios usados em práticas fitoterápicas já foram realizados principalmente na África, Ásia, América Central e Europa, em que buscam especialmente por fitoterápicos que possuam atividade antiparasitária (DOLD & COOKS, 2001; LANS & BROWN, 1998). No Brasil, também encontramos estudos etnoveterinários associados à fitoterápicos (GALDINO et al., 2007; MARINHO et al., 2007) e a zooterápicos (BARBOZA et al., 2007; CONFESSOR et al., 2009; SOUTO et al., 2011).

Entretanto, apesar de no Brasil pelo menos 354 espécies de animais serem usadas com propósito medicinal para o tratamento de doenças dos seres humanos (ALVES et al., 2013), encontramos na literatura científica apenas 46 espécies da fauna usada como medicinal na etnoveterinária brasileira (SOUTO et al., 2010; SOUTO et al., 2011a,b; SOUTO et al., 2012).

2.4. BIOPROSPECÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

O valor da biodiversidade para a saúde humana e animal tem sido reconhecido na literatura, e um dos seus mais óbvios benefícios é justamente o fato que grande parte dos fármacos produzidos é proveniente da natureza (ALVES & ROSA, 2007). Neste contexto, o conhecimento médico tradicional pode representar uma ferramenta importante em estágios iniciais de pesquisas farmacêuticas (FERREIRA et al., 2010). Desta forma, embora a exploração farmacêutica dos recursos também possa se constituir um fator adicional de pressão sobre as espécies, também pode viabilizar o interesse na proteção desses recursos (ALVES & ALBUQUERQUE, 2013).

No cenário atual do uso e comércio de animais medicinais do Brasil existe a necessidade de estratégias de conservação, as quais devem levar em consideração aspectos culturais, biológicos e/ou ecológicos e sócio-econômicos (FERREIRA et al., 2012; FERREIRA, 2013). Uma destas estratégias de conservação é a possibilidade da

substituição de produtos medicinais de animais silvestres por aqueles derivados de plantas ou animais domésticos (LUO et al., 2011).

No Nordeste do Brasil o estudo de Ferreira et al. (2015) procurou avaliar os aspectos conservacionistas relacionados ao comércio medicinal de zoterápicos em mercados públicos, sendo observado que para alguns destes mercados o conhecimento associado ao uso medicinal de animais domésticos é semelhante aqueles dos silvestres, de forma que essa substituição seria, aparentemente, possível. Desta forma, o incentivo ao uso de produtos medicinais (como banhas, peles e chifres) de espécies domésticas que já são criadas para várias finalidades (ex: alimentícios, vestuário) poderia reduzir possíveis impactos às espécies silvestres comercializadas no Brasil (FERREIRA et al, 2015).

2.5. RESISTÊNCIA ANTIBACTERIANA E ZOOTERÁPICOS

O interesse na natureza como potencial fonte de agentes quimioterápicos é contínuo. Os produtos naturais e seus derivados representam mais de 50% de todas as drogas em uso clínico (GURIB-FAKIM, 2006). No mercado veterinário, por exemplo, muitos antimicrobianos, aditivos alimentares, endectocidas e anticocidanos correntemente utilizados foram sintetizados a partir de produtos naturais (ROCHFORT et al., 2008).

A fauna brasileira como relatado anteriormente por Alves et al. (2013), possui pelo menos 354 espécies de animais utilizados como zoterápicos. Entretanto apenas cerca de 5% desta mesma fauna foi testada quanto a sua atividade farmacológica (FERREIRA, 2013). Neste pequeno universo de espécies brasileiras testadas, alguns trabalhos buscaram analisar a atividade antimicrobiana dos zoterápicos (CABRAL et al., 2013; DIAS et al., 2013; SALES et al., 2014), entretanto nenhuma delas é espécie doméstica.

Recentemente, trabalhos vem sendo realizados objetivando demonstrar o potencial antimicrobiano de produtos naturais provenientes de animais. As lisozimas da Tartaruga de casco mole chinesa (*Trionyx sinensis*), da Tartaruga de casco mole asiática (*Amyda cartilagenea*) e da Tartaruga verde (*Chelonia mydas*) demonstraram atividade antibactericida (THAMMASIRIRAK et al., 2006). Os extratos metanólico e butanólico da pele do Sapo cururu (*Rhinella jimi*) apresentaram atividade antifúngica frente a

fungos dermatófitos (SANTOS et al., 2010). A gordura corporal do Cágado de barbeta (*Phrynops geoffroanus*) (DIAS et al., 2013) quando associado à antifúngicos apresentou eficácia frente à fungos, e proteínas e ácidos graxos do leite bovino também demonstraram possuir atividade antibacteriana (WALZEM, 1999; SILVA et al., 2011).

Em trabalhos que buscam avaliar a atividade antimicrobiana de produtos oriundos de animais é comum a sugestão dos autores para que mais estudos ocorram, pois ainda deve ser levado em consideração a necessidade de realizar mais modelos de estudos específicos de doenças para comprovação de remédios derivados dos zoterápicos, e que somente poucas espécies foram avaliadas quanto a sua possível atividade antimicrobiana (FERREIRA et al., 2010; CABRAL et al., 2013., DIAS et al., 2013; SALES et al., 2014, OLIVEIRA et al., 2014).

REFERÊNCIAS

3. REFERÊNCIAS

ALAWA, J. P.; JOKTHAN, G.; E.; AKUT, K. Ethnoveterinary medical practice for ruminants in the subhumid zone of northern Nigéria. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 54, p. 79-90, 2002.

ALVES, R. R. N. Fauna used in popular medicine in Northeast Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 5, n. 1, 2009.

ALVES, R. R. N.; ALBUQUERQUE, U.P. Animals as a Source of Drugs: Bioprospecting and Biodiversity Conservation. In **Animals in Traditional Folk Medicine**, eds. R. R. N. Alves & Rosa, I. Springer, p. 67-89, 2013.

ALVES, R.R.N.; ALVES, H.N. The faunal drugstore: Animal-based remedies used in traditional medicines in Latin America. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 7, p. 9, 2011.

ALVES R.R.N.; ROSA, I.L.; SANTANA, G.G. The role of animal-derived remedies as complementary medicine in Brazil. **BioScience** v. 57(11), p. 1–7, 2007.

ALVES, R.R.N. et al. Animal-based remedies as complementary medicines in Santa Cruz do Capibaribe, Brazil. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 8, p. 1-9, 2008.

ALVES, R.R.N. et al. Commercialization of animal-derived remedies as complementary medicine in the semi-arid region of Northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, p. 600-608, 2009b.

ALVES, R.R.N.; ROSA, I.L. from cnidarians to mammals: the use of animal as remedies in fishing communities in NE brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, p. 259-276, 2006.

ALVES, R. R.N.; ROSA. I. L. Zooterapeutic practices among fishing communities in Nort and Northeast Brazil: A comparison. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 82-103, 2007a.

ALVES, R. R.N.; ROSA, I. L. Zooterapy goes to town: The use of animal-based remedies in urban áreas of NE and N Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, p. 541-555, 2007b.

ALVES, R.R.N.; SOUTO, W.M.S. Etnozoologia: conceitos, considerações históricas e importância. ALVES, R.R.N.; SOUTO, W.M.S., MOURÃO, J.S. In: **A Etnozoologia no Brasil: importância, status atual e perspectivas**. Nupeea. 2010.

ALVES, R.R.N.; SOUTO, W.M.S. Ethnzoology in Brazil: current status and perspectives. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 7, p. 2-18, 2011.

ANDRADE, J. N.; COSTA-NETO, E. M. Primeiro registro da utilização medicinal de recursos pesqueiros na cidade de Sao Felix, Estado da Bahia, Brasil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 27(2), p. 177-183, 2005.

ANDRADE, J.N.; COSTA-NETO, E.M. O comércio de produtos zoterápicos na cidade de Feira de Santana, Bahia, Brasil. **Sitientibus**, v. 6, p.37-43, 2006.

BARBOZA, R.R.D. et al. The use of zootherapeutics in folk veterinary medicine in the district of Cubati, Paraíba State, Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 3, (32), 2007.

BEGOSSI, A. et al. Uses of Fish and Game by Inhabitants of an Extractive Reserve (Upper Juruá, Acre, Brazil). **Environment, Development and Sustainability**, v. 1, p. 73-93. 1999.

BIZAMA, N. Traditional Veterinary Practices in Africa. **Schriftenreihe**, n. 243, 1994.

BROWN-SÉQUARD, C.E. Société de Biologie, Séance Du 18 mars. **Archives de physiologie normale et pathologique**, p. 192, 1893.

CABRAL, M.E.S. et al. Evaluations of the Antimicrobial Activities and Chemical Compositions of Body Fat from the Amphibians *Leptodactylus macrosternum*, Miranda-Ribeiro (1926) and *Leptodactylus vastus* Adolf Lutz (1930) in Northeastern Brazil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-7, 2013.

CÁRCERES, A. et al. **La etnoveterinária como um instrumento para la atención integral de la producción pecuaria**. In: XIII Congresso Italo-Latinoamericano do etnomedicina, Roma, 2004.

CONFESSOR, M. et al. Animal to heal animals: ethnoveterinary practices in semi-arid region, Northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 5(1), 2009.

DIAS, D.Q. et al. Chemical composition and validation of the ethnopharmacological reported antimicrobial activity of the body fat of *phrynops geoffroanus* used in traditional medicine. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1-4, 2013.

DOLD, A.P.; COOKS, M.L. Traditional veterinary medicine in the Alice district of the Eastern Cape Province, South Africa. **South Africa Journal of Science**, v. 97, p. 375-379, 2001.

FALODUN, A. O.; OWOLABI, O. J.; OSAHON, O. Physicochemical, antimicrobial and anti-inflammatory evaluation of fixed oil from *Boa constrictor*. **Acta Polonian Pharmaceutical Drugs and Research**, v. 65, p. 477-480, 2008.

FAROOQ, Z. et al. Ethnoveterinary practices for the treatment of parasitic diseases in livestock in Cholistan desert (Pakistan). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 213-219, 2008.

FERREIRA, F.S. et al. Is the body fat of the lizard *Tupinambis meriana* effective against bacterial infections? **Journal of Ethnopharmacology**, v. 126, p. 233-237, 2009.

FERREIRA, F.S. et al. Topical antiinflammatory of body fat from the lizard *Tupinambis meriana*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, p. 514-520, 2010.

FERREIRA, F.S. et al. The Trade in Medicinal Animals in Northeastern Brazil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1-20, 2012.

FERREIRA, F.S. **Fauna medicinal comercializada no Brasil: etnobiologia, bioprospecção e conservação**. Tese de Doutorado em Ciências Biológicas. Universidade Federal da Paraíba, 2013.

FERREIRA, F.S. et al. Conservation of animals traded for medicinal purposes in Brazil: Can products derived of plants or domestic animals replace products of wild animals? **Regional Environmental Change**, v. 15, p. 1-11, 2015.

FOSTER, G.M. **Introduction a l'ethnomédecine**. Pp. 17-24. In: BANNERMAN, R.H., J. BURTON & C. WEN-CHIEN (ed.). *Médecine traditionnelle et couverture des soins de santé*. Genebra, OMS, 1983.

FOSTER, M.S.; JAMES, S.R. Dogs, Deer, or Guanacos: Zoomorphic Figurines from Pueblo Grande, Central Arizona. **Journal of Field Archaeology**, v. 29, p. 165-176, 2002.

GALDINO, M. et al. Incentivo da utilização de produtos de plantas medicinais dos coletivos de mulheres do assentamento rural Pirituba II em animais de produção. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 380-383, 2007.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, p. 1-93, 2006.

HANAZAKI, N.; ALVES, R.; BEGOSSI, A. Hunting and use of terrestrial fauna used by Caicararas from the Atlantic Forest coast (Brazil). **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 5, p. 1-36. 2009.

INSKIP, C.; ZIMMERMANN, A. Human-felid conflict: a review of patterns and priorities worldwide. **Orxy**, vol. 43, n. 1, p. 18-34, 2009.

JOHANNES, R.E. Integrating traditional ecological knowledge and management with environmental impact assessment. In: J.T. Inglis (ed.). **Traditional Ecological Knowledge: Concepts and Cases**. Ottawa, Canada, International Program on Traditional Ecological Knowledge and International Development Research Centre, p. 33-39, 1993.

KALA, C. P. Ethnomedicinal botany of the Apatani in the Eastern Himalayan Region of India. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v.1, n. 11, p. 20, 2005.

KHALID, H.S.; EL-KAMALI, H.H.; ELMANAN, A.M.A. Trade of Sudanese Natural Medicinals and their role in Human and Wildlife Health Care. **Cropwatch Newsletter**, n. 10, p. 1-5, 2007.

LANS, C.; HARPER, T.; GEORGES, K. Medicinal and ethnoveterinary remedies of hunters in Trinidad. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.1, n.10, p. 17, 2001.

LANS, C.; BROWN, G. Ethnoveterinary medicines used for ruminants in Trinidad and Tobago. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 35, n. 35, p, 149-163, 1998.

LEV, E. Traditional healing with animals (zootherapy): medieval to present-day Levantine practice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 85, p.107-118, 2003.

LUO, J. et al. Substitutes forendangered medicinal animal horns and shells exposed by antithrombotic and anticoagulation effects. **Journal of ethnopharmacology**, v. 136, p. 210-216, 2011.

McCORKLE, C.M. An introduction ethnoveterinary research and development. **Journal of Ethnobiology**, v. 6, n. 1, p. 129-149, 1986.

MARINHO, M.L. et al. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.3, p.64-69, 2007.

MARQUES, J.G.W. **A fauna medicinal dos índios Kuna de San Blás (Panamá) e a hipótese da universalidade zooterápica**. In: Anais da 46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. Vitória, 1994.

MATIAS, E.F.F. **Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora da resistênciabacteriana à aminoglicosídeos de extratos polares e apolares de *Croton campestris* A. (velame), *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca) e *Cordia verbanacea* DC. (erva-baleeira)**. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular. Universidade Regional do Cariri, 2010.

MATHIAS, E. Introducing ethnoveterinary medicine, Ethnovetweb, 15 jan. 2001. Acessado em 330 jul. 2018. Online. Disponível em: <http://www.ethnovetweb.com>.

MATHIAS, E. Ethnoveterinary medicine in the era of evidence-based medicine: Mumbo-jumbo or a valuable resource? **The Veterinary Journal**, v. 173, p. 241-242, 2007.

MATHIAS, E.; MCCORKLE, C.M. Traditional livestock healers. **Journal of Ethnobiology**, v. 23, n. 1, p. 277-284, 2004.

MONTEIRO, M.V.B. **Estudo Etnoveterinário de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica**. Tese de doutorado. Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Estadual do Ceará, 2010.

MORIN-LABATUT, G.; AKATAR, S. Traditional Knowledge: a resource to manage and share. **Development**, v. 4, p. 24-30, 1992.

MOUSSON-LANAUZE (Dr.). **A travers L'opothérapie**. Paris, Laboratories Couturieux, 1926.

OLIVEIRA, O.P. et al. Antimicrobial activity and chemical composition of fixed oil extracted from the body fat of snake *spilotes pullatus* (Linnaeus, 1758) (Colubridae: Ophidia). **Pharmaceutical Biology**, v. 52, p. 740-744, 2014.

PAULO, M.Q. et al. Chemical and antimicrobial analysis obtained of essential oil of Annonaceae. **Phytochemical society of North America newsletter**, 32: 27, 1992.

PIERONI, A. et al. Natural remedies and nutraceutical used in Ethnoveterinary Practices in Inland Southern Italy, **Veterinary Research Communications**, v. 28, p. 55-80, 2004.

RECIO, M.C.; RIOS, J.L. A review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literatura 1978-1988. **Phytotherapy research**, 3: 117-125, 1989.

SALES, D.L. et al. Chemical identification and evaluation of the antimicrobial activity of fixed oil extracted from *Rhinella jimi*. **Parmaceutical Biology**, p. 1-6, 2014.

SANTOS, K.K.A. et al. Atividade Antifúngica de Extratos Vegetais e Animais da Região do Cariri. **Cadernos de Cultura e Ciência**, v. 1(2), p. 53-65, 2010.

SILLITOE, P. The development of indigenous knowledge. **Current Anthropology**, v. 39, p. 223-252. 1998.

SILVA, L.P. et al. Comparative Study of the Antimicrobial Activities and Mammalian Cytotoxicity of 10 Fatty Acid-Rich Oils and Fats from Animal and Vegetable. **The Natural Products Journal**, v.1, p. 40-46, 2011.

SOMVANSHI, R. Veterinary Medicine and Animal Kepping in Ancient India. **Asia Agri-history**, v. 10, n. 2, p. 133-146, 2006.

SOUTO, W. M. S. **Animais de uso veterinário no Semi-Árido paraibano: implicações para conservação e sustentabilidade**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual da Paraíba, 2009.

SOUTO, W.M.S. et al. A zooterapia na etnoveterinária do semi-árido paraibano. SOUTO, W.M.S., MOURÃO, J.S. In: **A Etnozoologia no Brasil: importância, status atual e perspectivas**. Nupeea. 2010.

THAMMASIRIRAK, S. et al. Purification, characterization and comparison of reptile lysozymes. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**, v. 143, p. 209–217, 2006.

VAN VEEN, T.W.S. Sense or nonsense? Traditional methods of animal parasitic disease control. **Veterinary Parasitology**, v. 71, p. 177-194, 1997.

VAN VEEN, T.W.S. One medicine: the dynamic relationship between animal and human medicine in history and present. **Agriculture and human values**. V. 15, p. 115-120, 1998.

WALZEM, R. L. Propriedades benéficas à saúde das proteínas de soro e frações de soro. Produtos e bebidas nutricionais. **Texas A & M University**, p. 1-8, 1999.

MANUSCRITO 1

4. MANUSCRITO 1: ZOOTHERÁPICOS USADOS EM PRÁTICAS ETNOVETERINÁRIAS QUE OCORREM EM ÁREAS RURAIS DO CARIRI CEARENSE, BRASIL

Diógenes de Queiroz Dias^{a,*}, Felipe Silva Ferreira^b, Gyllyandeson de Araújo Delmondes^c, Débora Lima Sales^c, George Pimentel Fernandes^c, Henrique Douglas Melo Coutinho^c, Rômulo Romeu da Nóbrega Alves^d, Waltécio de Oliveira Almeida^c.

Manuscrito a ser submetido ao periódico “Journal of Ethnopharmacology”

Qualis em Biodiversidade: A1

Fator de Impacto: 3.115



Zooterápicos usados em práticas etnoveterinárias que ocorrem em áreas rurais do Cariri cearense, Brasil

Diógenes de Queiroz Dias^{a,*}, Felipe Silva Ferreira^b, Gyllyandeson de Araújo Delmondes^c, Débora Lima Sales^c, Izabel Cristina Santiago Lemos^{a,c}, Giovana Mendes de Lacerda^c, George Pimentel Fernandes^c, Henrique Douglas Melo Coutinho^c, Rômulo Romeu da Nóbrega Alves^d, Waltécio de Oliveira Almeida^c.

^aUniversidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, Brasil.

^bUniversidade Federal Vale do São Francisco (UNIVASF), Senhor do Bonfim-BA, Brasil.

^cUniversidade Regional do Cariri (URCA), Crato-CE, Brasil.

^dUniversidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campina Grande-PB, Brasil.

*Corresponding author: Dias, D.Q. (Diógenes de Queiroz Dias). Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, Brasil. E-mail: dqddiogenes@gmail.com

Resumo

Relevância etnofarmacológica: A Caatinga é um bioma que existe apenas no Brasil. Em diversas áreas deste bioma o uso de zooterápicos na medicina veterinária vem desaparecendo. Levantamentos etnoveterinários são importantes para discussões correlacionadas com políticas públicas, manejo sustentável de recursos naturais, biologia da conservação e desenvolvimento de novos fármacos. Apesar da maioria dos estudos com o uso de zooterápicos no Nordeste brasileiro ocorrer em áreas rurais, registros do uso de zooterápicos na etnoveterinária do Cariri cearense são inexistentes.

Objetivo de estudo: a proposta deste estudo foi documentar as práticas zoterápicas na etnoveterinária desenvolvida em áreas rurais dos municípios de Barbalha, Crato e Missão Velha, localizados no sul do Ceará, Nordeste do Brasil.

Materiais e métodos: As informações foram obtidas através entrevistas semi-estruturadas, e complementadas por entrevistas livres e conversas informais. Foram entrevistadas 52 pessoas, que forneceram informações sobre quais espécies foram usadas como zoterápicos, quais partes foram usadas como remédios, as formas de uso e quais enfermidades dos animais domésticos eram tratadas através da administração dos zoterápicos. Os dados obtidos foram tabulados e posteriormente calculado a Frequência Relativa de Citação (FRC), o Fator de Consenso dos Informantes (FCI) e o valor de uso (VU).

Resultados: 39 espécies de animais, distribuídas em 28 famílias, foram identificadas como sendo utilizadas medicinalmente. Os táxons mais representados foram: aves (13 espécies), mamíferos (12) e répteis (8). *Gallus gallus*, *Bos taurus* e *Ovis aries* foram as espécies que apresentaram maior FRC e VU. Dentre as espécies citadas 19 foram registradas pela primeira vez como tendo uso medicinal na etnoveterinária foram encontradas. As categorias de uso medicinal que apresentaram maior de consenso dos informantes neste estudo foram: musculoesquelético, inflamatório e miscelâneas.

Conclusões: Nossos resultados ajudam a preservar o conhecimento etnoveterinário, que é importante para aumentar a compreensão sobre as relações que ocorrem entre os seres humanos e a natureza, e também para elaborar estratégias mais eficazes para a conservação das espécies animais consideradas de uso medicinal pelas populações do Semi-árido brasileiro.

Palavras-chave: etnoveterinária; etnozootologia; zooterapia; Caatinga; Nordeste brasileiro.

1. Introdução

Pesquisadores em diversos países têm evidenciado através da etnobiologia o uso medicinal de animais e plantas (Calixto, 2005; Ferreira et al., 2012; Kidane et al., 2018; Altaf et al., 2018; Mongalo and Makhafola, 2018). O uso destes recursos para as mais diversas propostas medicinais não está restrito apenas ao homem, sendo também usado na medicina veterinária tradicional (ou etnoveterinária) (Abbas et al., 2002; Souto et al., 2011; Souto et al., 2012; Ritter et al., 2012; Lulekal et al., 2014).

O território brasileiro possui uma rica diversidade de espécies de animais, e quando associada com a sua diversidade cultural, se traduz num conhecimento complexo dos usos dos recursos oriundos da fauna (Alves and Rosa, 2005; Rodrigues, 2006; Alves et al., 2010; Ferreira et al., 2012). Inventários etnozoológicos sobre o uso de animais medicinais (ou zoterápicos) na atenção à saúde humana têm sido registrados (Alves and Rosa, 2006; Alves and Rosa 2007; Ferreira et al., 2009; Ferreira et al., 2012). Entretanto, poucos levantamentos etnoveterinários associados ao uso de zoterápicos foram registrados, sendo este tipo de estudo ainda considerado escasso quando comparado com os inventários etnozoológicos voltados para o uso em seres humanos (Barbosa et al., 2007; Souto et al., 2011; Souto et al., 2012).

Plantas consideradas medicinais têm sido usadas tradicionalmente na prevenção e controle de doenças que afligem os animais domésticos (Viegi et al., 2003; Akarreta et al., 2010). Mesmo ocorrendo uma predominância em território brasileiro de estudos sobre o uso medicinal de plantas na etnoveterinária, produtos derivados de zoterápicos também representam importantes recursos terapêuticos na medicina veterinária

tradicional (Souto et al., 2012). No Nordeste do Brasil várias espécies de animais são consideradas como recursos utilizados no tratamento de enfermidades que acometem animais domésticos (Souto et al., 2011; Souto et al., 2012). Durante séculos os povos que habitam esta região descobriram e aprenderam a utilizar estes recursos naturais nativos do bioma Caatinga - único bioma exclusivamente brasileiro - para serem administrados nos seus animais de criação, e sendo este conhecimento transmitido via oral através das gerações (Barbosa et al., 2007; Alawa et al., 2002).

A Caatinga é considerada rica em espécies endêmicas de animais e plantas (Leal et al., 2005). Estudos apontam que em diversas áreas deste bioma, o uso de zoterápicos na etnoveterinária vem desaparecendo (Souto et al., 2011; Souto et al., 2012). O ritmo acelerado da utilização dos recursos naturais da Caatinga (incluindo o uso medicinal da fauna e flora) torna necessário e imprescindível o desenvolvimento de estudos sobre o uso destes recursos na etnoveterinária no Semi-árido brasileiro, pois levantamentos desse tipo são importantes para discussões correlacionadas com políticas públicas de saúde, manejo sustentável de recursos naturais, biologia da conservação e desenvolvimento de novas drogas (Alves and Rosa, 2005; Souto et al., 2011). Outro fator importante para que sejam desenvolvidos inventários sobre o uso medicinal de animais para fins de tratamento veterinário, é que no Nordeste brasileiro as práticas etnoveterinárias evoluíram associadas com as práticas médicas tradicionais voltadas para o homem e, portanto, a análise das práticas etnoveterinárias também pode auxiliar numa melhor compreensão das interações humanas com seu ambiente (Souto et al., 2011a).

O Cariri cearense está localizado no Sul do estado do Ceará. A sua geografia é marcada principalmente pela Chapada do Araripe (Bonifácio et al., 2016). A Chapada do Araripe está inserida no bioma Caatinga, e é composta por savana, floresta seca e

mata úmida, além de ser considerada uma área prioritária para a conservação deste bioma por possuir alta biodiversidade de flora e fauna (Roberto et al., 2009). Possui uma área de proteção ambiental e uma floresta nacional. Além do Ceará, a Chapada do Araripe ainda abrange os estados do Piauí, Pernambuco e Paraíba. A área que ocupa o Cariri Cearense é considerada rica em manifestações sócio-culturais (ex: danças, artes plásticas e música) e possui um grande reservatório de água no seu subsolo (Bonifácio et al., 2016). A presença de levantamentos do uso medicinal de animais voltados para o homem já foi registrada em mercados, feiras livres e zona rural de municípios desta região (Ferreira et al., 2009a,b). Apesar da maioria dos estudos com o uso de zoterápicos no Nordeste brasileiro ocorrer em áreas rurais (Alves, 2009), o registro de zoterápicos utilizados na ethnoveterinária da zona rural desta região são inexistentes. Portanto, este estudo tem os seguintes objetivos: a) Quais animais ou partes deles são usadas na ethnoveterinária? b) quais enfermidades dos animais domésticos da região são tratadas usando zoterápicos?

2. Material e métodos

2.1. Aspectos éticos da pesquisa

Quanto aos aspectos legais este estudo foi enviado a Plataforma Brasil que encaminhou para a o Comitê de ética em Pesquisa da Universidade Regional do Cariri, onde obtivemos a aprovação para realizar este estudo, através do processo de nº1.322.520. Ainda por exigências legais no Brasil, também foi necessário a aprovação do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) e Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio/SISBio). O SISGEN concedeu a autorização nº AO4C3E3; e o ICMBio/SISBio permitiu o estudo através do nº 63199.

2.2. Área de estudo

Os municípios de Barbalha, Crato e Missão Velha estão localizados na Chapada do Araripe, no sul do Ceará, Brasil (Fig. 1). O município de Barbalha ocupa uma área de 569,508 km² tem uma população estimada em 60.155 pessoas. O município de Missão Velha ocupa uma área de 645,704 km² e tem uma população estimada em 35.662 pessoas. O município do Crato ocupa uma área de 1.163,476 km² e tem uma população de 131.372 pessoas (IBGE, 2018). As principais atividades econômicas dos três municípios são a agricultura e a indústria (IPECE, 2018).

2.3. Procedimentos

A pesquisa de campo foi realizada nos meses de agosto e setembro de 2018. As informações obtidas através de entrevistas semi-estruturadas foram complementadas por entrevistas livres (Huntington, 2000) e conversas informais. Todos os participantes antes de cederem as entrevistas foram informados sobre os objetivos deste estudo e assinaram o termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Nas entrevistas semi-estruturadas, os participantes foram solicitados a indicar para cada animal considerado como zoterápico: seu nome local; quais partes foram usadas como remédio; quais são as doenças tratadas; as formas de preparação e uso; os aspectos espirituais associados ao seu uso; se ocorreu eficácia no tratamento da enfermidade e como esse conhecimento foi adquirido.

As entrevistas foram realizadas nas áreas rurais dos três municípios. Em Barbalha as entrevistas foram realizadas no Sítio São Judas Tadeu (7°22'19.6"S e 39°20'19.2"W), distrito do Caldas; no Crato ocorreram no Sítio Baixa do Maracujá, distrito de Santa Fé (7°09'57.5"S e 39°31'48.7"W); e em Missão velha, no distrito de Jamacaru (7°20'44.0"S e 39°08'38.4"W). Um total de 52 pessoas foram entrevistadas

(33 homens, representando 63,5% dos entrevistados; e 19 mulheres, representando 36,5% das entrevistadas), e distribuíram-se da seguinte forma: Barbalha (18 homens), Crato (10 homens e 11 mulheres) e Missão Velha (5 homens e 8 mulheres). Os entrevistados tinham idade de $50,56 \pm 18,20$ anos. A duração do tempo de entrevista foi de aproximadamente 30 minutos.

Os nomes vernaculares de todas as espécies foram registrados como citados durante as entrevistas. O material zoológico foi identificado com a ajuda especialistas em zoologia, através: (a) do exame de espécimes na área de estudo, (b) fotografias dos animais ou de suas partes, e (c) pelos nomes vernaculares das espécies, com o auxílio de taxonomistas da Universidade Regional do Cariri (URCA) e da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF). Todo o material da coleta etnoveterinária foi depositado no Laboratório de Zoologia da Universidade Regional do Cariri (LZ-URCA). Após a identificação das espécies foi organizado no Excel 2010 uma lista contendo: suas famílias, indicações terapêuticas e quais espécies são tratadas.

Os zoterápicos também foram agrupados em categorias medicinais. Este agrupamento de espécies foi adaptado de Ritter et al. (2012), onde estes elencaram seis categorias de usos medicinais na etnoveterinária, tomando como base as doenças citadas por informantes. Os grupos constituídos foram: parasitária, gastrointestinal, tegumentar (ou dermatológica), anti-inflamatória, respiratória e miscelânea (esta categoria foi destinada para as doenças que não puderam ser bem definidas pelos entrevistados como por exemplos: repelente para morcego, mau-olhado, melhorar o olfato dos cães de caça). Foram então acrescentadas as categorias: musculoesquelético, circulatório, geniturinário. Foram calculados a Frequência Relativa de Citação (FRC), o Fator de Consenso dos Informantes (FCI) e o valor de uso (VU).

A FRC foi obtida a partir da razão FC/N, onde FC representa o número de informantes que mencionaram o uso da espécie, e N o número total de informantes do estudo (Tardio and Pardo-de-Santayana, 2008). Para estimar a variabilidade de usos dos animais citados como zoterápicos foi calculado o FCI, adaptado de Henrich et al. (1998). Essa análise possibilita identificar quais categorias de doenças apresentam maior importância nas comunidades pesquisadas. O FCI foi calculado pela seguinte fórmula: $FCI = \frac{nar-na}{nar-1}$, onde: nar = somatório dos usos registrados por cada informante para uma categoria; na = número de espécies indicada na categoria.

Para cada animal citado como zoterápico, calculou-se seu o seu respectivo valor de uso (adaptado por Phillips et al., 1994), (tabela x). O valor de uso expressa a importância relativa das espécies conhecidas localmente, e é calculado por meio da seguinte fórmula: $VU = \frac{\sum U}{n}$, onde: VU = Valor de Uso da Espécie; U = número de citações por espécie; n = número de informantes.

3. Resultados

Os dados demonstram (Tab. 1) que trinta e nove espécies (35 vertebrados e 4 invertebrados), distribuídas em pelo menos 28 famílias zoológicas, foram identificadas para o uso medicinal ou mágico/religioso em etnoveterinária nos municípios de Barbalha, Crato e Missão Velha. Os grupos taxonômicos com maior número de espécies foram as aves (13 espécies), seguidos por mamíferos (12 espécies) e répteis (8 espécies). Os entrevistados ainda mencionaram insetos (4 espécies), peixes (1 espécie) e anfíbios (1 espécie). Quanto a frequência de citação as espécies mais frequentemente citadas foram: *Gallus gallus* (0,48), *Bos taurus* (0,40), *Ovis aries* (0,38), sendo estas também as que apresentaram maior valor de uso: *Ovis aries* (VU = 0,79), *Gallus gallus* (VU = 0,73) e *Bos taurus* (VU = 0,62). Todos os animais aqui citados como

zooterápicos de uso etnoveterinário podem ser obtidos dentro do bioma Caatinga. Das 39 espécies registradas neste trabalho, a maioria é composta de animais selvagens (26 animais ou 67% das espécies). A principal forma que os entrevistados adquiriram o conhecimento ocorreu através da transmissão oral pelos pais (42,3%). Observou-se também que 17,3% dos entrevistados não informaram com quem adquiriu o conhecimento referente ao uso de zooterápicos. Outras formas de transmissão do conhecimento etnoveterinário identificadas ocorreram através dos avós (9,6%), tios (3,8%), mais velhos (21,2%), vizinhos (3,8%) e outros (1,9%), como por exemplo, amigos, conhecidos e vaqueiros. Todos indicaram ter obtido sucesso no tratamento das enfermidades que acometeram os seus animais domésticos usando os zooterápicos.

As espécies *Camponotus* sp., *Epicrates assisi*, *Philodreas olfersii*, *Pseudoboa nigra*, *Bothrops jaracuçu*, *Anhima cornuta*, *Anser anser*, *Dendrocygna viduata*, *Paraoraria domenicana*, *Euphenia chlorotica*, *Gnorimopsar chopi*, *Numida gallopavo*, *Sporophila albogularis*, *Scalis flaveola*, *Turdus rufiventris*, *Equus asinus*, *Equus caballus*, *Oryctolagus cuniculus*, e *Myrmecophaga tetradactyla* ainda não haviam sido registradas como zooterápicos usados na medicina veterinária tradicional (Fig. 2).

Em todos as atribuições dos usos medicinais dos zooterápicos apenas o corpo inteiro de *Gallus gallus* e *Camponatous* sp foram utilizados, sendo em todas as outras espécies descritas utilizado apenas partes do corpo ou subprodutos como: banha, chifre, cabeça, fezes, penas, ovo, mel, rabo, testículo, saliva, couro e vísceras para 38 diferentes fins veterinários (Tab. 1), principalmente para as enfermidades musculoesqueléticas, inflamatórias e miscelânea. As categorias de uso medicinal que apresentaram maior de consenso dos informantes neste estudo foram: Musculoesquelético (0,92), Inflamatório (0,74) e miscelâneas (0,73) (Tab. 2).

4. Discussão

No Cariri cearense o uso de zoterápicas no tratamento de enfermidades que acometem os animais domésticos foi observado como uma prática comum na zona rural dos municípios aqui analisados. As espécies com maior número de citações (*Bos taurus*, *Ovis aries* e *Gallus gallus*) são frequentemente utilizadas na produção de remédios tradicionais na etnoveterinária (Souto et al., 2011; Souto et al., 2012). Os zoterápicas descritos podem ser encontrados no Cariri cearense (Ferreira et al., 2009a,b). A escolha de espécies que se encontram nesta região pode ser justificada pelo fato de que a composição de uma fauna local pode influenciar na escolha de zoterápicas (Souto et al., 2011a,b; Souto et al., 2012).

O destaque para o uso de mamíferos, aves, répteis e insetos pode estar relacionado ao paralelismo que ocorre entre a etnoveterinária e a etnomedicina praticada nesta região, pois em outro estudo, Ferreira et al. (2009b) registrou o uso de zoterápicas em enfermidades humana numa área rural do Crato, evidenciando a predominância do uso dos mesmos grupos taxonômicos.

A maior representatividade de animais selvagens corrobora com a tendência observada em outros trabalhos envolvendo o uso de zoterápicas que foram desenvolvidos no Brasil e outros países (Lev, 2003; Negi and Palyal, 2007; Confessor et al., 2009; Ferreira et al., 2009a,b; Souto et al., 2011b; Ferreira et al., 2012). Das 39 espécies citadas, 19 delas foram identificadas pela primeira vez como zoterápicas usados na etnoveterinária, sendo 13 delas animais selvagens. Uma possível justificativa para o registro de novas espécies usadas na etnoveterinária seria a existência de uma rica fauna encontradas na Chapada do Araripe (Nascimento et al, 2000; Ribeiro et al, 2008; Roberto et al., 2009; Ferreira et al., 2009a).

A presença de um maior número de homens entrevistados está associada ao fato do conhecimento etnoveterinário no semi-árido brasileiro ser mais focado nos homens (Souto et al., 2011). A transmissão do conhecimento na forma oral também é comumente descrita em outros estudos (Ferreira et al., 2009a,b; Souto et al., 2011).

As categorias de uso medicinal que apresentaram maior de consenso dos informantes neste estudo foram: Musculoesquelético (0,92), Inflamatório (0,74) e miscelâneas (0,73). A categoria que agrupou um maior número de espécies e citações de uso foi a de miscelâneas, onde muitas vezes encontramos os zoterápicos sendo usados na forma de amuletos e encantamentos no diagnóstico mágico-religioso. O uso de alguns animais medicinais está intimamente associado a crenças populares conhecidas localmente como 'simpatias'. Essa crença popular é comumente associada ao uso de animais medicinais no Brasil (Alves et al., 2007).

Os poucos estudos que analisaram os aspectos da zooterapia aplicada a etnoveterinária no Brasil não apresentaram discussões relativas as principais categorias de uso medicinal (Confessor et al., 2009; Souto et al., 2011a,b; Souto et al., 2012). Na mesma região onde foi realizado este estudo, encontramos trabalhos que destacam o uso de zoterápicos em humanos para as mesmas categorias acima destacadas (Ferreira et al., 2009a,b).

Segundo os entrevistados, os medicamentos à base de animais são mais eficazes que os fármacos produzidos industrialmente. A zooterapia é muito importante e difundida no Cariri cearense e no Nordeste brasileiro (Ferreira et al., 2009a). Mesmo com a presença de muitas espécies usadas como zoterápicos, mais estudos serão necessários para examinar a verdadeira eficácia farmacológica desses zoterápicos aqui identificados. Além disso, é importante ressaltar que muitas das espécies aqui

identificadas para fins medicinais são silvestres, e em muitos casos as espécies devem ser sacrificadas para obter os produtos zooterapêuticos usados na etnoveterinária local. De acordo com Ferreira et al. (2009a), espécies de animais de alta demanda com alto valor comercial são mais propensas à superexploração, e quando identificadas como zoterápicos, estudos complementares são necessários para examinar quais são os aspectos sociais, culturais, econômicos, clínicos e ambientais de seu uso medicinal, e também para estabelecer estratégias de manejo adequadas que ajudem a garantir o uso sustentável destas espécies.

5. Conclusão

Os habitantes das áreas rurais dos municípios de Barbalha, Crato e Missão Velha usam zoterápicos no tratamento de enfermidades que acometem os seus animais domésticos. 39 espécies foram identificadas para o uso medicinal, sendo que 19 delas até o presente momento não haviam sido identificadas como zoterápicos usados na etnoveterinária. Apesar de não haver estudos etnoveterinários associados a zooterapia que discutam as principais categorias de uso medicinal, muitas das enfermidades presentes nas categorias de uso medicinal deste estudo também foram encontradas na zooterapia associada ao uso em humanos que ocorre no sul do Ceará.

O presente estudo contribuiu para a criação de um inventário de animais usados em práticas etnoveterinárias e pode servir como um banco de dados para outros trabalhos ou para a busca da validação das atividades farmacológicas dos produtos animais aqui mencionados.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP pela bolsa de doutorado de Diógenes de Queiroz

Dias, ao Conselho nacional de pesquisa – CNPq ao subsídio de produtividade em pesquisa de Waltécio de Oliveira Almeida, processo: 302429/2015-8 e a Herivelto Faustino de Oliveira por permitir a utilização das fotos dos répteis.

Conflito de Interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

Referências

- Abbas, B., Al-Qarawi, A.A., Al-Hawas, A., 2002. The ethnoveterinary knowledge and practice of traditional healers in Qassim region, Saudi Arabia, *J Arid Environ*, 50 (3), 367-379.
- Akarreta, S., Calvo, M.I., Cavero, R.Y., 2010. Ethnoveterinary knowledge in Navarra (Iberia Peninsula), *J Ethnopharmacol*, 130 (2), 369-378.
- Alawa, J.P., Jokthan, G.E., Akut, K. 2002. Ethnoveterinary medicinal practice for ruminants in the subhumid zone of Northern Nigeria. *Preventive Veterinary Medicine*, 54 (1), 79-90.
- Altaf, M., Umair, M., Abbasi, A.R., Muhammad, N., Abbasi, A.M., 2018. Ethnomedicinal applications of animal species by the local communities of Punjab, Pakistan, *J Ethnobiol Etnomed*, 14 (55), 1-25.
- Alves, RRN. 2009. Fauna used in popular medicine in Northeast Brazil. *J Ethnobiol Etnomed*, 5:1.
- Alves RRN, Rosa IL. 2005. Why study the use of animal products in traditional medicines? *J Ethnobiol Etnomed*, 1(5), 1-5.

- Alves, R.R.N., Rosa, I.L., 2006. From cnidarians to mammals: The use of animals as remedies in fishing communities in NE Brazil. *J Ethnopharmacol*, 107, 259-276.
- Alves R.R.N., Rosa, I.L., Santana, G.G., 2007. The Role of Animal-derived Remedies as Complementary Medicine in Brazil. *BioScience*, 57:949-955.
- Alves, R.R.N., Souto, W.M.S., Barboza, R.R.D. 2010. Primates in traditional folk medicine: a world overview. *Mammal Review*, 40 (2), 155-180.
- Barbosa, R.R.D., Souto, W.M.S., Mourão, J.S., 2007. The use of zootherapeutics in folk veterinary medicine in the district of Cubati, Paraíba State, Brazil. *J Ethnobiol Etnomed*, 3(32), 1-14.
- Bonifácio, K.M., Schiavetti, A., Freire, E.M.X., 2016. Fauna used by rural communities surrounding the protected area of Chapada do Araripe, Brazil, *J Ethnobiol Etnomed*, 12 (41), 1-13.
- Calixto, J.B. 2005. Twenty-five years of research on medicinal plants in latin America, *J Ethnopharmacol*, 100, 131-134.
- Confessor, M.V.A., Mendonça, L.E.T., Mourão, J.S., Alves, R.R.N. Animals to heal animals: ethnoveterinary practices in semiarid region, Northeastern Brazil, *J Ethnobiol Etnomed*, 5 (37), 1-9.
- Ferreira F.S., Brito S. V., Ribeiro S. C., Saraiva, A.A.F., Almeida W.O., Alves RRN. 2009a. Animal-based folk remedies sold in public markets in Crato and Juazeiro do Norte, Ceará, Brazil. *J Ethnobiol Etnomed*, 9, 1-8.
- Ferreira FS, Brito S, Ribeiro S, Almeida W, Alves RRN., 2009b. Zootherapeutics utilized by residents of the community Poco Dantas, Crato-CE, Brazil. *J Ethnobiol Etnomed*, 5, 1-10.

- Ferreira, F.S., Albuquerque, U.P., Coutinho, H.D.M., Almeida, W.O., Alves, R.R.N., 2012. The trade in medicinal animals in northeastern Brazil. *Evidence-Based Complementary and Alternative medicine*, v. 2012, 1-20.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – canal cidades 2018. [<http://cidades.ibge.gov.br>]. acessado em 15/12/2018.
- IPECE – Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará, perfil básico municipal. Governo do Estado do Ceará, Secretaria de planejamento e Coordenação 2018. [<https://www.ipece.ce.gov.br/index.php/perfil-municipal>]. Acessado em 30/10/2018.
- Kidane, L., Gebrecherkos, G., Beyene, T., 2018. Ethnobotanical study of medicinal plants in Ganta Afeshum District, Eastern Zone of Tigray, Northern Ethiopia, *J Ethnobiol Etnomed*, 14(64), 1-19.
- Henrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C., Sticher, O., 1998. Medicinal plants in Mexico: healers' consensus and cultural importance. *Soc Sci Med*, 47, 1863-1875.
- Huntington, H.P., 2000. Using Traditional Ecological Knowledge in Science: Methods and Applications. *Ecol Appl*, 10, 1270-1274.
- Leal, I.R., Silva, J.M.C., Tabarrelly, M., Lacher-JR, T.E. 2005. Changing the course of biodiversity conservation in the Caatinga of Northeastern Brazil. *Conserv Biol*, 19, 701-706.
- Lev, E., 2003. Traditional healing with animals (zootherapy): medieval to present-day Levantine practice, *J Ethnopharmacol*, 85 (1), 107–118.
- Lulekal, E., Asfaw, Z., Kelbessa, E., Van Damme, P., 2014. Ethnoveterinary plants of Ankober District, North Shewa Zone, Amhara Region, Ethiopia, *J Ethnobiol Etnomed*, 10 (21), 1-19.

- Mongalo, N.I., Makhafola, T.J., 2018. Ethnobotanical knowledge of the lay people of Blouberg area (Pedi tribe), Limpopo Province, South Africa, *J Ethnobiol Etnomed*, 14 (46), 1-23.
- Nascimento, J.L.X., Nascimento, I.L.S., Azevedo-Junior, S.M., 2000. Aves da Chapada do Araripe: biologia e conservação. *Ararajuba*, 2, 115-125.
- Negi, C.S., Palyal, V.S., 2007. Traditional uses of animal and animal products in medicine and rituals by the Shoka Tribes of District Pithoragarh, Uttaranchal, India, *Stud Ethno-Med*, 1, 51–53.
- Phillips, O., Gentry, A.H., Reynel, C., Wilki, P., Gávez-Durand, G.B., 1994. Quantitative ethnobotany and amazonian conservation. *Conserv Biol*, 8, 225-248.
- Ribeiro, S.C., Ferreira, F.S., Brito, S.V., Santana, G.G., Vieira, W.L.S., Alves, R.R.N. 2008. The Squamata fauna of the Chapada do Araripe, Northeastern Brazil, *Cad Cult Cienc*, 3, 27-40.
- Ritter, R.A; Monteiro, M.V.B; Monteiro, F.O.B; Rodrigues, S.T; Soares, M.L; Silva, J.C.R; Palha, M.D.C; Biondi, G.F; Rahal, S.C; Tourinho, M.M., 2012. Ethnoveterinary knowledge and practices at Colares island, Pará State, eastern Amazon, Brazil. *J Ethnopharmacol*, 144, 346-352.
- Roberto, I.J., Ribeiro, S.C., Delfino, M.M.S., Almeida, W.O., 2009. Reptilia, Colubridae, *Helicops angulatus*: distribution extension and rediscovery in the state of Ceará. *Check List (UNESP)*, 5, 118-121.
- Rodrigues, E., 2006. Plants and animals utilized as medicines in the Jau national Park (JNP), Brazilian Amazon, *Phytother Res*, 20 (5), 378-391.
- Souto, W.M.S., Mourão, J.S., Barboza, R.R.D., Alves, R.R.N., 2011a. Parallels between zootherapeutic practices in ethnoveterinary and human complementary medicine in northeastern Brazil. *J Ethnopharmacol*, 134, 753-767.

- Souto, W.M.S., Mourão, J.S., Barboza, R.R.D., Mendonça, L.E.T., Lucena, F.P., Confessor, M.V.A., Vieira, W.L.S., Montenegro, P.F.G.P., Lopez, L.C.S., Alves, R.R.N., 2011b. Medicinal animals used in ethnoveterinary practices of the 'Cariri Paraibano' NE Brazil. *J Ethnobiol Etnomed*, 7, 1-20.
- Souto, W.M.S., Barboza, R.R.D., Rocha, M.S.P., Alves, R.R.N., Mourão, J.S., 2012. Animal-based medicines used in ethnoveterinary practices in the semi-arid region of Northeastern Brazil, *An Acad Bras Ciênc*, 84 (3), 669-678.
- Tardio, J., Pardo-de-Santayana, M., 2008. Cultural importance indices: a comparative analysis based on the useful wild plants of Southern Cantabria (Northern Spain). *Econ Bot*, 62 (1), 24-39.
- Viegi, L., Pierroni, A., Guarrera, P.M., Vangelisti, R. 2003. A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *J Ethnopharmacol*, 89, 221-244.

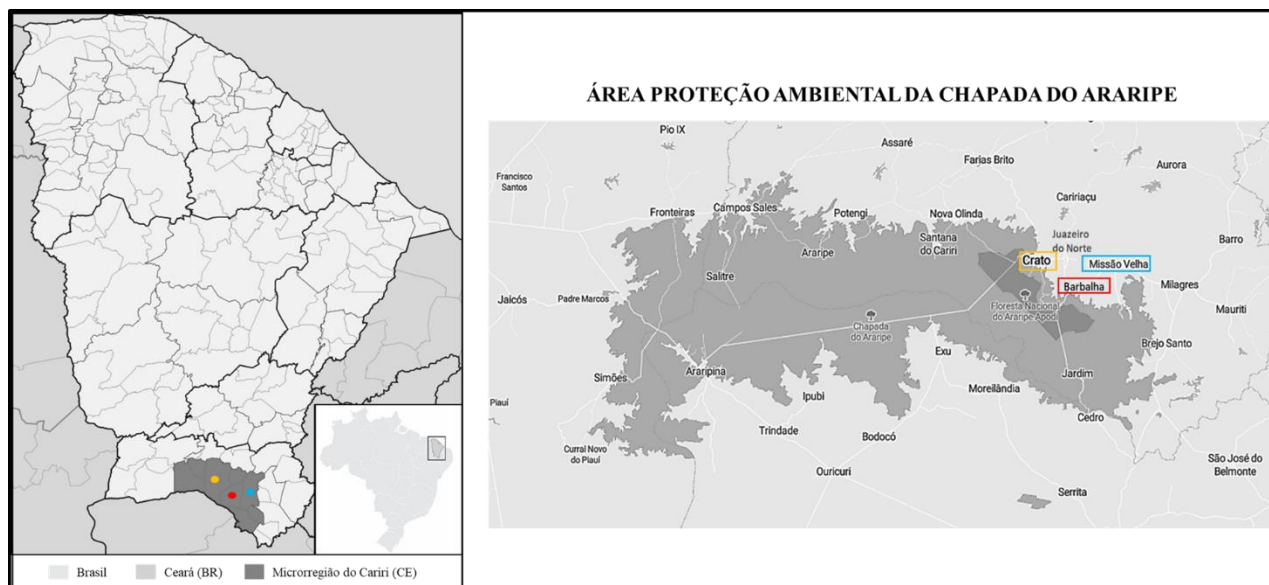
Figura

Fig. 1. Mapa mostrando os municípios do estudo.

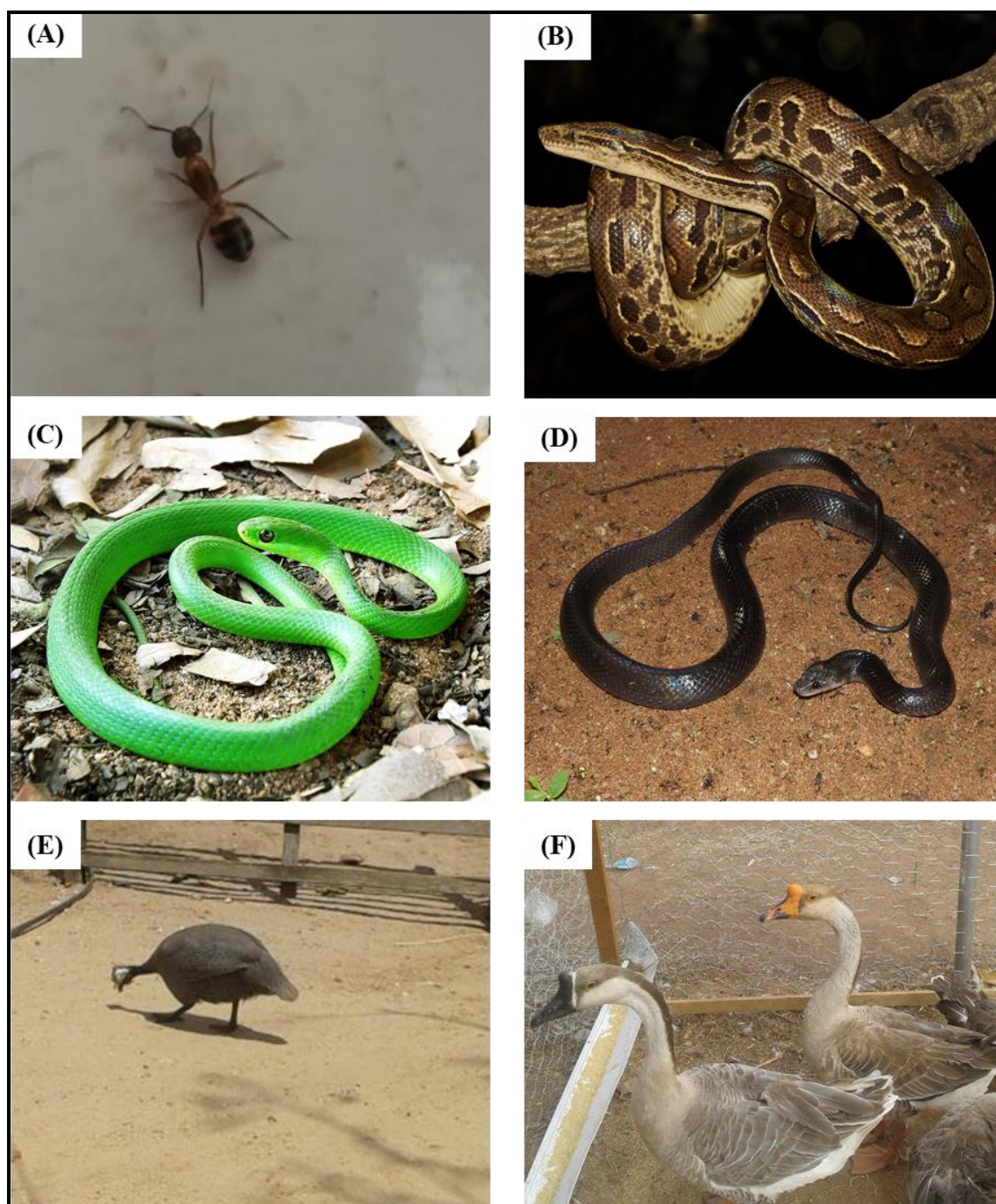


Fig. 2. Exemplos de novos registros de espécies utilizadas na etnoveterinária. (A) *Camponotus sp.*, (B) *Epicrates assisi*, (C) *Philodreas olfersii*, (D) *Pseudoboa nigra*, (E) *Numida meleagris* e (F) *Anser anser*. Fotos: (A), (E) e (F) por Diógenes de Queiroz Dias; (B), (C) e (D) por Herivelto Faustino de Oliveira.

Tabelas

Tab. 1 – Recursos zoterápicos usados na etnoveterinária em áreas rurais do Cariri cearense, Brasil.

Família/Espécie/Nome local	Local da citação	Número de vezes mencionadas	Frequência relativa de citação (RFC)	Valor de uso (UV)	Parte usada e forma de administração	Indicação	Animal tratado
INSETOS							
Apidae							
<i>Apis mellífera</i> – “Abelha italiana”	BL, CR	4	0,07	0,10	Mel (D, E)	Pram (laminite), inflamações e dor de garganta	Cavalo, jumento, boi, cabra, ovelha, galinha, cão e gato
<i>Melipona subnitida</i> – “Abelha jandaíra”	BL, CR	3	0,06	0,08	Mel (D, E)	Pram (laminite), inflamação e dor na garganta	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento, galinha, cão e gato
<i>Scaptotrigona sp.</i> – “Abelha Uruçú”	BL	2	0,04	0,04	Mel (D)	Pram (laminite) e inflamações	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento, galinha, cão e gato
Formicidae							
<i>Camponotus sp.</i> – “Formiga”	CR	1	0,02	0,02	Corpo inteiro (A)	Mau-olhado	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento

PEIXES								
Erythrinidae								
<i>Hoplias malabaricus</i> – “Traíra”	BL	1	0,02	0,02	Banha (D)	Ferida e bicheira (mifase)	Todas espécies domésticas	
ANFÍBIOS								
Bufonidae								
<i>Rhinella jimi</i> – “Sapo cururu”	BL	2	0,04	0,06	Banha (D)	Esponja de cavalo (habronemose)	Cavalo	
					Vísceras (D)	Feridas e esponja de cavalo (habronemose)	Cavalo e jumento	
RÉPTEIS								
Boidae								
<i>Boa constrictor</i> – “Jibóia”	CR	1	0,02	0,02	Rabo (A)	Mau-olhado	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento e galinha	
<i>Epicrates assisi</i> – “Salamanta”	CR	1	0,02	0,02	Rabo (A)	Mau-olhado	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento e galinha	
Chelidae								

<i>Phrynops geoffroanus</i> – “Cágado”	BL	1	0,02	0,02	Banha (D)	Feridas	Todas as espécies domésticas
Dipsadidae							
<i>Philodreas olfersii</i> – “Cobra verde”, “Cobra cipó”	CR	1	0,02	0,02	Rabo (A)	Mau-olhado	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento e galinha
<i>Pseudoboa nigra</i> – “Cobra preta”, “Muçurana”	CR	1	0,02	0,02	Rabo (A)	Mau-olhado	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento e galinha
Teiidae							
<i>Tupinambis merianae</i> – “Tiu”, “Teju”	MV, BL, CR	8	0,15	0,21	Banha (D, E)	Tosse, inflamação, feridas, dor de ouvido, dor de garganta e inchaço nas juntas	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento e todas as espécies domésticas
Viperidae							
<i>Bothrops jaracucu</i> - “Jararacuçu”	CR	1	0,02	0,02	Rabo (A)	Mau-olhado	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento e galinha
<i>Crotalus durissus</i> – “Cascavel”	BL, CR	2	0,04	0,06	Chocalho (A)	Evitar ataques de cobra e morcego	Cabra, ovelha e boi

					Rabo (A)	Mau-olhado	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento e galinha
AVES							
Anatidae							
<i>Anhima cornuta</i> – “Pato”	MV, BL	4	0,07	0,15	Pena (F)	Sair do choco e eliminar pulgas e piolhos	Galinha
					Ovo (E, G, H)	Diarreia, fraqueza, anemia e intoxicação por ingestão de salsa	Cavalo, jumento, boi (filhote) e porco
<i>Anser anser</i> – “Ganso”	MV	3	0,05	0,13	Pena (F)	Sair do choco e eliminar pulgas e piolhos	Galinha
					Ovo (E, G)	Fraqueza, anemia, diarreia e intoxicação por ingestão de salsa	Boi (filhote), cavalo e jumento
<i>Dendrocygna viduata</i> – “Marreca”	MV	1	0,02	0,02	Ovo (G)	Diarreia, fraqueza e intoxicação por ingestão de salsa	Cavalo e jumento
Corvidae							

<i>Cyanocorax cyanopogon</i> – “Cancão”	BL	1	0,02	0,02	Fezes (D)	Prolapso uterino	Vaca
Emberizidae							
<i>Paraoraria dominicana</i> – “Galo campina”	BL	1	0,02	0,02	Fezes (D)	Prolapso uterino	Vaca
Fringillidae							
<i>Euphonia chlorotica</i> – “Vim-vim”	BL	1	0,02	0,02	Fezes (D)	Prolapso uterino	Vaca
Icteridae							
<i>Gnorimopsar chopi</i> – “Graúna”	BL	1	0,02	0,02	Fezes (D)	Prolapso uterino	Vaca
Meleagrididae							
<i>Meleagris gallopavo</i> – “Peru”	MV, BL, CR	5	0,10	0,13	Ovo (E, H)	Fraqueza e anemia	Boi (adulto e filhote), porco e cavalo
					Banha (D)	Rachaduras na pele, feridas, dor não especificada e inflamação	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento, galinha, cão e gato
Numididae							

<i>Numida meleagris</i> – “Galinha d’angola”	MV, BL	4	0,08	0,15	Pena (F)	Sair do choco e eliminar pulgas e piolhos	Galinha
					Ovo (E, G, H)	Fraqueza, anemia, diarreia e intoxicação por ingestão de salsa	Boi (adulto e filhote), porco, cavalo e jumento
Phasianidae							
<i>Gallus gallus</i> – “Galinha”	MV, BL, CR	25	0,48	0,73	Pena (F)	Sair do choco e eliminar pulgas e piolhos	Frango
					Ovo (E, G, H)	Fraqueza, anemia, diarreia, intoxicação por ingestão de salsa e fazer a muda das penas	Boi (adulto e filhote), porco, bode (filhote), cavalo, jumento, aves domésticas e passarinhos
					Testículos (E)	Evitar infecção após a castração	Galinha
					Fezes (D, L)	Feridas, eliminar ectoparasitas (piolho das aves)	Boi e galinha
					Banha (D, J)	Caroços na pele, estrepada, inflamação,	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento,

tosse, dor não galinha e todas as
especificada, dor nas espécies domésticas
juntas, dor de garganta
e inchaços

Thraupidae

<i>Sporophila albogularis</i> – Golinha	BL	1	0,02	0,02	Fezes (D)	Prolapso uterino	Vaca
<i>Scalis flaveola</i> – “Canário da terra”	BL	1	0,02	0,02	Fezes (D)	Prolapso uterino	Vaca

Turdidae

<i>Turdus rufiventris</i> – “Sabiá laranjeira”	BL	1	0,02	0,02	Fezes (D)	Prolapso uterino	Vaca
---	----	---	------	------	-----------	------------------	------

MAMÍFEROS

Bovidae

<i>Bos taurus</i> – “Boi”, “Bovino”	MV, BL, CR	21	0,40	0,62	Chifre (A, C)	Evitar ataques de cobra e mau-olhado	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento e galinha
					Leite (B, D, E)	Mastite, dor não especificada, inflamação, estrepada, fraqueza, anemia e	Boi, ovelha (filhote) e todas as espécies domésticas

						envenenamento por picada de cobra	
					Cabeça (A)	Mau-olhado e evitar ataques de cobra	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento, galinha, peru e galinha d'angola
					Fezes (C, D)	Inseticida (evitar moscas e miíase), picada de lacraia e evitar ataques de cobra	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento, galinha, pato e galinha d'angola
					Banha (D)	Cicatrizante	Boi
<i>Capra hircus</i> –“Cabra”, “Bode”	BL, CR	7	0,13	0,13	Cabeça (A)	Evitar ataques de cobra	Cabra, ovelha, bovino, cavalo, jumento
					Banha (D)	Cicatrizante e dor não especificada	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento galinha, cão e gato
					Leite (E)	Fraqueza e alimentar filhotes de outras espécies que perderam a mãe	Boi, ovelha, cavalo, jumento, cão e gato

<i>Ovis aries</i> – “Carneiro”	BL, CR	20	0,38	0,79	Banha de animal macho castrado (D)	Junta dura (reumatismo), inchaços, dor não especificada, dor nas juntas, rachaduras na pele, queimaduras, inflamação, fraturas, torções, torcicolo, mastite, feridas	Boi, cabra, ovelha, vaca, cavalo, jumento, galinha e todos os animais domésticos
					Leite (E)	Fraqueza e alimentar filhotes de outras espécies que perderam a mãe	Boi, cabra, cavalo, jumento, cão e gato
Canidae							
<i>Cerdocyon thous</i> – “Raposa”	MV, BL, CR	8	0,15	0,21	Rabo (A)	Mau-olhado, evitar ataques de cobra e morcego	Boi, cabra, ovelha, cavalo e jumento
					Couro (A)	Evitar ataques de cobra	Cabra, ovelha, boi, cavalo, jumento
Cervidae							
<i>Mazama gouazoubira</i> –	BL, CR	5	0,10	0,10	Couro (I)	Evitar ataques de cobra e envenenamento por	Cabra, ovelha, boi, cavalo, jumento,

“Veado”							picada de cobra	galinha, cão e gato	
					Chifre (A)		Evitar ataques de cobra	Cabra, ovelha, boi, cavalo, jumento	
Chlamyphoridae									
<i>Euphractus sexcinctus</i> – “Tatu-peba”	MV, CR	2	0,04	0,04	Rabo (A, D)		Mau-olhado, dor de ouvido	Boi, cabra, ovelha, cavalo, jumento	
Equidae									
<i>Equus asinus</i> – “Jumento”	CR	2	0,04	0,04	Leite (E)		Fraqueza e alimentar filhotes de outras espécies que perderam a mãe	Boi, cabra, ovelha, cavalo, cão e gato	
<i>Equus caballus</i> – “Cavalo”	CR	1	0,02	0,02	Leite (E)		Fraqueza	Cão (filhote)	
Homonidae									
<i>Homo sapiens</i> – “Homem”	MV	2	0,04	0,04	Saliva (E)		Envenenamento por picada de cobra	Boi, cão e gato	
Leporidae									
<i>Oryctolagus cuniculus</i> – “Coelho”	MV	1	0,02	0,02	Rabo (A)		Mau-olhado	Boi, cabra, ovelha, cavalo e jumento	

Myrmecophagidae

<i>Myrmecophaga tetractyla</i> – “Tamanduá bandeira”	BL	1	0,02	0,02	Couro (A)	Evitar ataques de cobra	Cabra, ovelha, boi, cavalo, jumento
---	----	---	------	------	-----------	-------------------------	--

Suidae

<i>Sus scrofa</i> – “Porco”	BL, CR	2	0,04	0,04	Banha (D)	Feridas e dor não especificada	Boi, cabras, ovelhas, cavalo, jumento, galinha e todas as espécies domésticas
-----------------------------	--------	---	------	------	-----------	-----------------------------------	--

A – Amuleto (chifre do animal pendurado no pescoço do animal protegido; chifre, rabo, couro, chocalho ou cabeça do animal pendurada ou exposta em frente ao curral ou galinheiro; mistura a formiga com a batata doce cozida e pendura em frente ao curral). B – Preparar a manteiga para aplicar topicamente. C - Queimar as fezes secas em frente ao curral. D – Uso tópico. E – Uso oral. F - Transpassar uma pequena pena entre as narinas. G – Via nasal. H – Associado com garrafada (ingestão oral). I – Correia curada enrolada na pata ou pescoço do animal doente. J – Associada com sal (ingestão oral). K - O pinto é morto e macerado para uso tópico. L - Queimar as fezes dos ninhos das galinhas. MV – Missão Velha/CE. BL – Barbalha/CE. CR – Crato/CE.

Tab. 2 – Categorias de uso medicinal e fator de consenso dos informantes quanto ao uso de zooterápicos na etnoveterinária em áreas rurais da região do Cariri cearense, Brasil.

Categoria de uso medicinal	Número de espécies/citações	Indicação terapêutica (número de citações de uso)	Espécies usadas	FCI
Musculoesquelético	2/14	Dor nas juntas (4), junta dura (reumatismo) (4), fraturas (3), torções (2), torcicolo (1)	<i>Gallus gallus</i> , <i>Ovis aries</i>	0,92
Tegumentar	9/21	Estrepada (2), cicatrizante (2), dor de ouvido (2), feridas (10), caroços na pele (1), rachaduras na pele (3), queimaduras (1)	<i>Bos taurus</i> , <i>Gallus gallus</i> , <i>Capra hircus</i> , <i>Euphractus sexcinctus</i> , <i>Tupinambis merianae</i> , <i>Meleagris gallopavo</i> , <i>Ovis aries</i> , <i>Rhinella jimi</i> , <i>Sus scrofa</i>	0,60
Respiratório	3/6	Dor de garganta (4), tosse (2)	<i>Apis mellífera</i> , <i>Gallus gallus</i> , <i>Tupinambis merianae</i>	0,60
Circulatório	11/24	Anemia (6), pram (laminite) (6), inchaços (10), estancar o sangramento das castrações (1), inchaço nas juntas (1)	<i>Bos taurus</i> , <i>Anhima cornuta</i> , <i>Anser anser</i> , <i>Gallus gallus</i> , <i>Meleagris gallopavo</i> , <i>Numida meleagri</i> , <i>Apis mellífera</i> , <i>Melipona subnitida</i> , <i>Scaptotrigona sp.</i> , <i>Ovis aries</i> , <i>Tupinambis merianae</i>	0,57
Gastrointestinal	8/13	Diarreia (5), intoxicação por ingestão de salsa (5), alimentar filhotes de outras espécies que perderam a mãe (3)	<i>Anhima cornuta</i> , <i>Anser anser</i> , <i>Dendrocygna viduata</i> , <i>Gallus gallus</i> , <i>Numida meleagris</i> , <i>Capra hircus</i> , <i>Equus asinus</i> , <i>Ovis aries</i>	0,42
Genitourinário	11/13	Sair do choco (4), prolapso uterino (7), evitar infecção após a castração (2)	<i>Anhima cornuta</i> , <i>Anser anser</i> , <i>Gallus gallus</i> , <i>Numida meleagris</i> , <i>Cyanocorax cyanopogon</i> , <i>Euphnia chlorotica</i> , <i>Gnorimopsar chopi</i> , <i>Paraoraria domenicana</i> , <i>Scalis flaveola</i> , <i>Sporophila albogularis</i> , <i>Turdus rufiventris</i> ,	0,17

Inflamatório	7/24	Mastite (3), inflamação (21)	<i>Bos taurus, Ovis aries, Gallus gallus, Meleagris gallopavo, Melipona subnitida, Ovis aries, Tupinambis merianae</i>	0,74
Parasitária	7/11	Inseticida (evitar moscas e miíase) (3), eliminar pulgas e piolhos (4), eliminar ectoparasitas (piolho das aves) (1), bicheira (miíase) (1), esponja de cavalo (habronemose) (2)	<i>Bos taurus, Anhima cornuta, Anser anser, Gallus gallus, Numida meleagris, Hoplias malabaricus, Rhinella jimi</i>	0,40
Miscelâneas	28/101	Evitar ataques de cobra (18), mau-olhado (23), dor não especificada (14), fraqueza (34), envenenamento por picada de cobra (5), evitar ataques de morcego (5), picada de lacraia (1), fazer a muda das penas (1)	<i>Bos taurus, Capra hircus, Cerdocyon thous, Crotalus durissus, Mazama gouazoubira, Myrmecophaga tetradactyla, Boa constrictor, Bothrops jaracuçu, Camponotus sp., Epicrates cenchria, Euphractus sexcinctus, Oryctolagus cuniculus, Philodreas olfersii, Pseudoboa cloelia, Capra hircus, Ovis aries, Sus scrofa, Anhima cornuta, Anser anser, Dendrocygna viduata, Equus asinus, Equus caballus, Gallus gallus, Meleagris gallopavo, Numida meleagris, Ovis aries, Homo sapiens, Mazama gouazoubira,</i>	0,73

FCI – Fator de consenso do informante.

ARTIGO 1

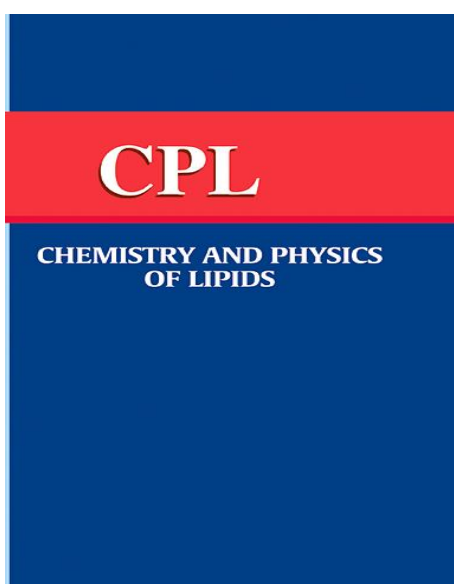
5. ARTIGO 1: GC-MS ANALYSIS OF THE FIXED OIL FROM *Sus scrofa domesticus* LINNEAUS (1758) AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST BACTERIA WITH VETERINARY INTEREST.

Diógenes de Queiroz Dias^{a*}, Débora Lima Sales^a, Jacqueline Cosmo Andrade^a, Ana Raquel Pereira da Silva^b, Saulo Relison Tintino^b, Cícera Datiane de Moraes Oliveira-Tintino^b, Gyllyandeson de Araújo Delmondes^b, Marcos Fábio Gadelha Rocha^c, José Galberto Martins da Costa^b, Rômulo Romeu da Nóbrega Alves^d, Felipe Silva Ferreira^e, Henrique Douglas Melo Coutinho^b, Waltécio de Oliveira Almeida^b.

Artigo publicado no periódico “Chemistry and Physics of Lipids” (anexo 1)

Qualis em Biodiversidade: B1

Fator de Impacto: 2.766



GC-MS analysis of the fixed oil from *Sus scrofa domesticus* Linneaus (1758) and antimicrobial activity against bacteria with veterinary interest.

Diógenes de Queiroz Dias^a, Débora Lima Sales^a, Jacqueline Cosmo Andrade^a, Ana Raquel Pereira da Silva^b, Saulo Relison Tintino^b, Cícera Datiane de Moraes Oliveira-Tintino^b, Gyllyandeson de Araújo Delmondes^b, Marcos Fábio Gadelha Rocha^c, José Galberto Martins da Costa^b, Rômulo Romeu da Nóbrega Alves^d, Felipe Silva Ferreira^e, Henrique Douglas Melo Coutinho^{b*}, Waltécio de Oliveira Almeida^b.

^a*Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brasil,*

^b*Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato, CE, Brasil,*

^c*Universidade Estadual do Ceará – UECE, Fortaleza, CE, Brasil,*

^d*Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Campina Grande, PB, Brasil.*

^e*Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Senhor do Bonfim, BA, Brasil,*

***Corresponding author:** (HDM Coutinho), Universidade Regional do Cariri - URCA – CEP: 63105-000 – Crato/CE, Brasil. Tel: +558831021212. E-mail: hdmcoutinho@gmail.com

Abstract

The bioprospection of zootherapeutic products can be a source of new drugs and to the creation of new strategies of natural resources conservation and management of endangered species. This fact is supported by ethnobiological studies indicating that the usage of zootherapeutic products can be replaced by the use of natural products isolated from plants and domestic animals. The emergence of antibiotic-resistant bacteria has increased the need for research for new active principles. Ethnoveterinary studies in Brazil have shown that *Sus scrofa domesticus* fat is used for diseases associated with bacterial pathogens. The objective of this study was to identify the chemical composition and to evaluate the antibacterial activity of the fixed oil of *Sus scrofa domesticus*

(OFSC) when used alone or associated with antibiotics. In the analysis of the oil composition, there were 4 constituents identified, with oleic acid being the major constituent. The OFSC did not present antibacterial activity when tested alone; however, it showed synergism in the modulating activity when associated with antibiotics Amikacin and Amoxicillin.

Keywords: ethnoveterinary, fatty acids, antibiotic modulating activity, ethnozoology

1. Introduction

The advancement of resistance from bacterial strains to antibiotics is a source of concern for human and veterinary medicine. Its inappropriate and abusive use of antibiotics is a major factor in the emergence and selection of resistant bacteria (Poeta and Rodrigues 2008; Arias and Carrilho 2012). Enterobacteriaceae and the *Staphylococcus* and *Streptococcus* genera are examples of microorganisms in veterinary medicine that are resistant to antibiotics (Oliveira et al. 2005; Contreras et al. 2007). The resistance of these microorganisms is also of concern for human beings because Enterobacteriaceae and *Staphylococcus* are known for the possibility of zoonotic transmission (Oliveira et al. 2005; Horn et al. 2005).

Faced with this problem, many research have been looking for new molecules or new therapeutic options as alternatives to the types of treatments already established (Haida et al. 2007). The ethno-guided method is one of the alternatives for the discovery of new drugs, which consists in the investigation of natural products based on traditional knowledge (Ferreira et al. 2009). According to Albuquerque and Hanazaki (2006), information on therapeutic properties in animals and plants can be considered as a shortcut for the discovery of new drugs by the pharmaceutical industry.

Natural resources derived from ethno-guided information have been tested as possible antimicrobial agents. In this context, natural products of plant origin have been highlighted

because they present antibacterial activity and because they potentiate the activity of antibiotics (Tintino et al. 2013; Tintino et al. 2015). However, although there is a predominance of studies with plants, we also find papers with animal products that seek to analyze these same activities (Ferreira et al. 2009; Dias et al. 2013; Oliveira et al. 2014; sales et al. 2017).

Even after the discovery of new drugs, the animal-derived natural products with medicinal properties (named as zootherapeutic products), the comprehension of the social context and the traditional knowledge that use these natural resources is a milestone to the elaboration of conservation and management strategies of these exploited species, as by as the determination of public policies aiming the sustainability of these animal populations (Albuquerque et al. 2007). The work of Ferreira et al. (2016), performed in public markets in the Brazilian Northeastern demonstrated the complete possibility to replace the usage of this natural resource in some places.

Ethnobiological surveys show that components derived from wild or domestic animals are used to treat diseases that affect human beings and other animals (Barbosa et al. 2007; Ferreira et al. 2012). In the northeast of Brazil, the body fat of the domestic pig, *Sus scrofa domesticus* is used in the treatment of diseases such as mastitis, furunculosis and dermal nodules that affect domestic animals (Souto et al. 2012).

The objective of this study was to verify if the OFSC has antibacterial and modulatory activity in front of bacteria of veterinary interest.

2. Materials and Methods

2.1. Zoological material

Body fat from 4 female and 4 adult and unmixed males of *Sus scrofa domesticus* was extracted for this test. All the fat obtained was mixed and crushed before sending for the extraction of the fixed oil. From this mixture 60g of fat was withdrawn to be inserted into the Soxhlet apparatus having hexane as the solvent. After separating the solvent, the OFSC yield was

10.815g (18.025%). The adipose tissue was donated by the Municipal Slaughterhouse of Barbalha, located at Rua P-25, s/n, Malvinas, Barbalha-Ceará (Brazil). This work was approved by the Commission of Experimentation and Use of animals of the Regional University of Cariri (CEUA - URCA) with protocol number: 0300/2015.1.

2.2. Obtaining fixed oil and determination of the fatty acids of *Sus scrofa domesticus*

The extraction of fixed oil from *Sus scrofa domesticus* (OFSC) was performed according to Dias et al. (2018). Subsequently, there was 0.2 g of OFSC weighed and saponified for 30 minutes under reflux with potassium hydroxide solution in methanol, following the methodology described by Hertman and Lago (1973). After suitable treatment and pH adjustment, the free acids were methylated with methanol through acid catalysis to obtain the respective methyl esters, used as a parameter to identify the original fatty acids. The identification of OFSC constituents occurred by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS).

2.3. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

GC-MS analyses were performed on a Shimadzu GC-MS QP2010 series fitted with a fused silica Rtx-5MS (30 m × 0.25 mm I.D.; 0.25 μm film thickness) capillary column and temperature programmed as follow: 60–240 °C at 3 °C/min, then to 280 °C at 10°C/min, ending with 10 min at 280 °C. The carrier gas was He at a flow rate of 1.5 mL/min and the split mode had a ratio of 1:50. The injection port was set at 220 °C. Significant quadrupole MS operating parameters: interface temperature 240 °C; electron impact ionization at 70 eV with scan mass range of 40–350 m/z at a sampling rate of 1.0 scan/s. Injected volume: 1 μL of 5 μg/mL solution in dichloromethane. Constituents were identified by computer search using digital libraries of mass spectral data (NIST 08) and by comparison of their authentic mass spectra (Adams, 2001). The GC-MS analyses revealed peaks corresponding to elution and molecular mass of saturated fatty components and unsaturated often found in oils fixed.

2.4. Antibacterial activity and Modulation of drug action

The MIC and drug action modulation tests were performed according to Dias et al. (2018).

3. Results

The methyl esters of the OFSC fatty acids were analyzed by GC/MS. In the OFSC, palmitic acid (28.21%), oleic acid (42.09%), linoleic acid (15.58%) and stearic acid (14.13%) were identified. The saturation percentage found was 42.34% and 57.67% of saturated and unsaturated methyl esters, respectively, with oleic acid as the major constituent.

When adding resazurin to evidence MIC, there was a value of ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$ established for OFSC against all strains evaluated here. The results of this MIC showed that although there is an indication of the ethnoveterinary use of OFSC for the treatment of infections that affect domestic animals, there was not any clinically relevant activity.

In the subinhibitory concentration (MIC/8) of the antibiotic modulation (graphs 1,2,3,4,5 and 6), there was synergism for EC 06, PM 01, SA 10, SE ATCC and SE 01 when associated with or Amikacin antibiotic. At the same sub-inhibitory concentration when associated with Amoxicillin, it presented synergism to SE 01.

Antagonistic effects occurred in the association of OFSC with Norfloxacin against EC 06, PA 24, PM 01, SA 10, SE ATCC and SE 01, with Amoxicillin against PA 24 and PM 01, with Amikacin against PA 24, with Oxytetracycline versus EC 06 (Figures 1-6).

4. Discussions

Researches demonstrating the antimicrobial activity of body fat from animals have been performed, aiming specially the human health promotion (Ferreira et al. 2009; Dias et al. 2013; Oliveira et al. 2014). However, there are many convergent points between the traditional medicine for human treatment and the ethnoveterinary, involving not only the healthcare but also the administration of medical care, techniques and behavior (McCorkle 1986; Souto et al. 2011).

About the use of zootherapeutic drugs, this superposition is very common between the ethnomedicine and ethnoveterinary (Almeida and Albuquerque 2002; Souto et al. 2011).

The analysis of the chemical composition of the OFSC by GC/MS allowed the identification from the fatty acid methyl esters of four constituents. From the result found, a prevalence of unsaturated fatty acids occurred, representing a total of 57.67%, with oleic acid as the major component (42.09%). The proportions found between saturated and unsaturated fatty acids follow a trend with previous studies that prospect the antibacterial activity of body fat of other species of animals (Ferreira et al. 2009; Cabral et al. 2013). The presence of palmitic, linoleic, oleic and stearic acids in OFSC has also been evidenced in other studies on the bioprospection of the antibacterial activity of fixed oils (Cabral et al. 2013; Oliveira et al. 2014).

From the clinical point of view, this study showed the ineffectiveness of OFSC, against bacterial diseases when administered alone. For all strains analyzed here, the Minimum Inhibitory Concentration value was $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$. This concentration is considered to be ineffective because a very high dose would have to be delivered to achieve this plasma concentration (Houghton et al. 2007). These data corroborate with the study by Silva et al. (2011) who also verified that there is no antibacterial action of swine fat for clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

When we evaluated the OFSC at the subinhibitory concentration (MIC/8) associated with antibiotics, our results demonstrated a synergistic effect in association with the Amikacin and Amoxicillin antibiotics. Fatty acids may inhibit bacterial activity (Agoramoorthy et al. 2007). Hung et al. (2010) found that the antibacterial action of n-6, n-7 and n-9 fatty acids on bacterial strains may vary according to the type of microorganism and the concentration of the fatty acid. The answer about OFSC on the strains analyzed here was different. The major fatty acid was oleic acid, an omega-9, corroborating the study by Hung et al. (2010).

Antagonistic effects have also been observed in OFSC associations with antibiotics. Previous studies that aimed to investigate the antibacterial and modulatory activity of body fat from other species of animals also report the occurrence of antagonistic effects when we associate the fixed oils with antibiotics, being attributed to a mutual chelation of the fatty acids present in the species analyzed and in the bacterial walls of the strains analyzed (Ferreira et al. 2009; Dias et al. 2013; Oliveira et al. 2014; Sales et al. 2017). Similar effect can be attributed here to the antagonistic effects evidenced here in the association of OFSC with the Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin and Oxytetracycline antibiotics.

5. Conclusions

Our data indicate that from the clinical point of view, OFSC does not have antibacterial activity when tested alone against the strains used here. However, when in subinhibitory concentration combined with the antibiotics, it demonstrated synergistic action for Amikacin and Amoxicillin.

This study evaluated the effects of OFSC in vitro. Therefore, we recommend the development of additional in vitro and in vivo studies to highlight the more detailed mechanisms by which the fatty acids present in OFSC modified the action of antibiotics.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP for the doctoral scholarship of Diógenes de Queiroz Dias and the National Research Council (CNPq) for the research productivity subsidy for Waltécio de Oliveira Almeida, case number: 302429/2015-8 and Débora Castelo Branco de Souza Colares Maia of the LB-UFC for yielding the strains of *S. epidermidis* and *Proteus mirabilis*.

References

- Adams RP (2001) Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation.
- Agoramoorthy G, M. Chandrasekaran M, Venkatesalu HMJ (2007) Antibacterial and antifungal activities of fatty acid methyl esters of the blind-your-eye mangrove from India, Braz J Microbiol. 38: 739–42.
- Albuquerque UP, Hanazaki N (2006) As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse medico farmacêutico: fragilidades e pespectivas. Rev. Bras. de farmacogn. 16: 678-689.
- Almeida CFCBR, Albuquerque UP (2002) Uso e conservação de plantas e animais medicinais no Estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil): um estudo de caso. Interciencia, 27(2): 276-285.
- Alves RRN, Léo-Neto NA, Brooks SE, Albuquerque UP (2009) Commercialization of animal-derived remedies as complementary medicine in the semi-arid region of northeastern Brazil. J ethnopharmacol 124: 600-608.
- Arias MVB, Carrilho CMD (2012) Resistencia antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação? Semina: Ciênc. Agrár, Londrina. 33(2): 775-790.
- Barboza RRD, Souto WMS, Mourão JS (2007) The use of zootherapeutics in folk veterinary in the district of cubati, Paraíba State, Brazil, J Ethnobiol Ethnomed. 3 (2): 1-6.
- Cabral MES, Dias DQ, Sales DL, Oliveira OP, Araujo Filho JA, Teles DA, Sousa JGG, Coutinho HDM, Costa JGM, Kerntopf MR, Alves RRN, Almeida WO (2013) Evaluations of the antimicrobial activities and chemical compositions of body fat from the amphibians *Leptodactylus macrosternum* Miranda-Ribeiro (1926) and *Leptodactylus vastus* Adolf Lutz (1930) in the Northeastern Brazil, Evid Based Complement Alternat Med. 2013: 1-7.
- Contreras A, Sierra D, Sánchez AJC, Corrales JC, Paaper MJ, Gonzalo C (2007) Mastitis in small ruminants, Small Rumin Res. 68: 145-163.

Dias DQ, Cabral MES, Sales DL, Oliveira OP, Araujo Filho JA, Teles DA, Sousa JGG, Coutinho HDM, Costa JGM, Kerntopf MR, Alves RRN, Almeida WO (2013) Chemical composition and validation of the ethnopharmacological reported antimicrobial activity of the body fat of *Phrynops geoffroanus* used in traditional medicine, Evid Based Complement Alternat Med. 2013: 1-4.

Dias DQ, Sales, DL, Andrade JC, Silva ARP, Tintino SR, Oliveira-Tintino, CDM, Delmondes GA, Rocha MFG, Costa JGM, Alves RRN, Ferreira FS, Coutinho HDM, Almeida WO (2018) Body fat modulated activity of *Gallus gallus domesticus* Linnaeus (1758) and *Meleagris gallopavo* Linnaeus (1758) in association with antibiotics against bacteria of veterinary interest, Microb Pathog, 124: 163-169.

Ferreira FS, Brito SV, Costa JGM, Coutinho HDM, Alves RRN, W.O. Almeida WO (2009) Is the body fat of the lizard *Tupinambis merianae* effective against bacterial infections? J Ethnopharmacol. 126: 233-237.

Ferreira FS, Albuquerque UP, Coutinho HDM, Almeida WO, Alves RRN (2012) The trade in medicinal animals in Northeastern Brazil, Evid Based Complement Alternat Med. 2012: 1-20.

Ferreira FS, Brito SV, Almeida WO, Alves RRN (2016) Conservation of animals traded for medicinal purposes in Brazil: Can products derived of plants or domestic animals replace products of wild animals? Reg. Environ Chang, 16: 543-551.

Haida KS, Parzianello L, Werner S, Garcia DG, Inácio CV (2007) Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais, Arquivo de Ciências da Saúde da Unipar. 11(3): 185-192.

Hertmann L, Lago R (1973) Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids, Lab Pract. 22(7): 475-476.

Horn RV, Cardoso WM, Lopes ES, Teixeira RSC, Albuquerque AH, Rocha-e-Silva RC, Machado DN, Bezerra WGA (2005) Identification and antimicrobial resistance of members from the Enterobacteriaceae family isolated from canaries (*Serinus canaria*), Pesq. Vet. Bras. 35(6): 552-556.

Houghton PJ, Howes MJ, Lee CC, Steventon G (2007) Uses and abuses of in vitro testes in ethnopharmacology: visualizing an elephant, *J Ethnopharmacol.* 110: 391-400.

Huang CB, George B, J.L. Ebersole JL (2010) Antimicrobial activity of n-6, n-7, n-9, fatty acids and their esters for oral microorganisms, *Arch Oral Biol.* 55: 555-560.

McCorkle CM 1986 An introduction to ethnoveterinary research and development, *J. Ethnobiol.* 6 (1): 129–149.

Oliveira L, Medeiros CMO, Monteiro AJ, Leite CAL, Carvalho CBM (2005) Susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de otites externa em cães, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 57: 405-408.

Oliveira OP, Sales DL, Dias DQ, Cabral MES, Araujo-Filho JA, Teles DA, Sousa JGG, Ribeiro SC, Freitas FRD, Coutinho HDM, Kerntopf MR, Costa JGM, Alves RRN, Almeida WO (2014) Antimicrobial activity and chemical composition of fixed oil extracted from the body fat of the snake *Spilotes pullatus*. *Pharm. Biol.* 52(6): 740-744.

Poeta P, J. Rodrigues J (2008) Detecção da resistência a antibióticos de bactérias isoladas de casos clínicos em animais de companhia, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 6(2): 506-508.

Sales DL, Morais-Braga MFB, Santos TL, Machado AJT, Araujo-Filho JA, Dias DQ, Cunha FAB, Saraiva RA, Menezes IRA, Coutinho HDM, Costa JGM, Ferreira FS, Alves RRN, Almeida WO (2017) Antibacterial, modulatory activity of antibiotics and toxicity from *Rhinella jimi* (Stevaux, 2002) (Anura: Bufonidae) glandular secretions, *Biomed Pharmacother.* 92: 544-561.

Silva LP, Joanitti GA, Leite JRSA, R.B. Azevedo RB (2011) Comparative study of the antimicrobial activities and mammalian cytotoxicity of 10 fatty acid-rich oils and fats from animal and vegetable, *The Natural Products Journal.* 1: 40-46.

Souto WMS, Mourão JS, Barboza RRD, Alves, RRN (2011) Parallels between zootherapeutic practices in ethnoveterinary and human complementary medicine in northeastern Brazil, *J Ethnopharmacol.* 134: 753-767.

Souto WMS, Barboza RRD, Rocha MSP, Alves RRN, Mourão JS (2012) Animal-based medicines used in ethnoveterinary practices in the semi-arid region of Northeastern Brazil, An. Acad. Bras. Ciênc. 84: 669-678.

Tintino SR, Guedes GMM, Cunha FAB, Santos KKA, Ferreira EFM, Morais-Braga MF (2013) *In vitro* evaluation of antimicrobial activity and modulating the ethanol and hexane extracts of *Costus arabicus* bulb, Biosci J. 29(3): 732-738.

Tintino SR, Neto AB, Menezes IRA, Oliveira CDM, Coutinho HDM (2015) Atividade antimicrobiana e efeito combinado sobre drogas antifúngicas e antibacterianas do fruto de *Moringa citrifolia* L. Acta Bot Croat. 20(3): 193-200.

Figures

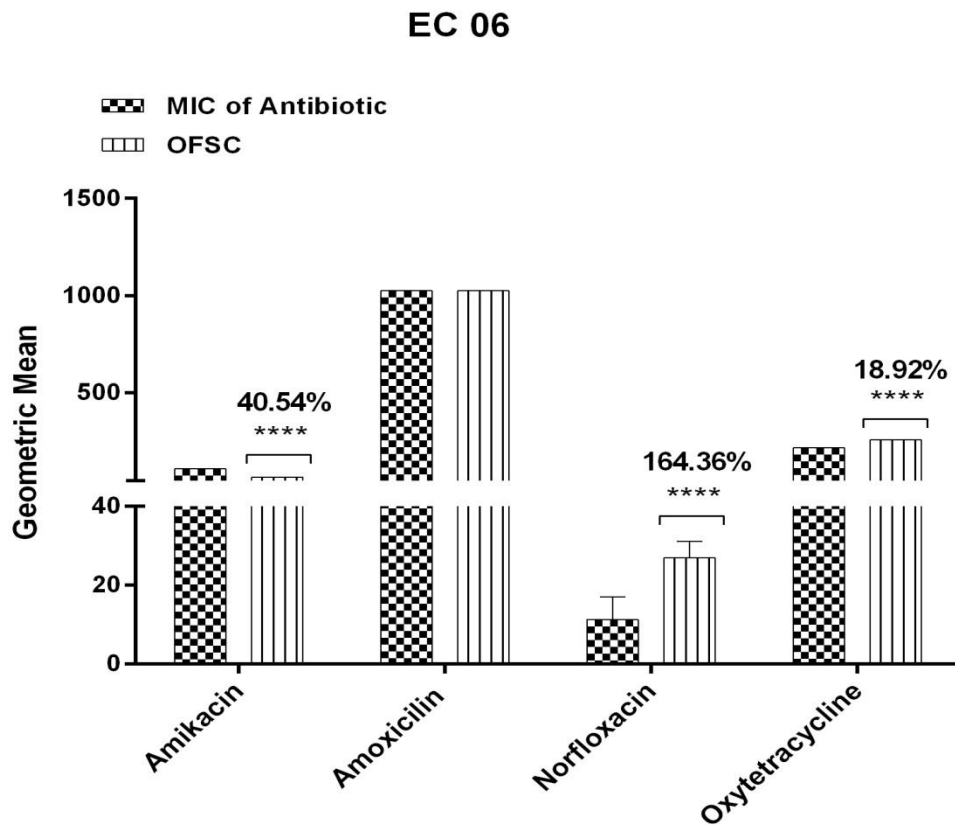


Figure 1. *Sus scrofa* fixed oil (OFSC) effect of modulation in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline) against strains of *Escherichia coli* (EC06).

The columns represent the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) expressed in Geometric Mean (MG) \pm Standard Error of the Mean (S.E.M.), analyzed through the two-way ANOVA (Two-Way Analysis of Variance) followed by the *Bonferroni* test and multiple 't' post hoc. The significance level for rejection of the null hypothesis was $p < 0.05$ (* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; **** - $p < 0.0001$).

PA 24

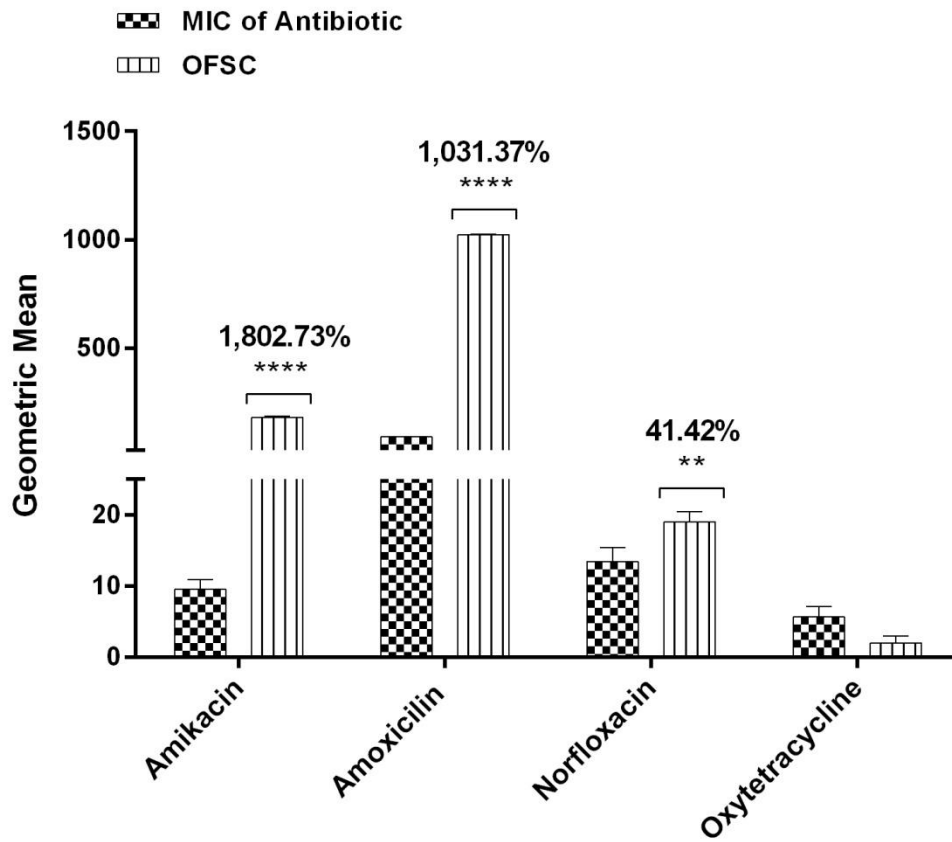


Figure 2. *Sus scrofa* fixed oil (OFSC) effect of modulation in association with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline) against *Pseudomonas aeruginosa* strains (PA24).

The columns represent the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) expressed in Geometric Mean (MG) \pm Standard Error of the Mean (S.E.M.), analyzed through the two-way ANOVA (Two-Way Analysis of Variance) followed by the *Bonferroni* test and multiple 't' post hoc. The significance level for rejection of the null hypothesis was $p < 0.05$ (* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; **** - $p < 0.0001$).

PM 01

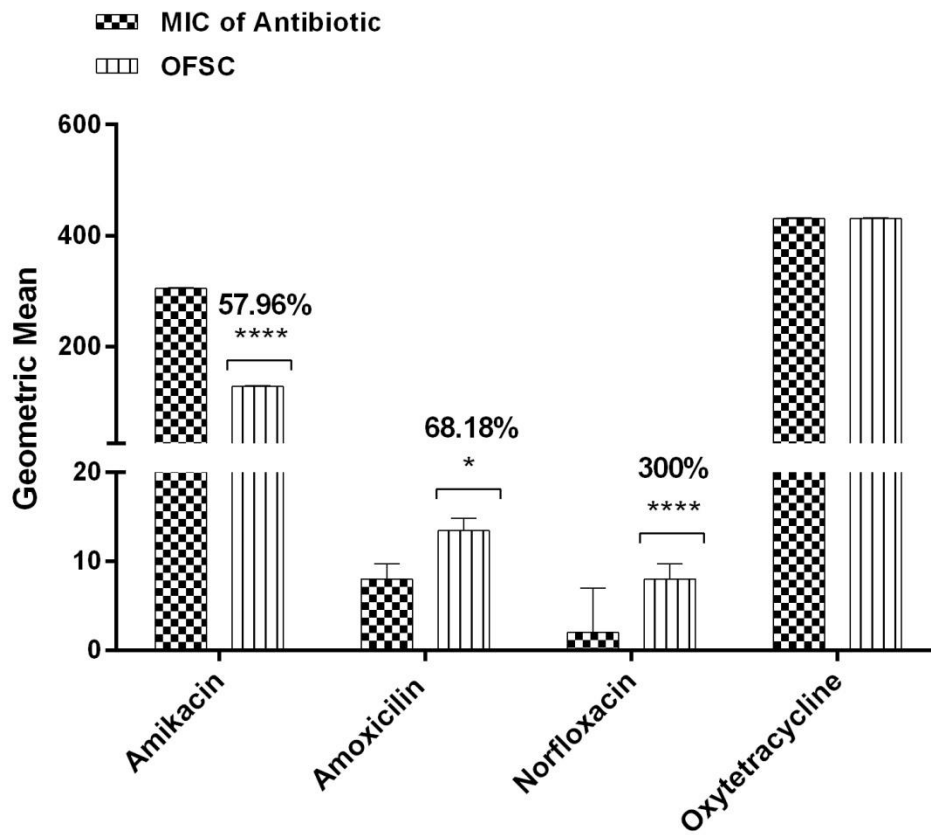


Figure 3. *Sus scrofa* fixed oil (OFSC) effect of modulation in association with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline) against *Proteus mirabilis* strains (PM01).

The columns represent the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) expressed in Geometric Mean (MG) \pm Standard Error of the Mean (S.E.M.), analyzed through the two-way ANOVA (Two-Way Analysis of Variance) followed by the *Bonferroni* test and multiple 't' post hoc. The significance level for rejection of the null hypothesis was $p < 0.05$ (* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; **** - $p < 0.0001$).

SA 10

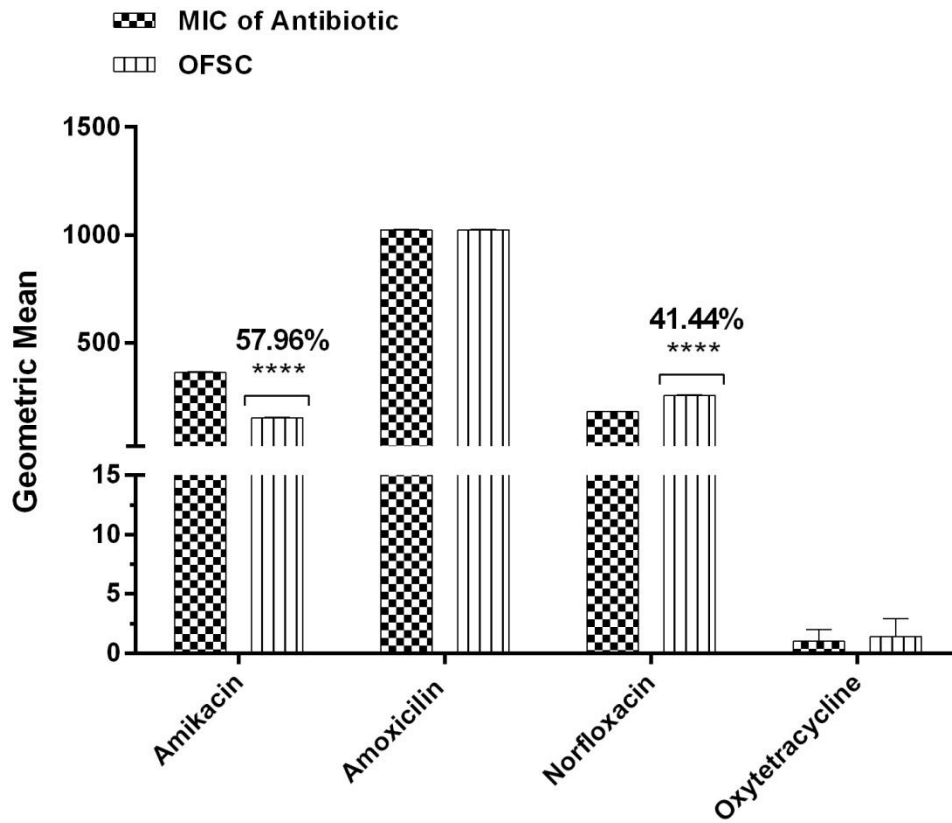


Figure 4. *Sus scrofa* fixed oil (OFSC) effect of modulation in association with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline) against strains of *Staphylococcus aureus* (SA10).

The columns represent the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) expressed in Geometric Mean (MG) \pm Standard Error of the Mean (S.E.M.), analyzed through the two-way ANOVA (Two-Way Analysis of Variance) followed by the *Bonferroni* test and multiple 't' post hoc. The significance level for rejection of the null hypothesis was $p < 0.05$ (* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; **** - $p < 0.0001$).

SE ATCC 12228

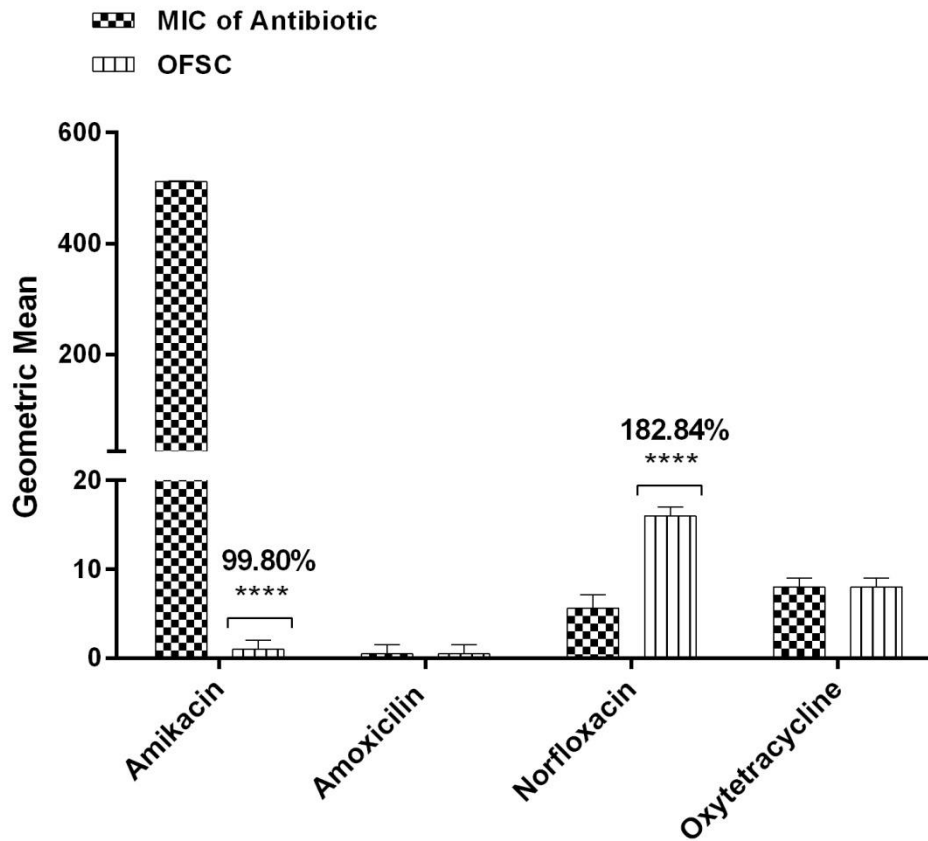


Figure 5. *Sus scrofa* fixed oil (OFSC) effect of modulation in association with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline) against strains of *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (SEATTC).

The columns represent the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) expressed in Geometric Mean (MG) \pm Standard Error of the Mean (S.E.M.), analyzed through the two-way ANOVA (Two-Way Analysis of Variance) followed by the *Bonferroni* test and multiple 't' post hoc. The significance level for rejection of the null hypothesis was $p < 0.05$ (* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; **** - $p < 0.0001$).

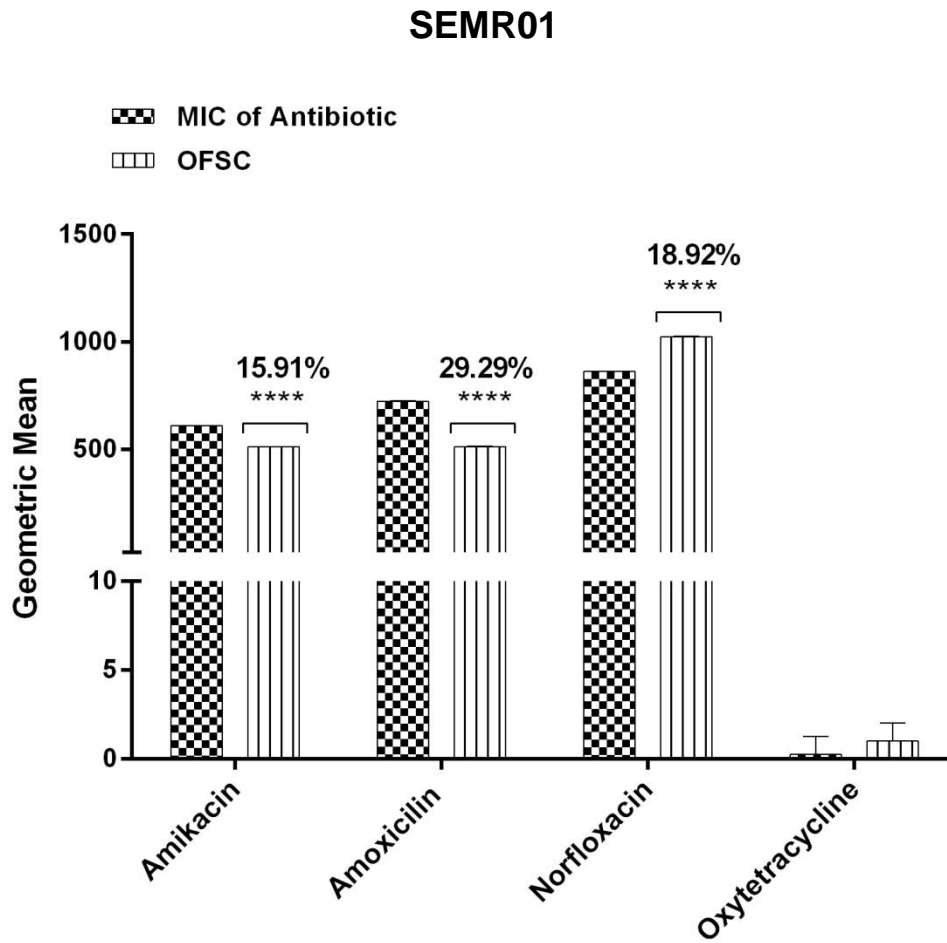


Figure 6. *Sus scrofa* fixed oil (OFSC) effect of modulation in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline) against *Staphylococcus epidermis* strains multiresistant (SEMR01).

The columns represent the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) expressed in Geometric Mean (MG) \pm Standard Error of the Mean (S.E.M.), analyzed through the two-way ANOVA (Two-Way Analysis of Variance) followed by the *Bonferroni* test and multiple 't' post hoc. The significance level for rejection of the null hypothesis was $p < 0.05$ (* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; **** - $p < 0.0001$).

Tables

Table 1 - Strains of bacterial clinical isolates used for testing with their antibiotic resistance and origin profile.

Bacteria	Origin	Resistance profile
<i>Escherichia coli</i> 06	Urine culture	Cephalothin, cephalexin, cefadroxil, ceftriaxone, cefepime, ampicilin-sulbactam
<i>Proteus mirabilis</i> 01	Urine culture	Colistin, nalidix acid, Nitrofurantoin, imipenem
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 24	Urine culture	Amikacin, imipenem, ciprofloxacin, levofloxacin, piperacilin-tazobactam, ceftazidime, merpenem, cefepime.
<i>Staphylococcus aureus</i> 10	Rectal swab culture	Cephalothin, cephalexin, cefadroxil, ceftriaxone, cefepime, ampicilin-sulbactam
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 01	Surgical wound	Benzylopenicilin; ciprofloxacin; Moxifloxacin; sulfamethoxazole-trimethoprim; gentamicin; norfloxacin

Source: Laboratory of Microbiology and Molecular Biology - LMBM - Regional University of Cariri-URCA and Laboratory of Microbiology LB - UFC - Federal University of Ceará.

ARTIGO 2

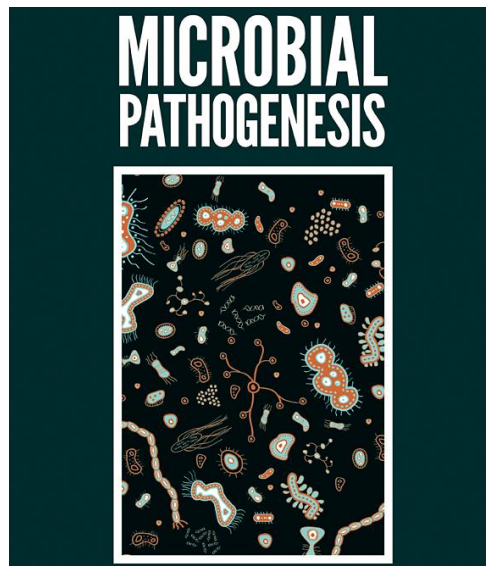
6. ARTIGO 2: BODY FAT MODULATED ACTIVITY OF *Gallus gallus domesticus* LINNAEUS (1758) AND *Meleagris gallopavo* LINNAEUS (1758) IN ASSOCIATION WITH ANTIBIOTICS AGAINST BACTERIA OF VETERINARY INTEREST.

Diógenes de Queiroz Dias^{a*}, Débora Lima Sales^a, Jacqueline Cosmo Andrade^a, Ana Raquel Pereira da Silva^b, Saulo Relison Tintino^b, Cícera Datiane de Moraes Oliveira-Tintino^b, Gyllyandeson de Araújo Delmondes^b, Marcos Fábio Gadelha Rocha^c, José Galberto Martins da Costa^b, Rômulo Romeu da Nóbrega Alves^d, Felipe Silva Ferreira^e, Henrique Douglas Melo Coutinho^b, Waltécio de Oliveira Almeida^b.

Artigo publicado no periódico “Microbial Pathogenesis” (anexo 2)

Qualis em Biodiversidade: B2

Fator de Impacto: 2.332



Body fat modulated activity of *Gallus gallus domesticus* Linnaeus (1758) and *Meleagris gallopavo* Linnaeus (1758) in association with antibiotics against bacteria of veterinary interest

Diógenes de Queiroz Dias^{a*}, Débora Lima Sales^a, Jacqueline Cosmo Andrade^a, Ana Raquel Pereira da Silva^b, Saulo Relison Tintino^b, Cícera Datiane de Moraes Oliveira-Tintino^b, Gyllyandeson de Araújo Delmondes^b, Marcos Fábio Gadelha Rocha^c, José Galberto Martins da Costa^b, Rômulo Romeu da Nóbrega Alves^d, Felipe Silva Ferreira^e, Henrique Douglas Melo Coutinho^b, Waltécio de Oliveira Almeida^b.

^a*Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brasil,*

^b*Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato, CE, Brasil,*

^c*Universidade Estadual do Ceará – UECE, Fortaleza, CE, Brasil,*

^d*Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Campina Grande, PB, Brasil.*

^e*Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Senhor do Bonfim, BA, Brasil,*

***Corresponding author:** (D. Q., Dias), Universidade federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos – CEP: 52171-900 – Recife/PE, Brasil. Tel: +558133206301. E-mail: dqddiogenes@gmail.com

ABSTRACT

In the Northeast of Brazil, ethnoveterinary studies have shown that the body fat from *Gallus gallus domesticus* and *Meleagris gallopavo* are used for diseases that affect domestic animals. The objective of this study was to identify the chemical composition and to evaluate the antibacterial activity of the *Gallus gallus domesticus* (OFGG) and *Meleagris gallopavo* (OFMG) fixed oils in isolation and in association with antibiotics. The OFGG and OFMG from the poultry's body fat

were extracted using hexane as a solvent in Soxhlet. Their composition was indirectly determined using fatty acid methyl esters. The OFGG and OFMG antibacterial and modulatory activities against standard and multi-resistant bacterial strains were performed through the broth microdilution test. In the OFGG chemical composition, 4 constituents were identified. The saturated fatty acid (AGS) and unsaturated fatty acid (AGI) percentages were 35.1% and 64.91% respectively, with linoleic acid being the major component. In the OFMG, 3 constituents were identified. The AGS percentage was 27.71% and 72.29% for AGI, with oleic acid as the most abundant component. The oils did not present antibacterial activity when tested in isolation, presenting Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) > 512 µg/mL. However, when associated with antibiotics the OFGG showed synergistic activity with the antibiotics Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin and Oxytetracycline, while the OFMG promoted a synergistic action with the antibiotics Amikacin, Amoxicillin and Norfloxacin.

Keywords: Ethnoveterinary, zotherapy, fatty acids, antibiotic modulating activity

1. Introduction

There are many parallels between traditional medicine for human beings and traditional medicine for animals, encompassing not only health care and belief concepts, but also almost all modes of medical material administrations, skills, techniques, and behaviors ^[1]. According to Alves and Rosa ^[2], ethnomedical information may indicate the presence of biologically active constituents and may represent important sources for the discovery of new medications. The information from ethnoveterinary systems has led to the bio-prospection of natural products which can be used to treat parasitic ^[3] and bacterial diseases which affect domestic animals ^[4,5].

The concern with the increasing occurrence of bacterial strains resistant to several groups of antibiotics is one of the most worrying problems for research directed towards animal health ^[6-8]. Studies indicate that the increase in antibiotic-resistant bacterial strains coincide with the wide use of different antibiotic groups for the treatment of several clinical manifestations in

human beings and animals, as well as in the food preservation and experimental medicine industries ^[9,10].

Several microorganisms are responsible for infectious diseases in domestic animals, for example, infectious mastitis in animals is caused by a wide variety of microorganisms with the *Staphylococcus* and *Streptococcus* genera being the main contagious microorganisms, in addition to environmental agents such as Enterobacteriaceae *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ^[11]. The potential for the Enterobacteriaceae family to be zoonotic is also a concerning factor in addition to antibiotic resistance ^[12].

One of the alternatives to preventing antibiotic bacterial strain resistance occurs through the bio-prospection of natural products that may demonstrate antibacterial or antibiotic modulating activity ^[13]. Natural resources such as plants ^[14] and animals ^[15] are used in ethnoveterinary practice. Plant-derived materials represent the majority of ingredients used in traditional health systems around the world, however animal origin products, such as urine and fat, are also important elements in the ethnomedical sense ^[2].

In recent years, some studies have tried to analyze the antibacterial and antifungal potential of animals (named as zotherapy), such as in the study by Sales et al. ^[16], where they demonstrated that glandular secretions from the *Rhinella Jimi* frog potentiated aminoglycoside effects against bacteria. Tadesse et al. ^[17] reported that compounds from sponges and ascidians showed activity against bacteria and fungi. Although products from domestic animals are cited for the treatment of diseases that affect humans and other animals, studies that seek to validate these pharmacological activities are still rare ^[13,18].

In the Northeast of Brazil, ethnoveterinary studies have shown that fat is one of the main products used for the treatment of diseases affecting domestic animals ^[18-20]. For domestic animals, turkey (*Meleagris gallopavo*) and chicken (*Gallus gallus domesticus*) fats are cited for the treatment of blisters, and the chicken fat is also used to treat mastitis and dermal nodules ^[18].

^{20]}. However, studies that seek to validate the antibacterial and modulatory activity of these species' fats against bacteria that cause diseases in domestic animals were not found.

In this study, the antibacterial and modulatory activity of the *Gallus gallus domesticus* and *Meleagris gallopavo* body fat against bacteria of veterinary interest were verified.

2. Materials and Methods

2.1. Zoological bird materials

The abdominal fat of eight male and seven female *Meleagris gallopavo* (Linnaeus, 1758) as well as fifteen male and fifteen female *Gallus gallus* (Linnaeus, 1758) were donated by the commercial slaughterhouse Adriano do Frango ME, located at Street F7, number 7, Santa Terezinha Village, in the city of Barbalha - Ceará (Brazil). All animals used for fat extraction were adults of undefined strains (UDS) from several non-commercial farms, raised extensively (free range) and without receiving specific rations. For each species, the total fat obtained was mixed and crushed before sending it for extraction of their respective fixed oils. This study was approved by the Commission of Experimentation and Use of animals of the Regional University of Cariri (CEUA - URCA), under protocol number: 0300/2015.1.

2.2. Obtaining the Meleagris gallopavo (OFMG) and Gallus gallus domesticus (OFGG) fixed oils

The fixed oils were extracted from body fat located in the ventral region of the birds. The extraction was performed in a Soxhlet device for 4 hours using hexane P.A. as a solvent. After the mixtures were filtered and decanted, the poultry oils were dried in a water bath at 70 °C for 2 hours. Thereafter, they were stored in a freezer (- 4 °C) until testing them.

2.3. Fatty acid determination

The *Meleagris gallopavo* and *Gallus gallus domesticus* fatty acids were indirectly determined using their corresponding methyl esters. Each species was weighed with 0.2 g of oil and saponified for 30 minutes under reflux with potassium hydroxide solution in methanol,

following the methodology described by Hertman and Lago ^[21]. After appropriate treatment and pH adjustment, the free acids were methylated using methanol through acid catalysis to obtain the respective methyl esters.

2.4. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

GC-MS analyses were performed on a Shimadzu GC-MS QP2010 series fitted with a fused silica Rtx-5MS (30 m × 0.25 mm I.D.; 0.25 μm film thickness) capillary column and temperature programmed as follow: 60–240 °C at 3 °C/min, then to 280 °C at 10 °C/minute, ending with 10 minutes at 280 °C. Helium was the carrier gas with a flow rate of 1.5 mL/min and a split mode ratio of 1:50. The injection port was set at 220 °C. Significant quadrupole MS operating parameters: interface temperature 240 °C; electron impact ionization at 70 eV with scan mass range of 40–350 m/z at a sampling rate of 1.0 scan/s. Injected volume: 1 μL of 5 μg/mL solution in dichloromethane. Constituents were identified by computer search using digital mass spectral data libraries (NIST 08) and by comparison of their authentic mass spectra ^[22]. The GC-MS analyses revealed peaks corresponding to the elution and molecular mass of saturated and unsaturated fatty components often found in fixed oils.

2.5. Microorganisms

The experiments were carried out with *Escherichia coli* (EC06), *Pseudomonas aeruginosa* (PA24), *Staphylococcus aureus* (SA10), *Multiresistant Staphylococcus epidermidis* (SEMR01) and *Proteus mirabilis* (PM01) clinical isolates as well as a standard *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (SEATCC) bacterial strain. All strains were maintained on *Heart Infusion Agar slants* (HIA, Difco). Before the assays, the cells were cultured for 24 hours at 37 °C in *Brain Heart Infusion* (BHI, Difco). The *Escherichia coli* (EC06), *Pseudomonas aeruginosa* (PA24) and *Staphylococcus aureus* (SA10) bacteria came from the Microbiology and Molecular Biology Laboratory of the Regional University of Cariri, (LMBM-URCA); while the *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus epidermidis* (MR01), and *Proteus*

mirabilis (PM01) bacteria were obtained from the Bacteriology Laboratory of the Federal University of Ceará (LB - UFC) (Table 1).

2.6. Drugs

The antibiotics Amoxicillin (União Química Farmacêutica Nacional S/A, Brazil), Oxytetracycline/LA (Zoetis Manufacturing & Research Spain, SL), Amikacin (Sigma Co., St. Louis, USA) and Norfloxacin (Sigma Co., St. Louis, USA) were selected for testing. All of these components were dissolved in distilled water and sterilized before their use. The aforementioned antibiotics were chosen for use in this study because they were used in bacterial diseases affecting domestic animals, whose etiological agents are often the microorganisms mentioned above (item 2.5), and because there are bacterial resistance reports in veterinary medicine on these antibiotics when they are used in domestic animals ^{[10] [23]}.

2.7. Initial solution and test solution preparations

The *Gallus gallus domesticus* and *Meleagris gallopavo* fixed oils were solubilized in 1 ml of dimethyl sulfoxide (DMSO-Merk, Darmstadt, Germany) in the starting solution preparation. Thereby, a concentration of 10 mg/ml was obtained. Then, these solutions were microdiluted in sterile distilled water, reaching a concentration of 1024 µg/ml, reducing the DMSO concentration to below 10% and thus avoiding its possibly toxic effect ^[24].

2.8. Minimal Inhibitory Concentration

The broth microdilution procedure was adopted ^[25], where solutions were prepared in eppendorf® type microtubes containing 1 mL of solution with 900 µL of 10% BHI and 100 µL of the bacterial suspension with 10⁶ CFU according to the McFarland scale. The plate was filled numerically by adding 100 µL of this solution into each well in a total of 96 wells, followed by serial microdilution performed with a 100 µL solution of the oil or antibiotics, with varying concentrations from 512 to 8µg/mL. The plates were then taken to an incubator for 24 hours at 37 °C. To demonstrate the MIC of the samples, a resazurin sodium (Sigma) solution in sterile

distilled water at the concentration of 0.01% (w/v) was prepared. After incubation, 20 µl of the indicator solution was added into each well and the plates were subjected to an incubation period of 1 hour at room temperature. The staining change from blue to pink due to the reduction of the resazurin pH indicated the presence of bacterial growth. The MIC was determined as the lowest concentration in which no growth was observed, which was evidenced by the unaltered blue color ^[26]. All procedures were performed in quadruplicates.

2.9. Modulation of drug action

To verify if the fixed oils could modify the action of the antibiotics against the tested strains, the methodology proposed by Coutinho et al. (2008) ^[27] was used, where the oil solutions were tested at sub-inhibitory concentrations (MIC/8). Eppendorf® microtubes containing 1.5 mL of 10% BHI solution, 150 µL of the bacterial suspension and 23 µL of the fixed oil were prepared. For the control, eppendorf® microtubes were prepared with 1.5 mL of a solution containing 1,350 µL of BHI (10%) and 150 µL of microorganisms in suspension. The plate was filled alphabetically by adding 100 µL of this solution into each well. The antibiotic (100 µL) was added to the first well and serial microdilutions at a 1:1 ratio were performed up to the penultimate cavity. All procedures were performed in quadruplicates. The antibiotics Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin and Oxytetracycline L.A. were evaluated at concentrations ranging from 512 to 0.5 µg/mL.

2.10. Statistical analysis

Statistical significance was assessed using a two-way ANOVA (Analysis of Variance) followed by *Bonferroni's post hoc* test (where $p < 0.05$ and $p < 0.0001$ are considered significant and $p > 0.05$ is not significant) using the software *Graph Pad Prism 6.0*.

3. Results

GC/MS fixed oil analyses allowed the *Gallus gallus domesticus* and *Meleagris gallopavo* fatty acid methyl esters to be identified. In the OFGG, 4 chemical constituents were identified.

The saturated and unsaturated methyl ester percentages found were of 35.1% and 64.91%, respectively, with linoleic acid (55.35%) as the major constituent. The OFMG had 3 constituents, with 72.29% of them being unsaturated and 27.71% saturated; oleic acid (56.83%) was its major constituent (Table 2).

The resazurin added to the bacterial culture wells established a MIC of $> 512 \mu\text{g/mL}$ for the OFGG and OFMG. The MIC results for both species demonstrated that although OFGG and OFMG are indicated in traditional veterinary medicine for the treatment of infections, they have not shown any clinically relevant antibacterial activity.

In the antibiotic modulation assays (charts 1, 2, 3, 4, 5 and 6), when associated with Amikacin, the OFGG presented synergism for EC 06, SE ATCC, SE 01 and PM 01. When in association with Amoxicillin, synergism for EC 06 and SE 01 was observed. For Norfloxacin, synergism occurred with the OFGG against SE 01 and PA 24, as well as in association with Oxytetracycline against EC 06. Antagonistic effects occurred for the OFGG and Amoxicillin association against PA 24 and PM 01, as well as with Amikacin against PA 24 and Oxytetracycline against PM 01.

When associated with Amikacin, the OFMG presented synergism against SA 10, PM 01 and SE 01. Other synergistic effects still occurred in the association of the OFMG with Norfloxacin for EC 06 and SE 01 and with Amoxicillin against SE 01. Antagonistic effects occurred for this fixed oil when associated with: Amikacin against EC 06, PM 01, PA 24; Oxytetracycline against PM 01 (Figures 1, 2, 3, 4, 5 and 6).

4. Discussion

The fatty acids in OFGG and OFMG are similar. However, the proportion between saturated and unsaturated fatty acids is different, where the OFGG presents 35.1% of saturated fatty acids and 64.91% of unsaturated fatty acids, the OFMG presents 72.29% unsaturated and 27.71% saturated fatty acids. In animal fats, mainly saturated fatty acids are found ^[28]. A basic

poultry diet is composed of vegetables, where today the supply of animal-derived ingredients is prohibited [29]. The percentage and types of fatty acids present in the poultry's body fat may vary according to the amount and type of lipid source provided in poultry feed [30]. The major components found in this study are different, with linoleic acid being the main constituent of OFGG and oleic acid of OFMG, where this variation may be due to a different lipid diet provided for the species evaluated here. Previous studies investigating the antibacterial activity of animal fats as well as the results of the present study demonstrate that the composition of saturated and unsaturated fatty acids may vary according to the species analyzed [13][28].

Our data indicates that in the antibacterial activity analysis, the OFGG and OFMG when used in isolation, did not demonstrate any relevant activity against the strains tested here. The results indicate that there is no pharmacological basis for the use of OFMG and OFGG to treat bacterial diseases in domestic animals that have the bacterial strains used as etiological agents.

The modulatory action of the fixed oils mentioned above when associated with antibiotics commonly used to treat domestic animals were also investigated. OFGG showed a synergistic effect when associated with the antibiotics Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline. In another study, Coutinho et al. (2014) [31] had already found that OFGG had a modulatory effect against *Staphylococcus aureus* when associated with aminoglycosides. However, due to the absence of the OFGG chemical composition in their study, it is impossible to associate our results with respect to the compounds. Similar to OFGG, OFMG also demonstrated a synergistic effect in association with the antibiotics Amikacin, Amoxicillin, and Norfloxacin.

Several chemical compounds, whether synthetic or from natural sources, have direct activity against several bacterial species increasing the specific activity of the antibiotic, reverting the bacterial natural resistance to specific antibiotics, eliminating plasmids and inhibiting the active effluent of antibiotics through the plasma membrane. The potentiation of

antibacterial activity or antibiotic resistance reversal permits the categorization of these compounds as modifiers of antibiotic activity ^{[32][33]}.

Several mechanisms may be involved in bacterial growth inhibition by the fixed oil, where this inhibitory effect may be partly attributed to the inhibitory nature of some components. As a result, these components may exhibit greater interaction with the cell membrane lipid bilayer, affect the respiratory chain and energy production, or even leave the cell more permeable to antibiotics, thus providing interruption of cellular activity. Several components from the fixed oils can permeabilize cell membranes, increasing antibiotic penetration. Enzymatic action interference can also be considered a potential mechanism of action. All the mechanisms of action mentioned herein can be obtained by the associating of antibiotics with fixed oils at a sub-inhibitory concentration administered directly into the culture medium ^[34].

This study corroborates with previous studies where, even when a direct fixed oil antibacterial activity does not occur, the association between antibiotics and zootherapy fixed oils can inhibit bacterial action against certain strains ^{[13][35,36]}. Other reports on the association of fixed oils and antibiotics against bacteria were observed all indicating a potentiation of antibiotic activity due to a greater membrane permeability, which is why we conducted the birds' fixed oil modulation tests, although these did not present direct antibacterial action ^{[34][37]}.

The fixed oil from the two bird species tested here were capable of modulating the action of essentially the same antibiotics. However, the response from each of the fixed oils against certain strains was different. The major fatty acids from the two bird species were unsaturated fatty acids. However, these were different components with an Omega-6 being the major component of the OFGG and an omega-9 of the OFMG, corroborating with the analysis by Huang et al. (2010) ^[38], where the authors demonstrated that certain fatty acids can present greater antibacterial activity over specific strains.

Granowitz and Brown ^[39] and Ferreira et al. ^[13] report that antagonistic effects may also occur when we associate natural products with antibiotics, where this effect is attributed to the occurrence of a mutual chelation. Similar effects may be attributed here to antagonistic effects having occurred with the OFGG and OFMG.

5. Conclusions

The results presented here indicate that OFGG and OFMG did not present clinically relevant antibacterial activity against the bacterial strains used when tested in isolation. However, when poultry fixed oils were tested in combination with antibiotics, OFGG modulated the action of the antibiotics Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline, while OFMG modulated the action of Amikacin, Amoxicillin, and Norfloxacin.

This study examined the effects of the OFGG and OFMG *in vitro*, thus additional studies with living organisms should be performed to verify systemic efficacy and elucidate additional information related to clinical issues which occur in veterinary medicine.

Conflict of interests

The authors declare that they have no competing interests regarding the publication of this article.

Acknowledgment

The authors would like to thank the Cearense Foundation for Scientific and Technological Development Support (FUNCAP) for Diógenes de Queiroz Dias doctoral scholarship and the National Research Council (CNPq) for the research productivity subsidy of Waltécio de Oliveira Almeida, process: 302429/2015-8 and Débora Castelo Branco de Souza Colares Maia of the LB-UFC for giving the strains of *S. epidermidis* and *Proteus mirabilis*.

References

1. McCorkle, C.M. 1986. An introduction to ethnoveterinary research and development. *Journal of Ethnobiology*, 6(1), 129-149.

2. Alves, R.R.N., Rosa, I.L. 2005. Why study the use of animal products in traditional medicines? *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 1(5), 1-5.
3. Monteiro, M.V.B., Bevilaqua, C.M.L., Morais, S.M., Machado, L.K.A., Camurça-Vasconcelos, A.L., Campello, C.C., Ribeiro, W.L.C., Mesquita, M.A. 2011. Anthelmintic activity of *Jatropha curcas* L. Seeds on *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology* (print), 182, 259-263.
4. Pozzo, M.D., Viégas, J., Santuário, D.F., Soares, I.H., Laves, S.H., Costa, M.M. 2011. Antimicrobial activities of essential oils extracted from spices against *Staphylococcus* spp. Isolated from goat mastitis. *Ciência Rural*, 41(4), 667-672.
5. Santúrio, D.F., Costa, M.M., Mabonil, G., Cavalheiro, C.P., Sá, M.F., Dal Pozzo, M., Alves, S.H., Fries, L.C.M. 2011. Antimicrobial activity of spice essential oils against *Escherichia coli* strains isolated from poultry and cattle. *Ciência Rural*, 41(6), 1051-1056.
6. Whitte, W. 1998. Medical consequences of antibiotics use in agriculture. *Science*, 279, 996-997.
7. Poeta, P., Rodrigues, J. 2008. Detecção da resistência a antibióticos de bactérias isoladas de casos clínicos em animais de companhia. *Arquivo Brasileiro de Medicina veterinária e Zootecnia*, 6(2), 506-508.
8. Guiguère, S., Prescott, J.F., Baggot, J.D., Walker, R.D., Dowling, P.M., 2010. *Terapia antimicrobiana em medicina veterinária*. São Paulo: Roca, 683p.
9. Andrade, S., 2002. *Manual de terapêutica veterinária*, 2.ed. São Paulo: Roca.
10. Arias, M.V.B., Carrilho, C.M.D., 2012. Resistencia antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação? *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, 33(2), 775-790.
11. Contreras, A., Sierra, D., Sánchez, A, J.C., Corrales, J.C., Paaper, M.J., Gonzalo, C., 2007. Mastitis in small ruminants. *Small Ruminants Research*, 68, 145-163.

12. Horn, R.V., Cardoso, W. M., Lopes, E.S., Teixeira, R.S.C., Albuquerque, A.H., Rocha-e-Silva, R.C., Machado, D.N., Bezerra, W.G.A., 2015. Identification and antimicrobial resistance of members from the Enterobacteriaceae family isolated from canaries (*Serinus canaria*). *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 35(6), 552-556.
13. Ferreira, F.S., Brito, S.V., Costa, J.G.M., Almeida, W.O., Coutinho, H.D.M., Alves, R.R.N., Almeida, W.O. 2009. Is the body fat of the lizard *Tupinambis merianae* effective against bacterial infections? *Journal of Ethnopharmacology*, 126, 233-237.
14. Ritter, R.A., Monteiro, M.V.B., Monteiro, F.O.B., Rodrigues, S.T., Soares, M.S., Silva, J.C.R., Palha, M.D.C., Biondi, G.F., Rahal, S.C., Tourinho, M.M. 2012. Ethnoveterinary knowledge and practices at Colares island., Pará state, eastern Amazon, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 144, 346-352.
15. Barboza, R.R.D., Souto, W.M.S., Mourão, J.S., 2007. The use of zooterapeutics in folk veterinary in the district of cubati, Paraíba State, Brazil, *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3, 2.
16. Sales, D.L., Morais-Braga, M.F.B., Santos, T.L., Machado, A.J.T., Araujo-Filho., J.A., Dias, D.Q., Cunha, F.A.B., Saraiva, R.A., Menezes, I.R.A., Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M; Ferreira, FS., Alves, R.R.N., Almeida, W.O., 2017. Antibacterial, modulatory activity of antibiotics and toxicity from *Rhinella jimi* (Stevaux, 2002) (Anura: Bufonidae) glandular secretions. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, 544-561.
17. Tadesse, M., Gulliksen, B., Storm, M.B., Styvold, O.B., Haug, T. 2008. Screening for antibacterial and antifungal activities in marine benthic invertebrates from northern Norway. *Journal of Invertebrate Pathology*, 99, 286-293.
18. Souto, W.M.S., Mourão, J.S., Barbosa, R.R.D., Alves, R.R.N. 2011. Parallels between zooterapeutic practices in ethnoveterinary and human complementary medicine in northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 134, 753-767.

19. Confessor, M.V.A., Mendonça, L.E.T., Mourão, J.S., Alves, R.R.N. 2009. Animals to heal animal: ethnoveterinary practices in the semi-arid region, Northeastern Brazil. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 5, 37.
20. Souto, W.M.S., Barboza, R.R.D., Rocha, M.S.P., Alves, R.R.N., Mourão, J.S. 2012. Animal-based medicines used in ethnoveterinary practices in the semi-arid region of Northeastern Brazil, *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 84, 669-678.
21. Hertmann, L., Lago, R. 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*, 22(7), 475-476.
22. Adams, R. P. 2001. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy*. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation.
23. Arias, M.V.B., Battaglia, L.A., Aiello, G., Carvalho, T.T., Freitas, J.C. 2008. Identificação da suscetibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de cães e gatos com feridas traumáticas contaminadas e infectadas. *Semina: Ciências agrárias, Londrina*, 29(4), 861-874.
24. Mathias, E.E.F., Santos, K.K.A., Almeida, T.S., Costa, J.G.M., Coutinho, H.D.M. 2010. Atividade antibacteriana *In vivo* de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenácea* DC. *Revista Brasileira de Biociências*, 8(3), 294-298.
25. NCCLS (National Committee For Clinical Laboratory Standards). 2003. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for bacteria that grow aerobically*. 6thed. Wayne, PA: NCCLS Approved Standard M7-A6, 50-62.
26. Palomino, J.C., Martin, A., Camacho, m., Guerra, H., Swings, J., Portaels, F. 2002. Resazurin microtiter assay plate: simple and unexpressive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and chemotherapy*, 46, 2720-2722.

27. Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M., Lima, E.O., Falcão-Silva, J.P., Siqueira-Junior. 2008. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine, *Chemotherapy*, 54, 328–330.
28. Cabral, M.E.S., Dias, D.Q., Sales D.L., Oliveira, O.P., Araujo Filho, J.A., Teles, D.A., Sousa, J.G.G., Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M., Kerntopf, M.R., Alves, R.R.N., Almeida, W.O., 2013. Evaluations of the antimicrobial activities and chemical compositions of body fat from the amphibians *Leptodactylus macrosternum* Miranda-Ribeiro (1926) and *Leptodactylus vastus* Adolf Lutz (1930) in the Northeastern Brazil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1-7.
29. Eichiner, G. 2005. Alternativas na formulação de dietas vegetarianas para frangos de corte. Dissertação de Mestrado em Zootecnia. Universidade federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 105p.
30. Lara, L.J.C., Baião, N.C., Aguilar, C.A.L., Cançado, S.C., Fiuza, M.A., Ribeiro, B.R.C. 2006. Rendimento, composição e teor de ácidos graxos da carcaça de frangos de corte alimentados com diferentes fontes lipídicas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58(1), 108-115.
31. Coutinho, H., Aquino, P., Leite, J., Leandro, L., Figueredo, F., Matias, E., Guedes, T., 2014. Modulação da atividade antibacteriana do tecido adiposo de *Gallus gallus domesticus* (Linnaeus, 1758). *Comunicata scientiae*, 5(4), 380-385.
32. Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M., Lima, E.O., Falcão-Silva, V.S., Siqueira-Junior, J. 2009. Herbal therapy associated with antibiotic therapy: potentiation of the antibiotic activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by *Turnera ulmifolia* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9, 13.
33. Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M., Lima, E.O., Falcão-Silva, V.S., Siqueira-Junior, J. 2010. Effect of *Momordica charantia* L. in the resistance to aminoglycosides in methicillin-

- resistant *Staphylococcus aureus*. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 33, 467-471.
34. Saraiva, R.G., Matias, E.F.F., Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M., Souza, H.H.F., Fernandes, C.N., Rocha, J.B.T., Menezes, I.R.A. 2011. Synergistic action between *Caryocar coriaceum* Wittm. Fixed oil with aminoglycosides in vitro. European Journal of Lipid Science and Tecnology, 113, 967-972.
35. Dias, D.Q., Cabral, M.E.S., Sales D.L., Oliveira, O.P., Araujo Filho, J.A., Teles, D.A., Sousa, J.G.G., Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M., Kerntopf, M.R., Alves, R.R.N., Almeida, W.O. 2013. Chemical composition and validation of the ethnopharmacological reported antimicrobial activity of the body fat of *Phrynops geoffroanus* used in traditional medicine. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 1-4.
36. Oliveira, O.P., Sales, D.L., Dias, D.Q., Cabral, M.E.S., Araujo-Filho, J.A., Teles, D.A., Sousa, J.G.G., Ribeiro, S.C., Freitas, F.R.D., Coutinho, H.D.M., Kerntopf, M.R., Costa, J.G.M., Alves, R.R.N., Almeida, W.O., 2014. Antimicrobial activity and chemical composition of fixed oil extracted from the body fat of the snake *Spilotes pullatus*. Pharmaceutical Biology, 52(6), 740-744.
37. Bera, S., Zhanel, G.G., Schweizer, F. 2008. Design, synthesis, and antibacterial activities of neomycin-lipid conjugates: pycationic lipids with potent gram-positive activity. Journal of Medicinal Chemistry, 51, 6160-6164.
38. Huang, C.B., George, B., Ebersole, J.L. 2010. Antimicrobial activity of n-6, n-7, n-9, fatty acidy and their esters for oral microorganisms. Achives Oral Biology, 55, 555-560.
39. Granovitz, E.V., Brown, R.B., 2008. Antibiotic adverse aeactions and drugs interations. Critical Care Clinics, 24, 421-442.

Figures

EC 06

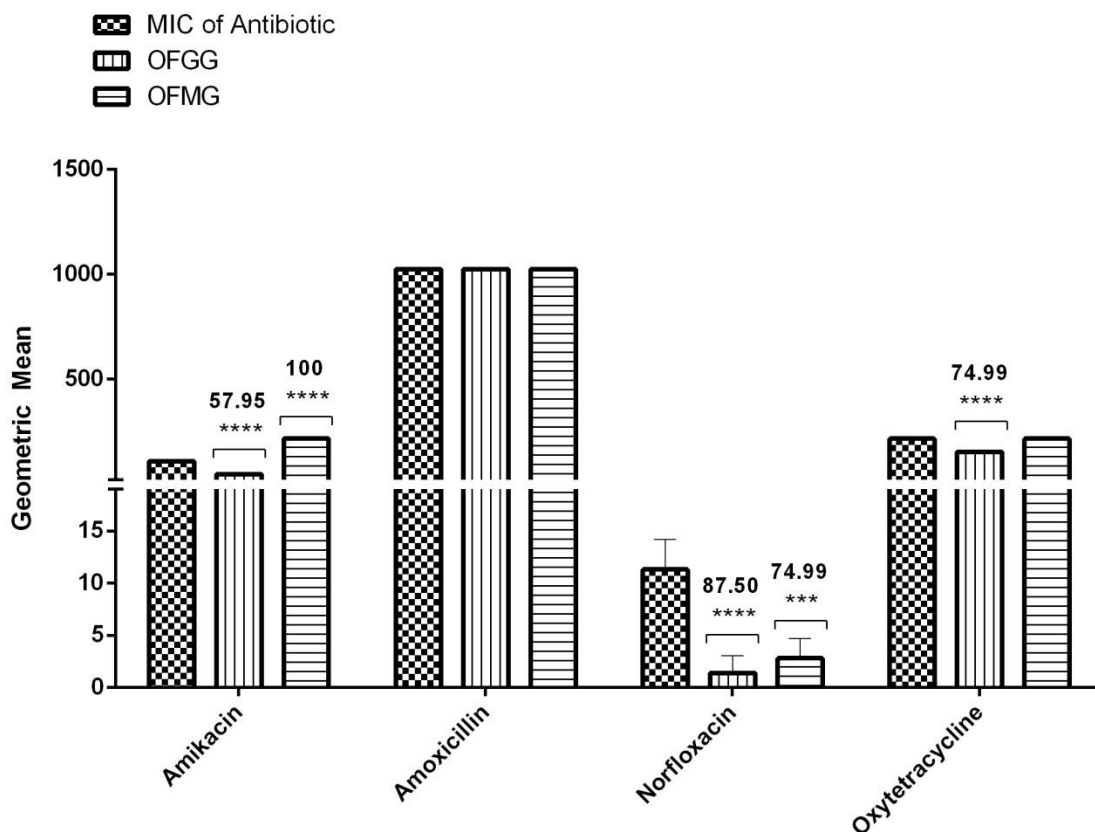


Fig. 1. Effect of the modulation of fixed oils of *Gallus gallus* (OFGG) and *Meleagris gallopavo* (OFMG) in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline) against *Escherichia coli* (strains EC06).

The columns represent the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) expressed in Geometric Mean (MG) \pm Mean Standard Error SEM, analyzed through the two-way ANOVA (Two-Way Analysis of Variance) followed by the Bonferroni test and multiple 't' post hoc. The significance level for rejection of the null hypothesis was $p < 0.05$ (* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; **** - $p < 0.0001$).

PA 24

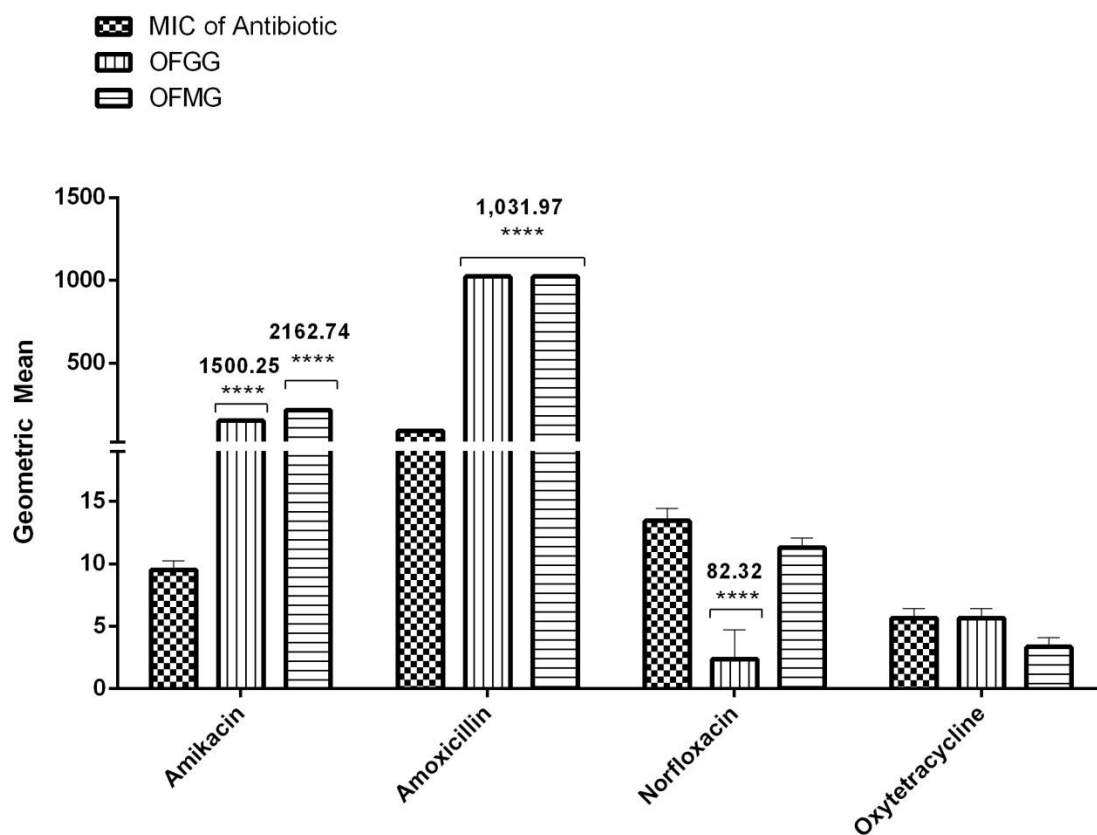


Fig. 2. Effect of the modulation of the fixed oils of *Gallus gallus* (OFGG) and *Meleagris gallopavo* (OFGM) in association with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline) against *Pseudomonas aeruginosa* strains (PA24).

The columns represent the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) expressed in Geometric Mean (MG) \pm Mean Standard Error SEM, analyzed through the two-way ANOVA (Two-Way Analysis of Variance) followed by the Bonferroni test and multiple 't' post hoc. The significance level for rejection of the null hypothesis was $p < 0.05$ (* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; **** - $p < 0.0001$).

PM 01

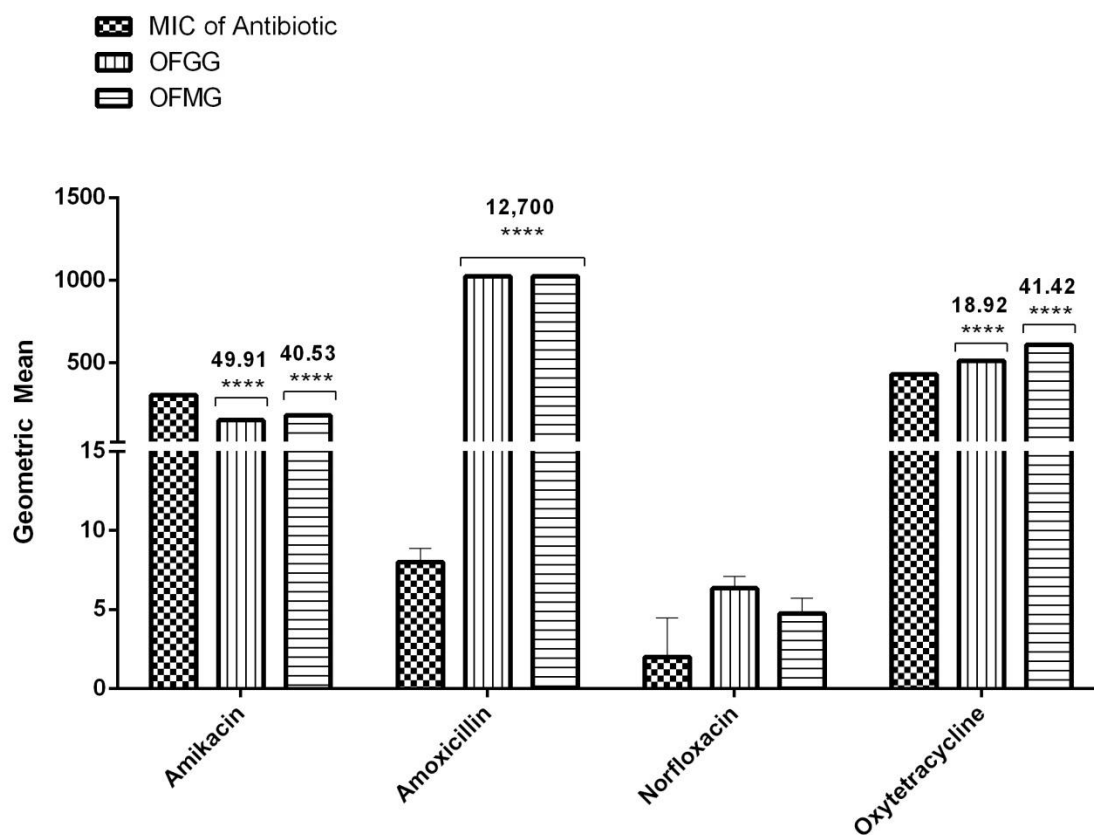


Fig. 3. Effect of the modulation of fixed oils of *Gallus gallus* (OFGG) and *Meleagris gallopavo* (OFMG) in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline) against *Proteus mirabilis* strains (PM01).

The columns represent the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) expressed in Geometric Mean (MG) \pm Mean Standard Error SEM, analyzed through the two-way ANOVA (Two-Way Analysis of Variance) followed by the Bonferroni test and multiple 't' post hoc. The significance level for rejection of the null hypothesis was $p < 0.05$ (* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; **** - $p < 0.0001$).

SA 10

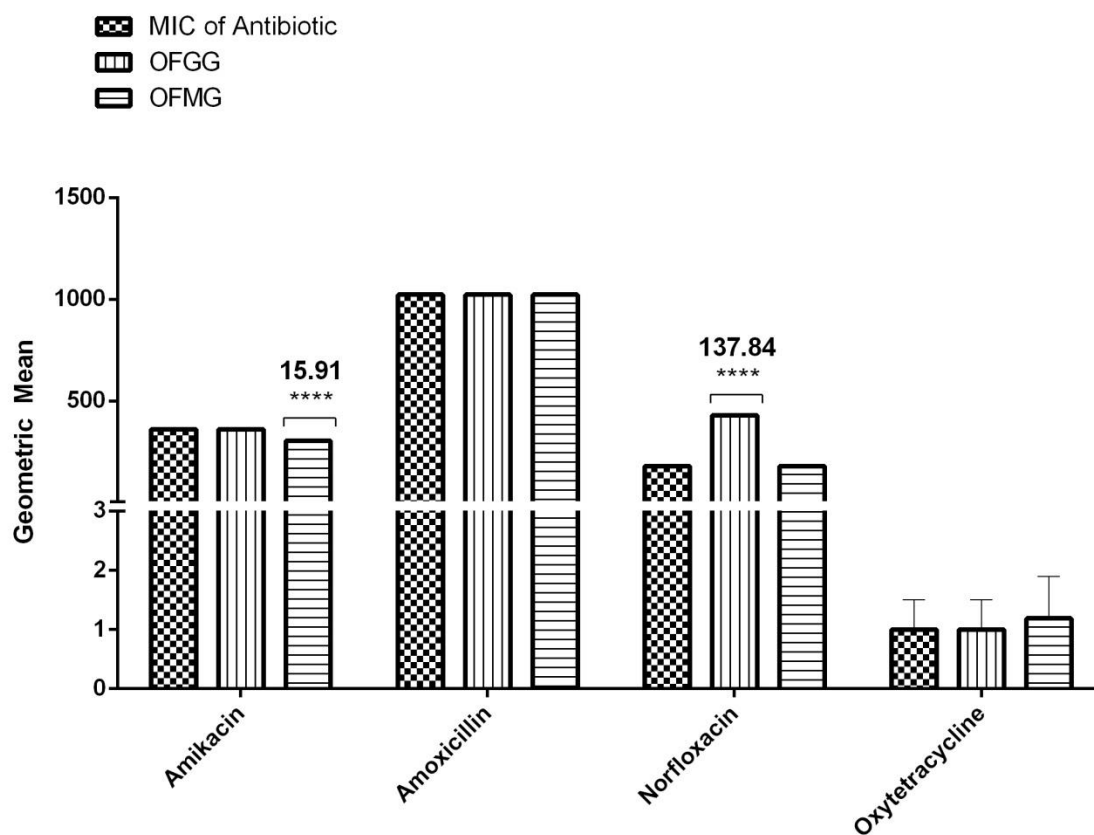


Fig. 4. Effect of the modulation of fixed oils of *Gallus gallus* (OFGG) and *Meleagris gallopavo* (OFMG) in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline) against *Staphylococcus aureus* strains (SA10).

The columns represent the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) expressed in Geometric Mean (MG) \pm Mean Standard Error SEM, analyzed through the two-way ANOVA (Two-Way Analysis of Variance) followed by the Bonferroni test and multiple 't' post hoc. The significance level for rejection of the null hypothesis was $p < 0.05$ (* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; **** - $p < 0.0001$).

SE ATCC 12228

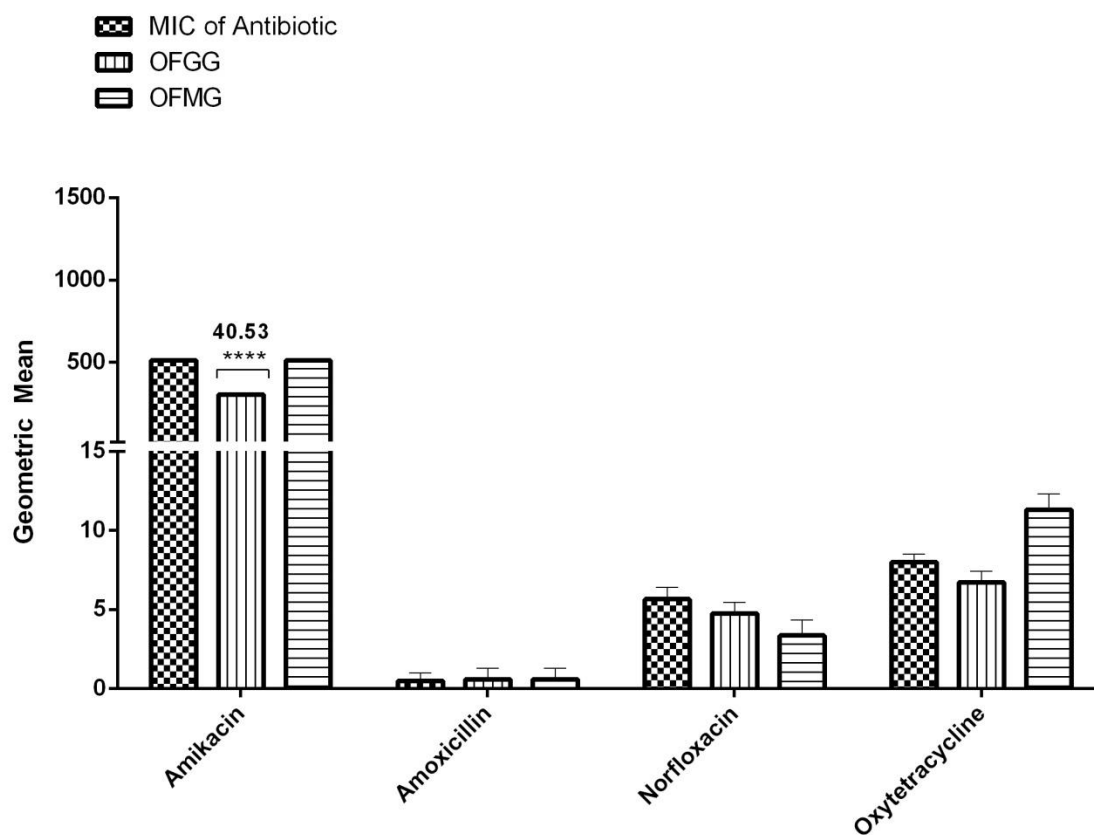


Fig. 5. Effect of modulation of fixed oils of *Gallus gallus* (OFGG) and *Meleagris gallopavo* (OFMG) in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline) against *Staphylococcus epidermidis* strains ATCC 12228 (SEATTC).

The columns represent the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) expressed in Geometric Mean (MG) \pm Mean Standard Error SEM, analyzed through the two-way ANOVA (Two-Way Analysis of Variance) followed by the Bonferroni test and multiple 't' post hoc. The significance level for rejection of the null hypothesis was $p < 0.05$ (* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; **** - $p < 0.0001$).

SE Resistente

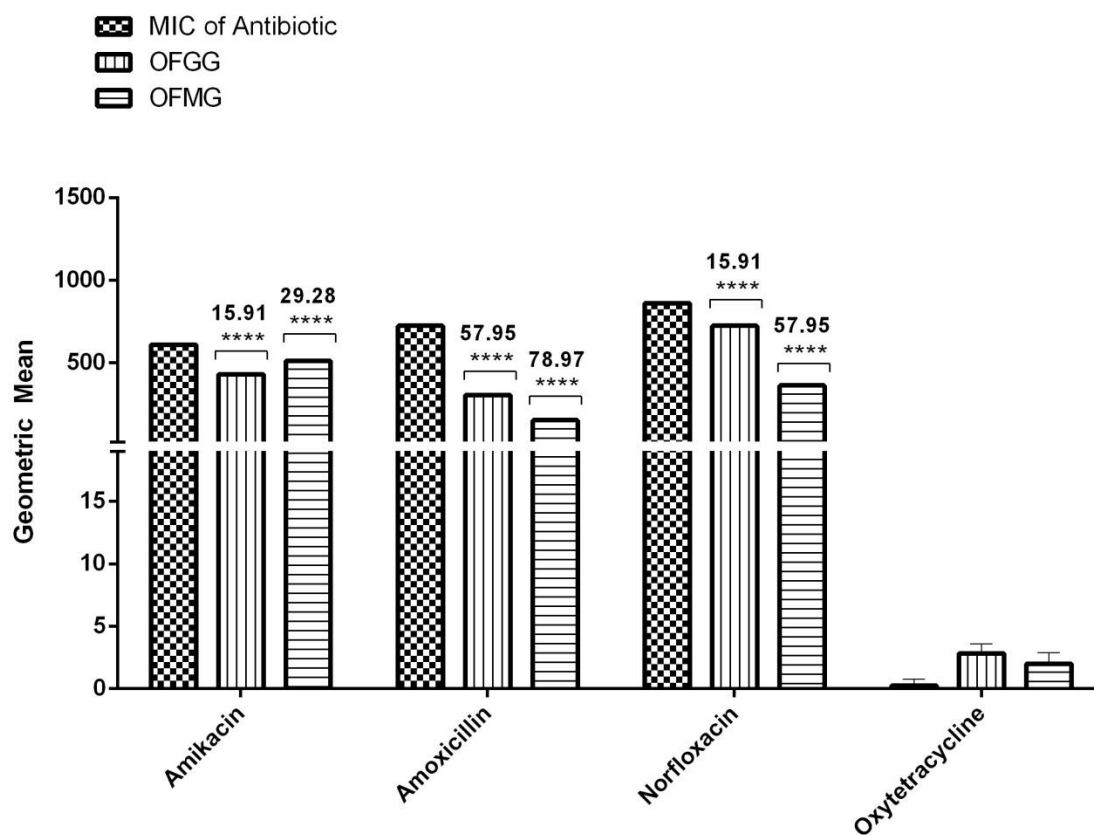


Fig. 6. Effect of the modulation of the fixed oils of *Gallus gallus* (OFGG) and *Meleagris gallopavo* (OFMG) in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin, and Oxytetracycline) against the Multiresistant *Staphylococcus epidermis* strains (SEMR01).

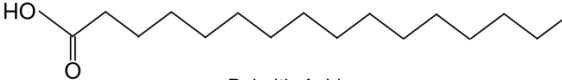
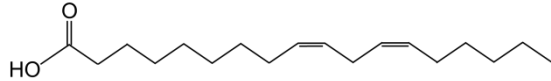
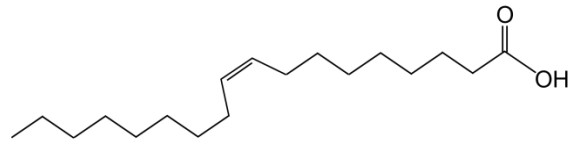
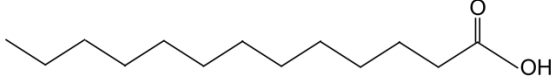
The columns represent the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) expressed in Geometric Mean (MG) \pm Mean Standard Error SEM, analyzed through the two-way ANOVA (Two-Way Analysis of Variance) followed by the Bonferroni test and multiple 't' post hoc. The significance level for rejection of the null hypothesis was $p < 0.05$ (* - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$; **** - $p < 0.0001$).

Table**Tab. 1** - Strains of bacterial clinical isolates used for testing with their antibiotic resistance and origin profile.

Bactéria	Origem	Perfil de resistencia
<i>Escherichia coli</i> 06	Urine culture	Cephalothin, cephalixin, cefadroxil, ceftriaxone, cefepime, ampicilin-sulbactam
<i>Proteus mirabilis</i> 01	Urine culture	Colistin, nalidix acid, Nitrofurantoin, imipenem
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 03	Urine culture	Amikacin, imipenem, ciprofloxacin, levofloxacin, piperacilin-tazobactam, ceftazidime, merpenem, cefepime
<i>Staphylococcus aureus</i> 10	Rectal swab culture	Cephalothin, cephalixin, cefadroxil, ceftriaxone, cefepime, ampicilin-sulbactam
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 01	Surgical wound	Benzylopenicilin; ciprofloxacin; Moxifloxacin; sulfamethoxazole-trimethoprim; gentamicin; norfloxacin

Source: Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular - LMBM - Universidade Regional do Cariri-URCA e Laboratório de Microbiologia da UFC.

Tab. 2 - Methyl esters identified in the fixed oils *Gallus gallus* (OFGG) and *Meleagris gallopavo* (OFMG) with their respective percentages.

Componentes	Estrutura química	OFGG		OFMG	
		RI ^a	(%)	RI ^a	(%)
Hexadecanoic Acid	 Palmitic Acid	27.617	29.24	-	-
9,12 – Octadecadienoic acid	 Linoleic acid	31.018	9.56	31.023	15.46
9 – Octadecenoic acid	 Oleic acid	31.103	55.35	31.107	56.83
Tridecanoic acid	 Tridecanoic Acid	31.484	5.86	27.627	27.71
Saturated Esters			35.10%		27.71%
Insaturated Esters			64.90%		72.29%
Total identificado			100%		100%

ARTIGO 3

7. ARTIGO 3: ANTIBACTERIAL AND ANTIBIOTIC MODIFYING ACTIVITY EVALUATION OF RUMINANTS' BODY FAT USED AS ZOOTHERAPEUTICS IN ETHNOVETERINARY PRACTICES IN NORTHEAST BRAZIL

Diógenes de Queiroz Dias^{a*}, Débora Lima Sales^a, Jacqueline Cosmo Andrade^a, Ana Raquel Pereira da Silva^b, Saulo Relison Tintino^b, Cícera Datiane de Moraes Oliveira-Tintino^b, Gyllyandeson de Araújo Delmondes^b, Maysa de Oliveira Barbosa^a, Henrique Douglas Melo Coutinho^b, Felipe Silva Ferreira^c, Marcos Fábio Gadelha Rocha^d, Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro^e, Karolyne Lino da Rocha^e, José Galberto Martins da Costa^b, Romulo Romeu da Nóbrega Alves^f, Waltécio de Oliveira Almeida^b.

Artigo aceito no periódico “Journal of Ethnopharmacology” (anexo 3)

Qualis em Biodiversidade: A1

Fator de Impacto: 3.115



Antibacterial and antibiotic modifying activity evaluation of ruminants' body fat used as zoonotherapeutics in ethnoveterinary practices in Northeast Brazil

Diógenes de Queiroz Dias^{a*}, Débora Lima Sales^a, Jacqueline Cosmo Andrade^a, Ana Raquel Pereira da Silva^b, Saulo Relison Tintino^b, Cícera Datiane de Moraes Oliveira-Tintino^b, Gyllyandeson de Araújo Delmondes^b, Maysa de Oliveira Barbosa^a, Henrique Douglas Melo Coutinho^b, Felipe Silva Ferreira^c, Marcos Fábio Gadelha Rocha^d, Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro^e, Karolyne Lino da Rocha^e, José Galberto Martins da Costa^b, Romulo Romeu da Nóbrega Alves^f, Waltécio de Oliveira Almeida^b.

^a*Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brasil,*

^b*Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato, CE, Brasil,*

^c*Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Senhor do Bonfim, BA, Brasil,*

^d*Universidade Estadual do Ceará – UECE, Fortaleza, CE, Brasil,*

^e*Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, PE, Brasil,*

^f*Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Campina Grande, PB, Brasil.*

***Corresponding author:** (D. Q., Dias), Universidade federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos – CEP: 52171-900 – Recife/PE, Brasil. Tel: +558133206301. E-mail: dqddiogenes@gmail.com

Abstract

Northeast Brazilian ethnoveterinary studies associated with the medicinal use of zootherapies have shown that ruminants' body fat such as sheep (*Ovis aries*), goats (*Capra hircus*) and cows (*Bos taurus*) are used in diseases affecting domestic animals. The objective of this study was to evaluate the antibacterial activity of the fixed oils from these ruminants in isolation and in association with antibiotics. *Ovis aries* (OFOA), *Capra hircus* (OFCH) and *Bos taurus* (OFBT) fixed oils were extracted using a Soxhlet apparatus with hexane as the solvent. Through the use of gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) the methyl esters from the ruminants' fixed oils were obtained and the fatty acids present in these oils were indirectly determined. The OFOA, OFCH and OFBT antibacterial and antibiotic modifying activities against standard and multi-resistant bacterial strains were carried out using the broth microdilution test. The fixed oils from these species did not present antibacterial activity when tested in isolation, obtaining Minimal Inhibitory Concentration (MICs) values $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$. However, when associated with antibiotics, OFBT and OFCH showed a synergistic activity for the Amicacin, Amoxicillin, Norfloxacin and Oxytetracycline antibiotics. The OFOA promoted a synergistic action for the same antibiotics with the exception of Norfloxacin.

Key-words: ethnoveterinary, ethnozoology, fatty acids, antibacterial activity

1. Introduction

Studies have reported that there has been an increase in bacterial resistance to antibiotics are administered for the prevention and treatment of diseases affecting domestic animals (Costa et al., 2006; Poeta and Rodrigues, 2008; Maia et al., 2009; Arias and Carrilho, 2012). Therefore, bacterial resistance advancement is a source of concern for veterinary medicine, where the inappropriate and abusive use of antimicrobial drugs is considered to be a

major cause for this emergence and resistant bacterial selection (Arias and Carrilho, 2012). This practice is associated with antibiotic residues being present in foods with animal origin and the selection of resistant bacteria, which poses serious risks for domestic species and humans since many antimicrobial classes are prescribed to fight diseases affecting humans and other species, thus leading to therapeutic failure (Mota et al., 2005; Costa et al., 2006). Furthermore, this occurs because of the transfer of resistant bacteria through the food chain (Arias and Carrilho, 2012). Another important factor is that new drug discoveries require time and large investments in order to be developed, while the time required for resistant bacteria to emergence is lower (Kohl et al., 2016).

Staphylococci are bacteria which colonize the skin and mucous membranes of several mammals (Otto, 2009) and present bacterial resistance reports in domestic animals (Wesse and DuiJkeren, 2010; Pereyra et al., 2017; Kohl et al., 2016) as well as in humans (Prakoso et al., 2018). A good example for domestic animals is the concern associated with *Staphylococcus aureus* resistance in cow mastitis (Pereyra et al., 2017). *Staphylococcus epidermidis* is another example of potential pathogenic staphylococci, where resistance reports for bacterium in healthy or unhealthy domestic animals already exist (Basso et al., 2009). Moreover, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis*, which have been causing concerns for public health, can be cited where bacterial resistance has already been reported in animals (O'Hara et al., 2000; Oliveira et al., 2005; Horn et al., 2015), and which according to Paterson (2012), are involved in a large amount of food poisonings occurring in the human species.

Alternatives for new drug discoveries are being developed and one of them occurs through an ethno-driven method. This method investigates the possible pharmacological activities of natural products taking into account the use of these products in traditional communities (Albuquerque and Hanazaki, 2006). Products derived from animals are used by

various human communities to treat diseases affecting their domestic animals and are considered an important source of study for the development of new drugs (Barbosa et al., 2007; Oliveira et al., 2011; Souto et al., 2011; Souto et al., 2012). The biological prospection of natural products described in ethnoveterinary surveys already present interesting results. The study by Monteiro et al. (2011), for example, identified an antiparasitic activity of *Jatropha curcas* L. seeds against *Haemonchus contortus*. Another example is the recent study by Dias et al. (2018), which evidenced the antibiotic modulatory activity of the chicken (*Gallus gallus domesticus*) and turkey (*Meleagris gallopavo*) body fat when associated with antibiotics.

In the northeast of Brazil, ethnoveterinary surveys associated with the use of zotherapeutics (animals considered for medicinal use in traditional medical system) have highlighted the use of ruminant body fat (Barbosa et al., 2007; Souto et al., 2011; Souto et al., 2012). The body fat from sheep (*Ovis aries*) (castrated males only) is used in cattle gangrene coryza and polyarthritis as well as for nodules present on the skin of several domestic animal species. On the other hand, goat (*Capra hircus*) and cow (*Bos taurus*) fat are used for mastitis, sore throats, wounds and nodules present on the skin (Souto et al., 2011; Souto et al., 2012).

Although studies seeking to evaluate the antimicrobial and modulatory action of fats from wild animal species against bacteria can be found (Ferreira et al., 2011; Dias et al., 2013), these same activities performed with the body fat from domestic species are scarce (Dias et al., 2018). The scarcity of ethnoveterinary studies aimed at the prospection of new substances which may be used to treat domestic animal diseases contrasts with the livestock problem, where a lack of regular access to medicines is found, thus harming the productivity of small and medium-sized ranchers (eg, food, transport, clothing) (McGaw et al., 2007). In addition, a recent study taking place in public markets in the Northeast of Brazil found that in some of these sites the informants mentioned the use of wild animals can be replaced by

domestic animals for the treatment of certain diseases (Ferreira et al., 2016). Therefore, the validation of the pharmacological activities of domestic animals considered as zoonotherapeutic may contribute to stimulate the use of natural products derived from domestic animals which may replace the use of wild animals.

According to the aforementioned premises, the objective of this study was to verify if the *Ovis aries*, *Capra hircus* and *Bos taurus* fixed oils have antibacterial and modulatory activity against bacteria of veterinary interest.

2. Materials and methods

2.1. Collection and zoological material preparation

For this study, the body fat from 4 female and 4 adult males with undefined race were extracted from *Capra hircus* and *Bos taurus*. For *Ovis aries*, the body fat from 8 castrated male goats with undefined race were extracted. For this last species, the choice of only using castrated males takes into account ethnoveterinary citations using only castrated males (Souto et al., 2011; Souto et al., 2012). The fat from each species was mixed and ground before fixed oil extraction. Adipose tissue was donated by the Matadouro Municipal de Barbalha, located at Rua P-25, s/n, Malvinas, Barbalha-Ceará (Brasil). This study was approved by the Commission of Experimentation and Use of Animals of the Regional University of Cariri (CEUA – URCA), under protocol number: 0300/2015.1.

A test solution from each fixed ruminant oil was solubilized in 1 mL of dimethyl sulfoxide (DMSO-Merk, Darmstadt, Germany), thus yielding an initial concentration of 10 mg/ml. Each test solution was then microdiluted using sterile distilled water up to a concentration of 1024 µg/mL, reducing the concentration of DMSO to less than 10%, thus preventing it from causing toxic effects (Matias et al, 2010). OFOA, OFCH and OFBT

extraction, as well as fatty acid determinations, were performed according to Dias et al. (2018).

2.2. GC-MS

Analyses were conducted by combined gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) on an Agilent 5975C series MSDTM mass spectrometer coupled with an Agilent 7890ATM gas chromatograph (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), equipped with a non-polar HP-5 ms column (Agilent J&W; 30m x 0,25mm d.i. X 0,25µm film thickness). For each sample, 1µL was injected in split mode (20:1) with the injector temperature set to 250 °C. GC oven temperature was set 40 °C for 2 min, then increased at a rate of 4 °C/min to 230 °C, then held steady for 5 min. Helium (HE) carrier gas flow maintained at a constant pressure of 7.0 psi. MS Source and quadrupole temperatures were set at 230 °C and 150 °C, respectively. Mass spectra were taken at 70 eV (in EI mode) with a scanning speed of 1.0 scan⁻⁵ from m/z 35-350.

Compounds were identified by comparing their mass spectra and linear retention indices (LRI, determined for the individual components of the essential oil by co-injection of a sample with a mixture of C₈-C₃₀ linear hydrocarbons under the conditions described above, and subsequent application of the Van den Dool and Kratz equation) with those of authentic reference samples available from commercial mass spectral libraries (MassFinder 4, NIST11, and Wiley RegistryTM 9th Edition), integrated to the software Agilent MSD Productivity ChemStation (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). A standard fatty acid methyl esters mixture (RM18920 SUPELCO, F.A.M.E. Mix C8-C22, Supelco Inc., PA, USA) was used to identify fatty acid methyl esters and hydrocarbons were identified using standard of C₈-C₂₀ linear hydrocarbons mixture (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brazil).

Quantitative analysis of esterified oil and non-esterified oil were performed in a gas chromatography (Thermo TRACE ULTRA, FID detector) equipped with a non-polar HP-5 column (Agilent J&W; 30m x 0,25mm d.i. X 0,25µm film thickness) using the same conditions of GC-MS analysis. The oil components were quantified by normalization of peak areas of fatty acid methyl esters in relation to the combined area of all peaks.

2.3. Bacterial strains

Gram-positive and Gram-negative bacteria were used in the minimum inhibitory concentration (MIC) and drug modulatory tests. The *Staphylococcus aureus* (SA10), *Staphylococcus epidermidis* (SEMR01), *Pseudomonas aeruginosa* (PA24), *Escherichia coli* (EC06) and *Proteus mirabilis* (PM01) clinical isolates as well as the standard *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (SEATCC) strain were selected. Strain selection took into account antibiotic resistance reports (see introduction). The strains were maintained in Heart Infusion Agar (HIA, Difco) slant media. Prior to assays, the cells were cultured for 24 hours at 37 °C in Brain Heart Infusion (BHI, Difco). The *Pseudomonas aeruginosa* (PA24), *Escherichia coli* (EC06) and *Staphylococcus aureus* (SA10) bacteria came from the Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular da Universidade Regional do Cariri, LMBM-URCA, while *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus epidermidis* (MR01) and *Proteus mirabilis* (PM01) were gifted by the Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal do Ceará (LB – UFC). The resistance profile of the selected strains are described in Dias et al. (2018).

2.4. Antibiotics

Amikacin (Sigma Co., St. Louis, USA), Amoxicillin (União Química Farmacêutica Nacional S/A., Brazil), Oxitetracycline/LA (Zoetis Manufacturing & Research Spain, SL) and Norfloxacin (Sigma Co., St. Louis, USA) were used for the Minimum Inhibitory

Concentration (MIC) and drug modulation tests. The antibiotics selected for these tests are cited in veterinary medicine studies as having bacterial resistance (Arias and Carrilho 2012; Dias et al., 2018). All of these components were dissolved in distilled sterile water prior to use.

2.5. Minimum inhibitory concentration and drug action modulation

The MIC and drug action modulation tests were performed according to Dias et al. (2018).

2.6. Statistical analysis

Statistical significance was assessed using a two-way ANOVA (Analysis of Variance) followed by Bonferroni's post hoc test (where $p < 0.05$ and $p < 0.0001$ are considered significant and $p > 0.05$ is not significant) using the software Graph Pad Prism 6.0.

3. Results

Fixed oil GC/MS evidenced the presence of palmitic acid, linoleic acid and stearic acid in the OFBT, OFOA and OFCH composition. However, only OFOA and OFCH presented heptadecanoic acid in their composition. Saturated and unsaturated fatty acids were present in all three oil types, however, these presented discrete variations in the percentage of each of the identified fatty acids (see table 1).

Following Resazurin addition, the OFBT, OFCH and OFOA MIC values obtained were $\geq 1024 \mu\text{g/ml}$. These results suggest the fixed oils from the 3 ruminant species were unable to inhibit bacterial activity of the analyzed strains when used in isolation.

The association of the ruminant fixed oils (OFCH, OFBT and OFOA) at subinhibitory concentrations (MIC/8) with antibiotics (shown in Figures 1, 2, 3, 4, 5 and 6) showed

synergistic effects. OFBT in combination with Amikacin showed synergism for the EC06, PM 01, SA 10, SE ATCC and SE 01 strains. While when in association with Amoxicillin it presented synergism for SE 01. When associated with Oxytetracycline, OFBT demonstrated synergism for PM 01 and even demonstrated synergism for SA 10 when associated with Norfloxacin. The OFCH when in association with Amikacin presented synergism for SE 01, SA 10 and PM 01. When in association with Oxytetracycline, synergism for the strains EC 06 and PM 01 occurred. Associating the OFCH with Norfloxacin the synergism was evidenced for SE 01. The OFOA when associated with Amicacina showed synergism for the strains EC 06, SA 10 and SE 01. Also when associated with Oxytetracycline against EC 06 and PM 01; and when associated with Amoxicillin was synergistic to SE 01.

Antagonistic effects were also observed (Figures 1, 2, 3, 4, 5 and 6). The OFBT was antagonistic against the EC 06, SE ATCC and SE 01 strains when associated with Norfloxacin. There were also antagonisms in the association of this oil with Amikacin and Amoxicillin for PA 24. The OFCH presented antagonism for EC 06, PM 01, SA 10 and SE ATCC when associated with Norfloxacin. Furthermore, an antagonism was observed against PA 24 and PM 01 strains when in combination with Amoxicillin, while when in association with Amikacin an antagonistic effect was observed against PA 24. In the OFOA an antagonism against EC 06, SA 10, SE ATCC and SE 01 was seen in the association with Norfloxacin. Moreover, antagonism occurred for PA 24 and PM 01 strains in the association with Amikacin.

4. Discussion

The data presented in Table 1 demonstrate the fatty acids identified in the OFCH and OFOA GC-MS were the same. For the OFBT the same fatty acids were identified, with the exception of heptadecanoic acid. The ratio of saturated to unsaturated fatty acids in the three

oils was higher than that of saturated fatty acids. Ruminant adipose tissue is considered as rich in saturated and unsaturated fatty acids (Sinclair et al., 1982; Zapata et al., 2001). Unsaturated fatty acids such as linolenic acid are considered essential for mammals, as they are necessary for the synthesis of other fatty acid types and need to be obtained through the animal's diet (Favacho, 2009). In other studies which analyzed the antibacterial and modifying activity of wild animals' fats, which are considered to be zooterapeutic, the composition of unsaturated fatty acids presented a greater variety (Cabral et al 2013., Dias et al 2013., Sales et al., 2014). However, unsaturated fatty acids are acquired through the diet and a great quantity of the ingested unsaturated fatty acids are hydrogenated in the rumen, this leads to a reduced unsaturated fatty acid presence in ruminant tissues (Wood et al. 1999; Zapata et al., 2001).

Although the OFBT, OFOA and OFCH did not demonstrate clinically relevant activity when used in isolation against the strains in this study, the results from the antibiotic activity modification tests presented a synergistic action for the fixed oils from the three species analyzed in this study. It is known that fatty acids are capable of inhibiting fungal and bacterial activity (Nobre et al, 2002; Agoramoorthy et al., 2007, Dias et al., 2013). Previous studies have argued that several mechanisms may be involved in the fixed oil's bacterial growth inhibition process (Saraiva et al., 2011; Dias et al., 2018). This bacterial activity inhibitory potential may be partly attributed to the inhibitory nature of some constituents in the fixed oils. These components may establish a greater interaction with the bacterial cell membrane lipid bilayer, affecting the respiratory chain and energy production as well as allowing the microorganismal cells to become more permeable to antibiotics. Various constituents present in the fixed oils can make the cell membranes more permeable, thus allowing a greater quantity of antibiotics to be introduced into bacterial cells. Enzymatic action may also be considered as a potential mechanism of action.

The aforementioned mechanisms of action may be achieved through the association of antimicrobial drugs with fixed oils at a subinhibitory concentration inserted directly into the culture medium (Saraiva et al., 2011; Dias et al., 2018). Moreover, different fatty acids and the percentages they present in relation to other fatty acids may influence a greater or lesser antibacterial activity over specific strains (Huang et al., 2010). Therefore, the discrete quantity variations of each of the fatty acids identified may have influenced the synergism variations that occurred in each of the strains.

Antagonistic effects may occur when fixed oils are associated with antibiotics. In these studies, an antagonism is attributed to the occurrence of a mutual chelation (Ferreira et al., 2011; Dias et al., 2018). A similar effect can be attributed to the antagonistic cases observed in this study using the fixed oils from the species here analyzed.

5. Conclusion

Our data indicate the OFCH, OFOA and OFBT do not possess antibacterial activity, from the clinical point of view, when tested in isolation against the strains here analyzed. However, when used at a subinhibitory concentration (MIC/8) in combination with antibiotics, the OFBT and OFCH showed a synergistic action for the Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin and Oxytetracycline antibiotics; and the OFOA showed a synergistic activity for Amikacin, Amoxicillin and Oxytetracycline.

The present study evaluated the effects of the OFOA, OFCH and OFBT *in vitro*, therefore, the development of additional *in vitro* and *in vivo* studies aiming to demonstrate the more detailed mechanisms by which fatty acids present in the fixed oils from ruminants modify the action of antibiotics is encouraged.

Conflicts of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Cearense Foundation for Scientific and Technological Development Support (Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP) for the Diógenes de Queiroz Dias doctoral scholarship and the National Research Council (Conselho nacional de pesquisa – CNPq) for the research productivity subsidy of Waltécio de Oliveira Almeida, process: 302429/2015-8 as well as Débora Castelo Branco de Souza Colares Maia from the LB-UFC for gifting the *S. epidermidis* and *Proteus mirabilis* strains.

References

- Albuquerque, U.P., Hanazaki, N., 2006. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidade e perspectivas. *Rev. Bras. de Farmacogn.* 16, 678-689.
- Arias, M.V.B., Carrilho, C.M.D., 2012. Resistencia antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação? *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, 33 (2), 775-790.
- Barboza, R.R.D., Souto, W.M.S., Mourão, J.S., 2007. The use of zoonotherapeutics in folk veterinary in the district of cubati, Paraíba State, Brazil, *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3, 2.
- Basso, P.C., Raiser, A.G., Brun, M.V., Santos, L.R., Muller. D.C.M., Trindade, A.B, 2009. Identificação bacteriana e sensibilidade antimicrobiana do fluido de lavagem traqueobrônquica de cães sadios e doentes. *Ciênc. anim. bras*, 10 (3), 947-954.

- Costa, M.M., Silva, M.S., Spricigo, D.A., Witt, M.N., Marchioro, S.B., Kolling, L., Vargas, A.P.C., 2006. Característica epidemiológica, molecular e perfil de resistência aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isolados de criatórios suínos do Sul do Brasil. *Pesqui. Vet. Bras.* 26 (1), 5-8.
- Cunha, M.L.R.S., Sinzato, L.K., Silveira, L.V.A., 2004. Comparison of methods for the identification of coagulase-negative staphylococci. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 99 (8), 855-860.
- Dias, D.Q., Cabral, M.E.S., Sales, D.L., Oliveira, O.P., Araujo Filho, J.A., Teles, D.L., Sousa, J.G.G., Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M., Kerntopf, M.R., Alves, R.R.N., Almeida, W.O., Chemical composition and validation of the ethnopharmacological reported antimicrobial activity of the body fat of *Phrynops geoffroanus* used in traditional medicine, *Evid. base Compl. Alternative Med.* 2013 (2013) 1–4.
- Dias, D.Q., Sales, D.L., Andrade, J.C., Silva, A.R.P., Tintino, S.R., Oliveira-Tintino, C.D.M., Delmondes, G.A., Rocha, M.F.G., Costa, J.G.M., Alves, R.R.N., Ferreira, F.S., Coutinho, H.D.M., Almeida, W.O., 2018. Body fat modulated activity of *Gallus gallus domesticus* Linnaeus (1758) and *Meleagris gallopavo* Linnaeus (1758) in association with antibiotics against bacteria of veterinary interest. *Microb. Pathog.* 124, 163-169.
- Favacho, H.A.S., 2009. Caracterização fitoquímica e avaliação da atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do óleo fixo de *Euterpe oleracea* mart. Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Pará, Brasil.
- Ferreira, F.S., Silva, N.L.G., Matias, E.F.F., Brito, S.V., Oliveira, F.G., Costa, J.G.M., Coutinho, H.D.M., Almeida, W.O., Alves, R.R.N., 2011. Potentiation of aminoglycoside antibiotic activity using the body fat from the snake *Boa constrictor*, *Rev. bras. farmacogn*, 21 (3), 503-509.

- Ferreira, F.S., Brito, S.V., Almeida, W.O., Alves, R.R.N., 2016. Conservation of animals traded for medicinal purposes in Brazil: Can products derived from plants or domestic animals replace products of wild animals? *Reg Environ Change*, 16, 543-551.
- Horn, R.V., Cardoso, W.M., Lopes, E.S., Teixeira, R.S.C., Albuquerque, A.H., Rocha-e-Silva, R.C., Machado, D.N., Bezerra, W.G.A., 2015. Identification and antimicrobial resistance of members from Enterobacteriaceae family isolated from canaries (*Serinus canaria*). *Pesqui. Vet. Bras.* 35 (6), 552-556.
- Huang, C.B., George, B., Ebersole, J.L., 2010. Antimicrobial activity of n-6, n-7, n-9, fatty acids and their esters for oral microorganisms. *Arch Oral Biol*, 55, 555-560.
- Kohl, T., Pontarolo, G.H., Pedrassani, D., 2016. Resistência antibacteriana de bactérias isoladas de amostras de animais atendidos em hospital veterinário. *Saúde e Meio Ambiente: Revista Interdisciplinar*, 5 (2), 115-127.
- Maia, A.A., Cantisani, M.L., Esposto, E.M., Silva, W.C.P., Rodrigues, E.C.P., Rodrigues, D.P., Lázaro, N.S., 2009. Resistência antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* isolado de pescado e de cortes e de miúdos de frango. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 29 (1), 114-119.
- McGaw, L.J., Van der Merwe, D., Eloff, J.N., 2007. In vitro anthelmintic, antibacterial and cytotoxic effects of extracts from plants used in South African ethnoveterinary medicine. *Vet J*, 173, 366-372.
- Mota, R. A., Freitas, M. F. L., Porto, W. J. N., Silva, L. B. G., 2005. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. *Braz. J. Vet. Res. An. Sci.* 42 (6), 465-470.
- Monteiro, M.V.B., Bevilaqua, C.M.L., Moraes, S.L., Machado, L.K.A., Camurça-Vasconcelos, A.L.F., Campello, C.C., Ribeiro, W.L.C., Mesquita, M.A., 2011.

- Anthelmintic activity of *Jatropha curcas* L. seeds on *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 182, 259-263.
- O'hara, C.M., Brenner, F.W., Miller, J.M., 2000. Classification, identification and clinical significance of *Proteus*, *Providencia* and *Morganella*. *Clin. Microbiol. Rev.* 13, 534-546.
- Oliveira, L.C., Medeiros, C.M.O., Silva, I.N.G., Monteiro, A.J., Leite, C.A.L., Carvalho, C.B.M., 2005. Susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de otite externa de cães. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 57 (3), 405-408.
- Oliveira, L.M.B., Bevilaqua, C.M.L., Campello, C.C., Ribeiro, W.L.C., Batista, E.K.F., 2011. Effect of six tropical tanniferous plants extracts on larval exsheathment of *Haemonchus contortus*. *Rev Bras Parasitol Vet* 20, 155-160.
- Otto, M., 2009. *Staphylococcus epidermidis* – the ‘accidental’ Pathogen. *Nat Ver. Microbiol.* 7, 555-567.
- Paterson, D.L., 2012. Infections due to other members of enterobacteriaceae, including management of multidrug-resistant strains. *Goldmans’s Cecil medicine*, 2, 1874-1877.
- Pereyra, E.A.L., Sacco, S.F., Duré, A., Baravalle, C., Renna, M.S., Andreotti, C.S., Monecke, S., Calvino, L.F., Dallard, B.E., 2017. Immune response of *Staphylococcus aureus* strains in a mouse mastitis model is linked to adaptive capacity and genotypic profiles. *Vet microbiol*, v. 204, 64-76.
- Poeta, P., Rodrigues, J., 2008. Detecção da resistência a antibióticos de bactérias isoladas de casos clínicos em animais de companhia. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 6 (2), 506-508.
- Prakoso, Yos Adi., Rini, C.S., Wirjaatmadja, R., 2018. Efficacy of *Aloe vera*, *Ananas comosus* and *Sansevieria masoniana* cream on the skin wound infected with MRSA. *Adv Pharmacol Sci*, v. 2018, 1-7.
- Sales, D.L., Oliveira, O.P., Cabral, M.E.S., Dias, D.Q., Kerntopf, M.R., Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M., Freitas, F.R.D., Ferreira, F.S., Alves, R.R.N., Almeida, W.O., 2015.

Chemical identification and evaluation of the antimicrobial activity of fixed oil extracted from *Rhinella jimi*, *Pharma Biol*, 2014, 1-6.

Saraiva, R.G., Matias, E.F.F., Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M., Souza, H.H.F., Fernandes, C.N., Rocha, I.R.A., Menezes, I.R.A., 2011. Synergistic action between *Caryocar coriaceum* Wittm. Fixed oil with aminoglycosides in vitro, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 967–972.

Sinclair, A.J., Slattery, W.J., O’dea, K., 1982. The analysis of polyunsaturated fatty acids in meat by capillary gas-liquid chromatography. *J Sci Food Agric*, 33, 771-776.

Souto, W.M.S., Mourão, J.S., Barboza, R.R.D., Mendonça, L.E.T., Lucena, F.P., Confessor, M.V.A., Vieira, W.L.S., Montenegro, P.F.G.P., Lopez, L.C.S., Alves, R.R.N., 2011. Medicinal animals used in ethnoveterinary practices of the ‘Cariri Paraibano’ NE Brazil. *J Ethnobiol Etnomed*, 7, 1-20.

Souto, W.M.S., Barboza, R.R.D., Rocha, M.S.P., Alves, R.R.N., Mourão, J.S., 2012. Animal-based medicines used in ethnoveterinary practices in the semi-arid region of Northeastern Brazil, *An Acad Bras Ciênc*, 84 (3), 669-678.

Wesse, J.S., Duijkeren, E.V., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet Microbiol*, 140 (3), 418-429.

Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., 1999. Manipulating meat quality and composition. *Proc Nutr Soc*, 58, 363-370.

Zapata, J.F.F., Nogueira, C.M., Seabra, M.J., Barros, N.N., Borges, A.S., 2001. Composição centesimal e lipídica da carne de ovinos do Nordeste Brasileiro. *Cienc. Rural*, 31 (4), 691-695.

Figures

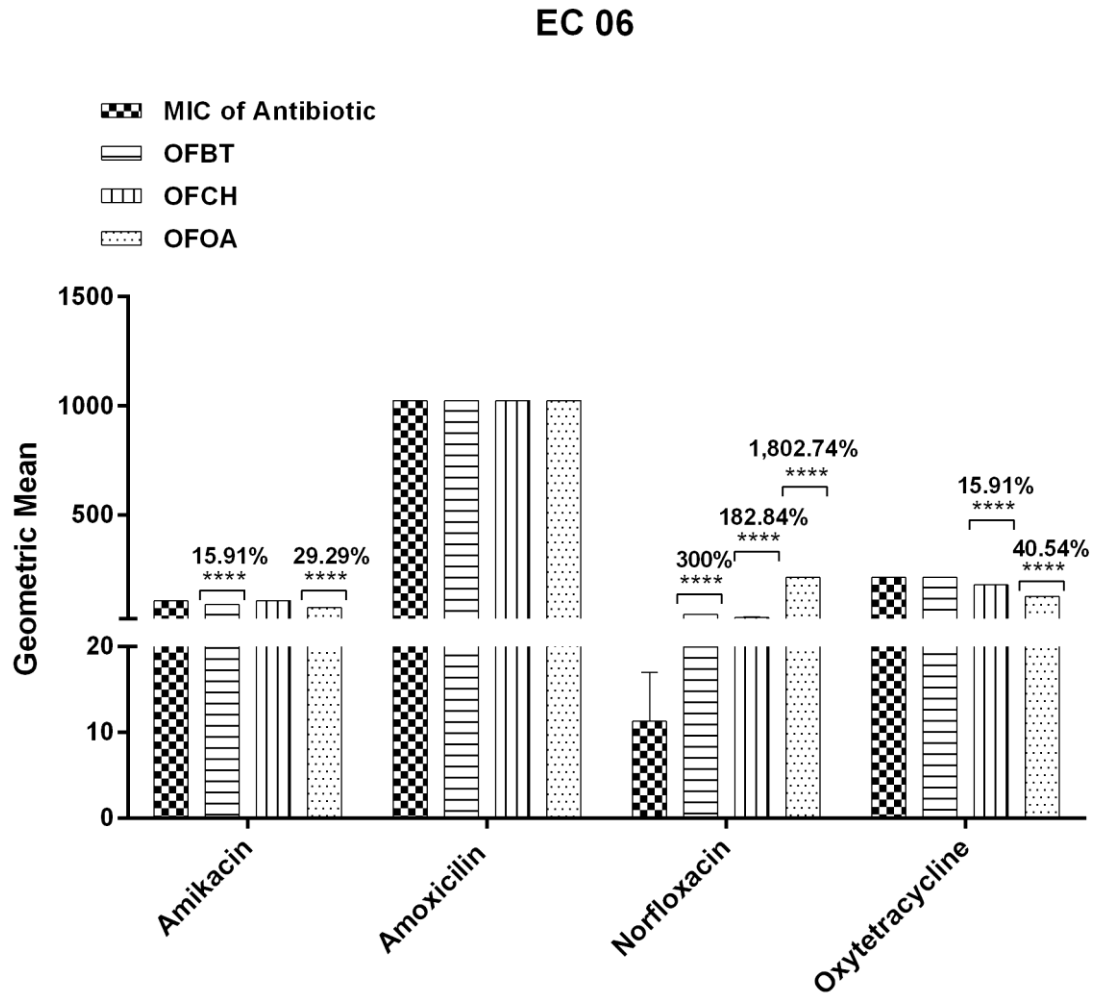


Fig. 1. Modulatory effect of the *Bos taurus* (OFBT), *Capra hircus* (OFCH) and *Ovis aries* (OFOA) fixed oils in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin and Oxytetracycline) against the *Escherichia coli* (EC06) strain.

PA 24

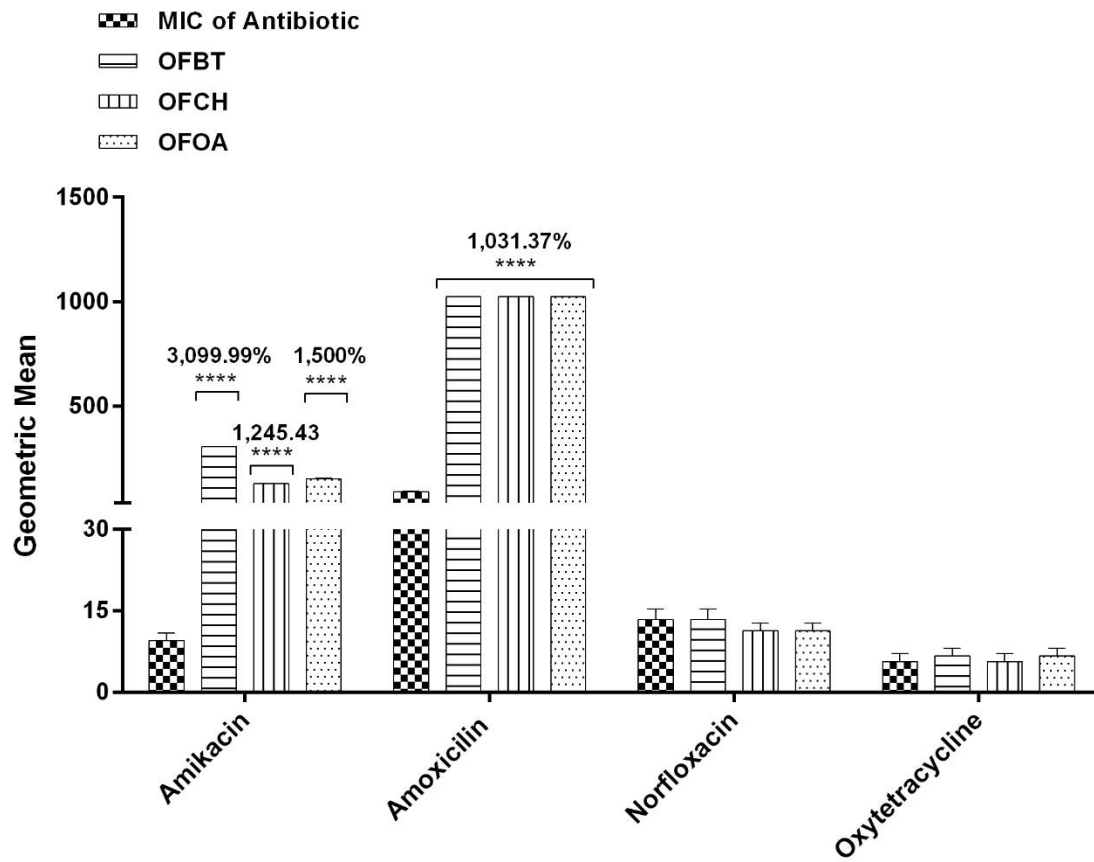


Fig. 2. Modulatory effect of the *Bos taurus* (OFBT), *Capra hircus* (OFCH) and *Ovis aries* (OFOA) fixed oils in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin and Oxytetracycline) against the *Pseudomonas aeruginosa* (PA24) strain.

PM 01

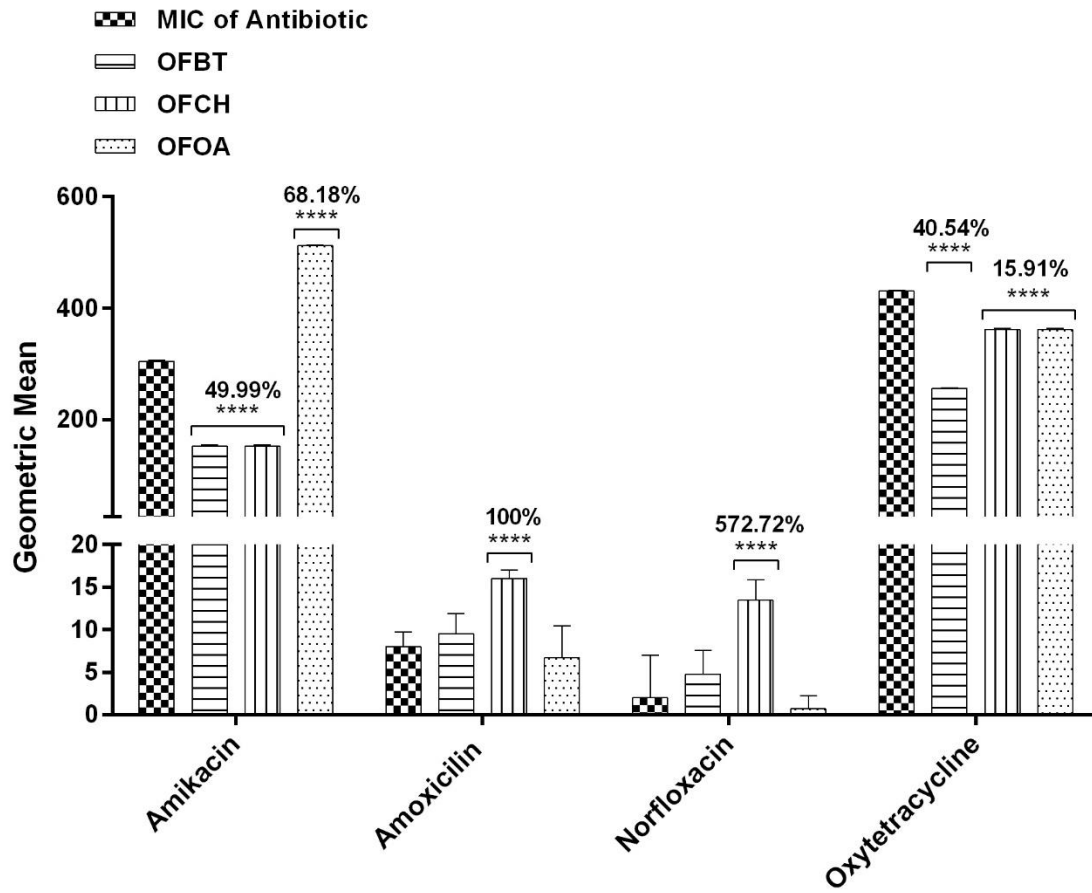


Fig. 3. Modulatory effect of the *Bos taurus* (OFBT), *Capra hircus* (OFCH) and *Ovis aries* (OFOA) fixed oils in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin and Oxytetracycline) against the *Proteus mirabilis* (PM01) strain.

SA 10

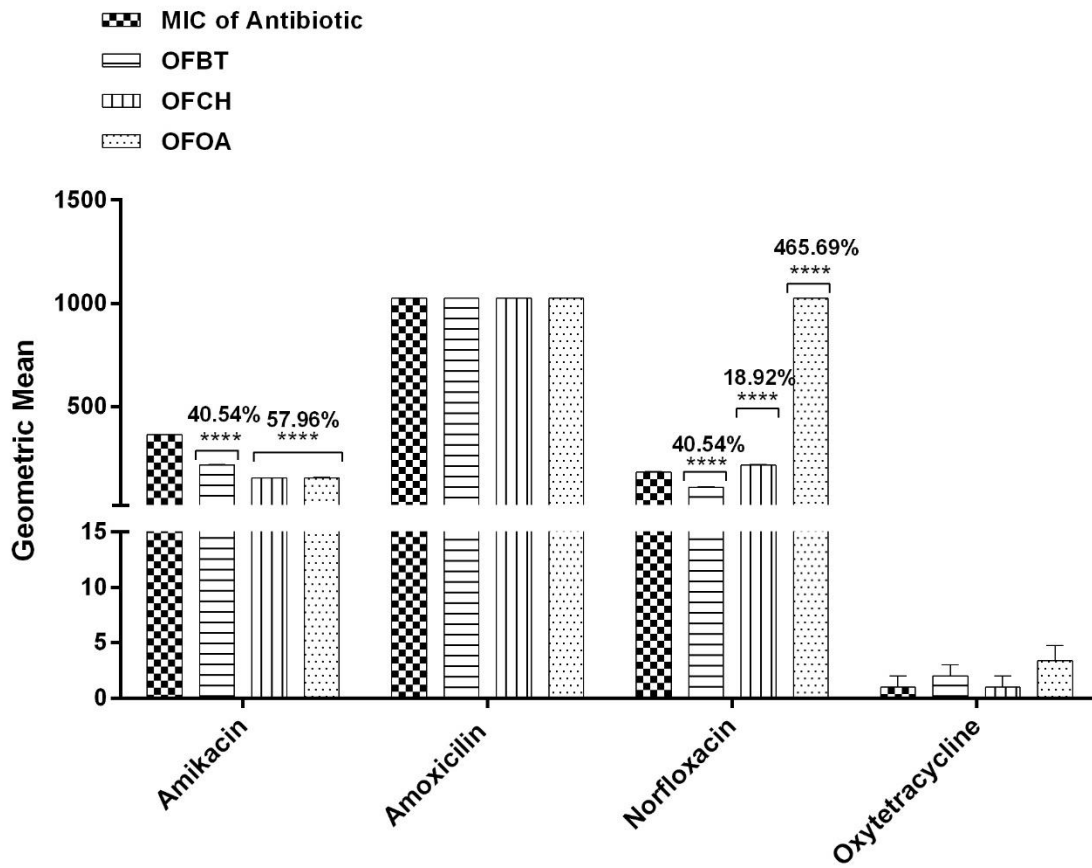


Fig. 4. Modulatory effect of the *Bos taurus* (OFBT), *Capra hircus* (OFCH) and *Ovis aries* (OFOA) fixed oils in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin and Oxytetracycline) against the *Staphylococcus aureus* (SA10) strain.

SE ATCC 12228

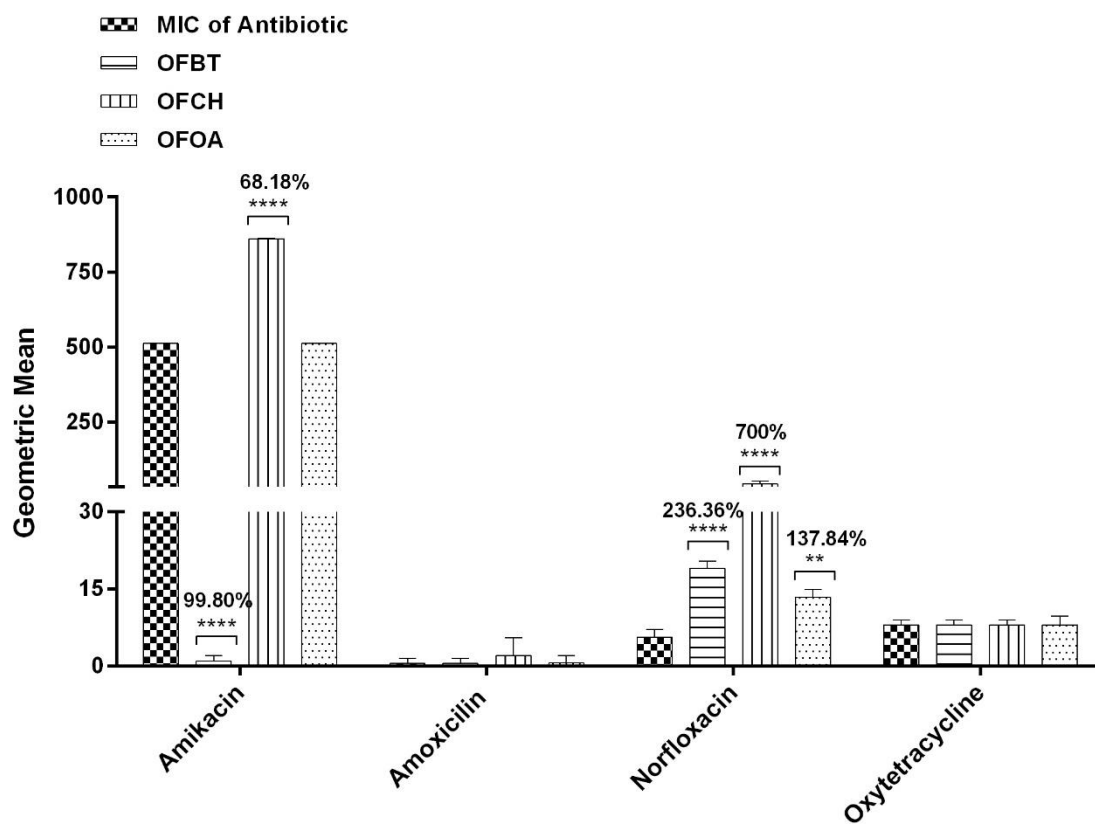


Fig. 5. Modulatory effect of the *Bos taurus* (OFBT), *Capra hircus* (OFCH) and *Ovis aries* (OFOA) fixed oils in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin and Oxytetracycline) against the *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (SEATTC) strain.

SE Resistente

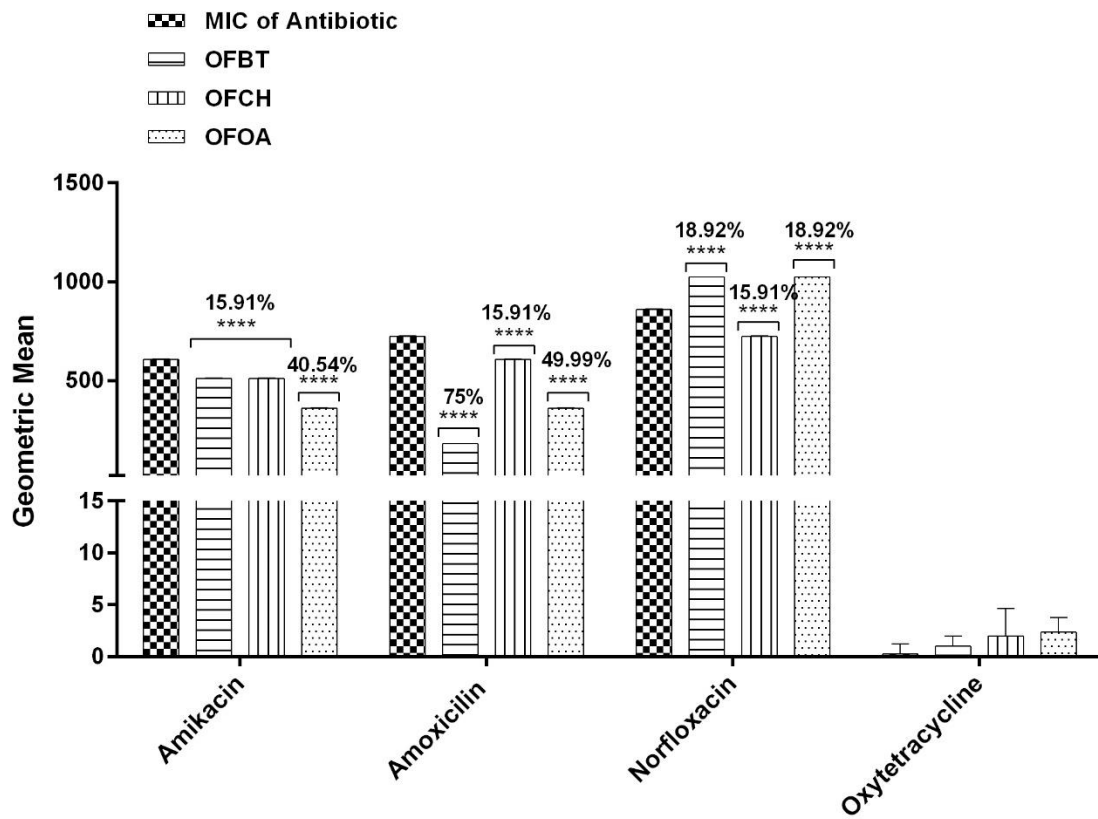


Fig. 6. Modulatory effect of the *Bos taurus* (OFBT), *Capra hircus* (OFCH) and *Ovis aries* (OFOA) fixed oils in combination with antibiotics (Amikacin, Amoxicillin, Norfloxacin and Oxytetracycline) against the multiresistant *Staphylococcus epimermidis* (SEMR01) strain.

Table

Tab. 1. Methyl esters and their equivalent fatty acids from the *Bos taurus* (Oil I), *Capra hircus* (Oil II) and *Ovis aries* (Oil III) fixed oils identified using gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS).

Methyl esters	Equivalent fatty acids	Oil I/%	Oil II/%	Oil III/%
Hexadecanoic acid methyl ester	Palmitic acid	30.41±0.26	28.08±0.41	28.71±0.40
9-octadecenoic acid (z)-methyl ester	Linoleic acid	23.68±0.20	21.19±0.01	20.63±0.07
9-octadecenoic acid methyl ester	Linoleic acid	5.45±0.03	4.03±0.09	4.62±0.56
Octadecanoic acid methyl ester	Stearic acid	40.45±0.25	45.04±0.43	43.96±0.26
Heptadecanoic acid methyl ester	Heptadecanoic acid	-	1.66±0.12	2.07±0.15

CONSIDERAÇÕES FINAIS

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de zoterápicos na medicina veterinária em áreas rurais da região do Cariri cearense, Nordeste do Brasil, é uma prática frequente; sendo notório o vasto conhecimento associado a essa modalidade de uso da fauna. Analisando as hipóteses que nortearam a execução deste trabalho chegamos as seguintes considerações:

As espécies de animais foram indicadas pelos entrevistados para o uso medicinal ou mágico/religioso em etnoveterinária. *Gallus gallus*, *Bos taurus* e *Ovis aries* foram as espécies que apresentaram uma maior frequência de citação e valor de uso. Em adição, novas espécies foram registradas pela primeira vez como tendo uso na medicina veterinária. As categorias de uso medicinal que apresentaram maior fator de consenso dos informantes foram: musculoesquelético, inflamatório e miscelâneas.

Com relação a identificação dos compostos químico e investigação do efeito antibacteriano e/ou ação modificadora de antibióticos; os experimentos conduzidos neste trabalho doutoral mostram que os óleos fixos obtidos das gorduras corporais dos animais domésticos apresentam na sua composição uma predominância de ácidos graxos insaturados e, que dos compostos químicos identificados, o ácido oléico (ácido 9-octadecanóico) foi o único que esteve presente na composição de todos os óleos.

Os ensaios microbiológicos revelaram que os óleos fixos, quando testados isoladamente, não apresentam atividade antibacteriana. No entanto, quando associados aos antibióticos, estes foram eficazes em modificarem a sua ação.

Por fim, foi demonstrado que levantamentos etnoveterinários e estudos de bioprospecção; investigando a eficácia de produtos zoterápicos, contribuem para a criação de inventários de animais usados na medicina veterinária; ajudam a preservar o conhecimento etnoveterinário e servem como uma possível fonte de pesquisa na busca por novos agentes opoterápicos, que podem ser utilizados na terapêutica de enfermidades associadas a infecções bacterianas.

ANEXOS

ANEXO 1 – Comprovante de publicação no periódico “Chemistry and Physics of Lipids”.



Short communication

GC–MS analysis of the fixed oil from *Sus scrofa domesticus* Linneaus (1758) and antimicrobial activity against bacteria with veterinary interest



Diógenes de Queiroz Dias^a, Débora Lima Sales^a, Jacqueline Cosmo Andrade^a, Ana Raquel Pereira da Silva^b, Saulo Relison Tintino^b, Cícera Datiane de Moraes Oliveira-Tintino^b, Gyllyandeson de Araújo Delmondes^b, Marcos Fábio Gadelha Rocha^c, José Galberto Martins da Costa^b, Rômulo Romeu da Nóbrega Alves^d, Felipe Silva Ferreira^e, Henrique Douglas Melo Coutinho^{b,*}, Waltécio de Oliveira Almeida^b

^a Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brazil

^b Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato, CE, Brazil

^c Universidade Estadual do Ceará – UECE, Fortaleza, CE, Brazil

^d Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Campina Grande, PB, Brazil

^e Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Senhor do Bonfim, BA, Brazil

* Corresponding author at: Universidade Regional do Cariri - URCA, CEP: 63105-000, Crato, CE, Brazil.

E-mail address: hdmcoutinho@urca.br (H.D. Melo Coutinho).

<https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2019.01.011>

Received 8 November 2018; Received in revised form 1 January 2019; Accepted 29 January 2019

Available online 30 January 2019

0009-3084/ © 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

ANEXO 2 – Comprovante de publicação no periódico “Microbial Pathogenesis”.

Microbial Pathogenesis 124 (2018) 163–169



Contents lists available at ScienceDirect

Microbial Pathogenesis

journal homepage: www.elsevier.com/locate/micpath

Body fat modulated activity of *Gallus gallus domesticus* Linnaeus (1758) and *Meleagris gallopavo* Linnaeus (1758) in association with antibiotics against bacteria of veterinary interest



Diógenes de Queiroz Dias^{a,*}, Débora Lima Sales^a, Jacqueline Cosmo Andrade^a, Ana Raquel Pereira da Silva^b, Saulo Relison Tintino^b, Cícera Datiane de Moraes Oliveira-Tintino^b, Gyllyandeson de Araújo Delmondes^b, Marcos Fábio Gadelha Rocha^c, José Galberto Martins da Costa^b, Rômulo Romeu da Nóbrega Alves^d, Felipe Silva Ferreira^e, Henrique Douglas Melo Coutinho^b, Waltécio de Oliveira Almeida^b

^a Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brazil

^b Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato, CE, Brazil

^c Universidade Estadual do Ceará – UECE, Fortaleza, CE, Brazil

^d Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Campina Grande, PB, Brazil

^e Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Senhor do Bonfim, BA, Brazil

* Corresponding author.

E-mail address: dqddiogenes@gmail.com (D. de Queiroz Dias).

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.029>

Received 23 March 2018; Received in revised form 15 August 2018; Accepted 18 August 2018

Available online 22 August 2018

0882-4010/ © 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

ANEXO 3 – Comprovante de artigo aceito para publicação no periódico “Journal of Ethnopharmacology”.

----- Forwarded message -----

From: Victor kuete (Journal of Ethnopharmacology) <EwiseSupport@elsevier.com>
Date: Sáb, 8 de dez de 2018 10:28
Subject: Your manuscript JEP_2018_4053_R1 has been accepted
To: <hdmcoutinho@gmail.com>
Cc: <vijjoenam@tut.ac.za>

Ref: JEP_2018_4053_R1

Title: Antibacterial and antibiotic modifying activity evaluation of ruminants' body fat used as zootherapeutics in ethnoveterinary practices in Northeast Brazil
Journal: Journal of Ethnopharmacology

Dear Dr. Coutinho,

I am pleased to inform you that your paper has been accepted for publication. My own comments as well as any reviewer comments are appended to the end of this letter.

Your accepted manuscript will now be transferred to our production department. We will create a proof which you will be asked to check. You can read more about this [here](#). Meanwhile, you will be asked to complete a number of online forms required for publication. If we need additional information from you during the production process, we will contact.

Thank you for submitting your work to Journal of Ethnopharmacology. We hope you consider us again for future submissions.

Kind regards,

Victor kuete
Associate Editor
Journal of Ethnopharmacology

ANEXO 4 – Parecer consubstanciando com aprovação da pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Regional do Cariri.

UNIVERSIDADE REGIONAL DO
CARIRI - URCA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Fauna medicinal em comunidades do Ceará: etnoveterinária e bioprospecção

Pesquisador: Diógenes de Queiroz Dias

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 48231615.9.0000.5055

Instituição Proponente: Universidade Regional do Cariri - URCA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.322.520

Apresentação do Projeto:

Este estudo tem por objetivo analisar a composição e o uso de animais medicinais na medicina veterinária tradicional em comunidades rurais do estado do Ceará, avaliar o contexto sócio-econômico-cultural associados a tais usos, as implicações sobre a utilização sustentável destes recursos, investigar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos fixos da gordura corporal de animais domésticos frente à bactérias e fungos, bem como um possível efeito modulatório destes óleos associados a antibióticos e antifúngicos. Para obtenção de dados será utilizado uma combinação de métodos qualitativos e quantitativos. Dentre os métodos qualitativos, destacam-se entrevistas livres, semi-estruturadas, bola de neve e turnê guiadas. Já os dados quantitativos serão desenvolvidos por meio do cálculo do Valor de Uso (VU) e pelo Fator de Consenso dos Informantes (FCI). Os dados serão analisados por meio de uma abordagem emicista/eticista, na qual os conhecimentos tradicionais serão comparados com aqueles correspondentes e/ou correlacionados na literatura científica.

Objetivo da Pesquisa:

Inventariar animais utilizados na etnoveterinária de comunidades rurais do Ceará;

Registrar enfermidades, doenças e injúrias de animais domésticos tratados com zoterápicos;

Investigar a percepção dos entrevistados quanto às atitudes das populações rurais do Ceará em relação aos

Endereço: Rua Cel. Antônio Luiz, nº 1161

Bairro: Pimenta

CEP: 63.105-000

UF: CE

Município: CRATO

Telefone: (88)3102-1212

Fax: (88)3102-1291

E-mail: cep@urca.br

UNIVERSIDADE REGIONAL DO
CARIRI - URCA



Continuação do Parecer: 1.322.520

impactos e a conservação da fauna

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

haverá risco mínimos.

Os benefícios esperados com o estudo são no sentido de valorização, manutenção do conhecimento tradicional sobre as várias formas de uso da fauna que a partir desses dados possam subsidiar estratégias de uso sustentável, permitindo que as populações detentoras desse conhecimento possam continuar a exercer suas atividades.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa com relevância para a comunidade acadêmica e também para a preservação do conhecimento popular que pode ser utilizado pela ciência.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta os termos obrigatórios

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Apresenta as exigências anteriormente indicadas.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_570080.pdf	07/10/2015 13:19:29		Aceito
Cronograma	Anteprojeto_cronograma.docx	07/10/2015 13:18:41	Diógenes de Queiroz Dias	Aceito
Outros	Questionário etnoveterinário.docx	13/08/2015 13:24:38		Aceito
Outros	termo de fiel depositario.doc	13/08/2015 13:23:53		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - Diógenes.docx	13/08/2015 13:22:24		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	MODELO DE PROJETO PARA APRESENTACAO AO CEP.doc	13/08/2015 13:21:40		Aceito

Endereço: Rua Cel. Antônio Luiz, nº 1161

Bairro: Pimenta

CEP: 63.105-000

UF: CE

Município: CRATO

Telefone: (88)3102-1212

Fax: (88)3102-1291

E-mail: cep@urca.br

UNIVERSIDADE REGIONAL DO
CARIRI - URCA



Continuação do Parecer: 1.322.520

Investigador	MODELO DE PROJETO PARA APRESENTACAO AO CEP.doc	13/08/2015 13:21:40		Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	13/08/2015 13:20:22		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CRATO, 13 de Novembro de 2015


Assinado por:

George Pimentel Fernandes
(Coordenador)

Endereço: Rua Cel. Antônio Luiz, nº 1161

Bairro: Pimenta

CEP: 63.105-000

UF: CE

Município: CRATO

Telefone: (88)3102-1212

Fax: (88)3102-1291

E-mail: cep@urca.br

ANEXO 5 – Parecer com aprovação da pesquisa pela Comissão de Experimentação e Uso de Animais da Universidade Regional do Cariri.



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMISSÃO DE EXPERIMENTAÇÃO E USO DE ANIMAIS
Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta
Fones: (088) 3102.1291 / Fax: (088) 3102.1291
CEP 63105-000 – Crato - CE - Brasil
propg@urca.br - www.urca.br/ceua



DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que o projeto intitulado "Fauna medicinal em comunidades rurais do Ceará: etnoveterinária e bioprospecção" Processo No 0300/2015.1 foi **APROVADO** pela Comissão de experimentação e Uso de Animais – CEUA/URCA. Protocolo.

Marta Regina Kerntopf




Vice-presidente do CEUA/URCA

CRATO-CE

2015

ANEXO 6 – Parecer com a autorização da pesquisa pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO).

The screenshot displays the SISBIO web application interface. At the top, the browser address bar shows the URL: <https://sisbio.sisicmbio.icmbio.gov.br/sisbio/solicitacao/solicitacaoPesquisa>. The header includes the SISBIO logo, navigation links for 'Início' and 'Sistemas', and user information: 'Pesquisador: Diógenes de Queiroz Dias' and 'Perfil: Pesquisador'. A dropdown menu shows 'Pesquisador', 'Solicitação', and 'Relatório de atividades'. The main heading is 'Minhas Solicitações'. Below it, there is a filter instruction: 'Você pode filtrar os resultados da tabela, se necessário', a search box labeled 'Filtrar Resultados', and a 'Nova Solicitação' button. A table lists the user's requests, with one entry visible:

Nº	Título	Tipo da Solicitação	Situação	Ações
63199	FAUNA MEDICINAL EM COMUNIDADES RURAIS DO CEARÁ: ETNOVETERINÁRIA E BIOPROSPECÇÃO	Autorização para atividades com finalidade científica	Documento concedido	  

At the bottom right of the table area, there is a 'Registros por página' dropdown menu set to '10'.

ANEXO 7 – Parecer com a autorização da pesquisa pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) do Ministério do Meio Ambiente (MMA).



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A04C3E3

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético/CTA, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A04C3E3**
 Usuário: **Diógenes de Queiroz Dias**
 CPF/CNPJ: **500.351.003-97**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético/CTA**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Gallus gallus
tecido adiposo

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável

Título da Atividade: **FAUNA MEDICINAL EM COMUNIDADES RURAIS DO CEARÁ:
 ETNOVETERINÁRIA E BIOPROSPECÇÃO**

Equipe

Diógenes de Queiroz Dias **URCA**

Parceiras Nacionais

06.740.864/0001-26 / Universidade Regional do Cariri (URCA)

Data do Cadastro: **11/06/2018 13:48:28**
 Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **20:00** de **20/12/2018**.



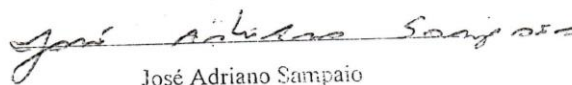
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**

ANEXO 8 – Declaração de doação das gorduras de *Gallus gallus* e *Meleagris gallopavo*.

DECLARAÇÃO

Eu, José Adriano Sampaio, CPF: 001780303-92, proprietário do Abatedouro Adriano do Frango, localizado à Rua F 7, nº 7, Bairro Vila Santa Terezinha, Barbalha – Ceará, declaro que cedemos 5kg de gordura de Frango (*Gallus gallus domesticus* Linnaeus, 1758) e 5kg de gordura de Peru (*Meleagris gallopavo* Linnaeus, 1758) para o projeto de tese de Diógenes de Queiroz Dias, aluno do curso de doutorado em Etnobiologia e Conservação da Natureza, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). O Abate dos animais foram realizados através de eletronarcolese seguida de exsanguinação.

Barbalha, 06 de Agosto de 2015


José Adriano Sampaio

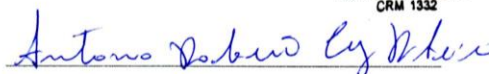
ANEXO 9 – Declaração de doação das gorduras de *Bos taurus*, *Ovies aries*,
Capra hircus e *Sus scrofa*.

DECLARAÇÃO

Eu, Antônio Robério Cruz Ribeiro, Médico Veterinário, CRMV 1332-CE, CPF 21451915349, responsável pelo Abatedouro Municipal de Barbalha – Ceará, declaro para os devidos fins que o abatedouro Municipal da Cidade de Barbalha- Ceará, cedeu 5kg de gordura de origem caprina, 5kg de gordura de origem ovina, 5kg de gordura de origem suína, 5kg de gordura bovina, para o projeto tese de Diógenes de Queiroz Dias (RG:8904001001810 e CPF: 50035100397), aluno do curso de Doutorado em Etnobiologia e Conservação da Natureza da Universidade Rural de Pernambuco (UFRPE).

Barbalha, 04 de Agosto de 2015

Dr. Ant^o Robério C. Ribeiro
MÉDICO VETERINÁRIO
CRM 1332



Antônio Robério Cruz Ribeiro