



ANÁLISE DA CITOTOXICIDADE DE UM EXTRATO NATURAL UTILIZANDO A CEPA TA102 DE SALMONELLA TYPHIMURIUM.

Maciel, Francisco Da Costa¹
Rodrigues, Luanda Flor²
Miranda, Teresa Germano³
Aiub, Claudia Alessandra Fortes⁴

RESUMO

INTRODUÇÃO: A partir de um composto produzido e comercializado (lambedor) no município de Redenção, interior do Ceará, o qual contém em sua composição plantas típicas da região, resolveu desenvolver o presente estudo, haja vista que seu perfil citotóxico e mutagênico ainda não é elucidado, podendo trazer riscos aos usuários e eventos de intoxicação. Convém ainda destacar que os “lambedores” são utilizados como expectorantes e como potencial alternativa para o tratamento da gripe. **OBJETIVO:** Determinar a concentração máxima segurança de células viáveis com um extrato natural (lambedor) através de um ensaio de citotoxicidade subsidiando de informações para proceder com o teste de Ames. **METODOLOGIA:** Trata-se de um estudo de natureza experimental a fim de traçar o perfil de sobrevivência de uma cepa específica de *Salmonella typhimurium* e visualizar qual concentração é viável para proceder com um teste de mutagenicidade (Teste de Ames). **RESULTADOS:** A partir do desenvolvimento dos procedimentos experimentais, nota-se que o presente extrato exerce um efeito citotóxico para cepa TA102 de *Salmonella typhimurium*, de modo que isso é evidenciado a partir da diminuição do número de colônias após a contagem das mesmas. **CONCLUSÃO:** O extrato completo apresentou conformidade mediante o limite estabelecido do número de colônias diminuído em razão do aumento da concentração, sem apresentar toxicidade relevante (sobrevivência > 70%). Logo, esses componentes que estão dentro dessa faixa de concentração, apresentando células viáveis, podendo ser trabalhados no teste de Ames nessas condições sem precisar de um novo padrão de diluição.

Palavras-chave: Citotoxicidade; Plantas Medicinais; *Salmonella typhimurium*.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências da Saúde, Discente,
frankmaciel@aluno.unilab.edu.br¹

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências da Saúde, Discente,
luandaflor95@gmail.com²

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências Exatas e da Natureza, Discente,
teresagermanomiranda@gmail.com³

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências da Saúde, Docente,
aiub.claudia@unilab.edu.br⁴



INTRODUÇÃO

Compreende-se que compostos naturais contribuem significativamente para o desenvolvimento de novos medicamentos pela sua diversidade de substâncias bioativas, as quais corroboram para criação de novos produtos com aplicações terapêuticas. Outrossim, esses compostos naturais assumem um papel importante em estudos de eficácia e segurança, pois são reconhecidos em contextos históricos e culturais como usados de maneira tradicional para tratar diversas doenças. A partir de um composto produzido e comercializado (lambedor) no município de Redenção, interior do Ceará, o qual contém em sua composição plantas típicas da região, resolveu desenvolver o presente estudo, haja vista que seu perfil citotóxico e mutagênico ainda não é elucidado, podendo trazer riscos aos usuários e eventos de intoxicação. Convém destacar que os “lambedores” são utilizados como expectorantes e ainda como potencial alternativa para o tratamento da gripe. Os usuários seguem um esquema posológico aleatório, de modo que há, portanto, uma necessidade de estudos de toxicidade para compreender o perfil de efeitos colaterais e desenvolver medicamentos promissores com qualidade e segurança para os usuários (Silva *et al.*, 2004).

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo de natureza experimental onde as cepas bacterianas são inoculadas para consequente proliferação em meio Luria Bertani (LB) líquido, durante período de 10-14h após realizada a inoculação. As culturas deverão ser realizadas em placas de Petri, dessa vez contendo meio LB sólido, sendo posteriormente incubadas à 37°C em estufa bacteriológica, por um período de 24 horas, para que possa ser visualizadas as colônias formadas. A apresentação de resultados do tipo falso-negativos, é uma das variáveis existentes no teste de Ames, de modo que se relaciona com a toxicidade dos compostos avaliados. Nesse sentido, uma substância utilizada em uma concentração tóxica contribui para que haja uma diminuição do número de células viáveis e consequentemente, a diminuição do número de colônias. Para este teste, uma alíquota da bactéria crescida em caldo LB, sendo adicionada em tubos de ensaio na concentração aproximada de 2×10^8 células/mL, sendo retirada e diluída em NaCl 0,9%, para obter-se uma suspensão celular de aproximadamente 2×10^3 células/mL. A partir da solução final, uma alíquota da amostra foi adicionada a placa de Petri contendo caldo LB sólido. O ensaio em questão é realizado em triplicata, sendo as placas incubadas em uma temperatura de 37°C e acondicionadas em estufa bacteriológica por um período de 24 horas, de modo que ao passar esse tempo, é realizado as contagens das colônias. A toxicidade é avaliada mediante o valor médio do ensaio em triplicata, a partir da contagem das unidades formadoras de colônias de cada uma das concentrações utilizadas no teste, sendo dividido pelo valor médio do controle negativo (NaCl). Dessa forma, é considerado como tóxico, valores que sejam iguais ou menores a 70% de sobrevivência celular (MARON e AMES, 1983; OCED, 1997; AIUB *et al.*, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Mediante a análise das contagens das colônias (quadro 01), percebe-se que há uma diminuição no número de células viáveis da bactéria com o aumento da concentração do extrato. A partir do desenvolvimento dos procedimentos experimentais, nota-se que o presente extrato exerce um efeito citotóxico para cepa TA102 de *Salmonella typhimurium*, de modo que isso é evidenciado a partir da diminuição do número de colônias. Essa diminuição está dentro dos limites preconizados pelos órgãos reguladores, haja vista que é considerada tóxica aquela concentração que possui valores que sejam iguais ou menores a 70% de sobrevivência celular.



Não obstante, os resultados possuem significância evidenciada com desvios padrões inferiores a 10%.

Quadro 01: Resultados da curva de sobrevivência para a cepa TA102 de *Salmonella typhimurium*.

CURVA DE SOBREVIVÊNCIA – TA102 – EXTRATO COMPLETO					
Concentração	Número de Colônias			Média ± DP	% Sobrevivência
Controle [Ø] – NaCl 0,9%	936	939	940	938,3 ± 2,08	100%
0,001 – 1µl amostra - 999µl NaCl 0,9%	892	948	928	929,3 ± 8,32	99,04%
0,01 – 10µl amostra - 990µl NaCl 0,9%	886	924	928	917,3 ± 2,3	97,76%
0,1 – 100µl amostra - 900µl NaCl 0,9%	816	820	866	908 ± 4	96,77%
1 – 1mL extrato puro	876	879	880	878,3 ± 2,08	93,60%

Fonte: Autores, 2024.

CONCLUSÕES

O extrato completo apresentou conformidade mediante o limite estabelecido do número de colônias diminuído em razão do aumento da concentração, sem apresentar toxicidade relevante (sobrevivência > 70%). Logo, esses componentes que estão dentro dessa faixa de concentração, apresentando células viáveis, podendo ser trabalhados no teste de Ames nessas condições sem precisar de um novo padrão de diluição.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo financiamento da pesquisa. Ao Núcleo Multidimensional em Toxicologia pelos ensinamentos que permitiram o desenvolvimento do estudo.

REFERÊNCIAS

- AIUB, C. A. F & FELZENSZWALB, I. Os Princípios do Teste de Ames (Salmonella/ Microsomo) e sua aplicabilidade. SBG, 11-16, 2011.
- MARON, D.M & AMES, B.N. Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test. Mutation Res. 173-215, 1983.
- OECD. 1997. Test Guideline 471. Bacterial Reverse Mutation Test. In: OECD Guideline for Testing of Chemicals. Paris, Organization for Economic Cooperation & Development.
- SILVA ALMEIDA, Jackson Roberto Guedes da; DE LIMA, Julianeli Tolentino; NUNES, Xirley Pereira; AZEVEDO MAIA, Gabriela Lemos de. Plantas medicinais como fonte de produtos biologicamente ativos. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 58-65, 2004.