

PSIDIUM CATTLEIANUM: AVALIAÇÃO CITOTÓXICA, FITOQUÍMICA E ANTIBACTERIANA.

**PEDRO RASSIER DOS SANTOS¹; CAROLINA LAMBRECHT GONÇALVES²;
CRISTINA HALLAL DE FREITAS²; LUIZ FELIPE DAMÉ SCHUCH²; JOSIANE
KUHN RUTZ²; PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE³**

¹*Universidade Federal de Pelotas – rassier1907@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – carolina_lamg@yahoo.com.br*

²*Universidade Federal de Pelotas - crishallal@hotmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas - bitoxu@ig.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – josianekr@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – pattsn@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A mastite bovina é conhecida como a doença de maior ocorrência e impacto no gado leiteiro. Dentre as suas consequências são verificadas a perda na quantidade e qualidade no leite, morte de animais, além dos custos com profissionais e tratamentos (WELLENBERG et al., 2002; DEGRAVES e FETROW, 1993; HILTERTON e BERRY, 2005). Usualmente, são utilizados na desinfecção dos tetos produtos sintéticos halogenados, aldeídos, clorhexidina e amônia quaternária (LADEIRA, 1998).

Devido às infecções no úbere ocasionadas por micro-organismos, os antibióticos são amplamente utilizados para fins terapêuticos, contribuindo para o desenvolvimento da resistência microbiana e de pesquisas que visem à produção de novos compostos biológicos frente a esta enfermidade (NASCIMENTO et al., 2001). Como alternativa aos produtos usuais, as plantas medicinais constituem-se um recurso de fácil acesso, baixo custo e de aplicabilidade medicinal já descrita por diferentes autores (SCHUCH, 2008; SCHIAVON, 2011).

De acordo com SCHUCH (2008), o uso de fitoterápicos na prevenção e tratamento da mastite bovina contempla a metodologia adotada por agricultores e veterinários, os quais realizam a administração de plantas na forma de pomada ou soluções para tratamento tópico ou via oral.

O potencial terapêutico das plantas medicinais deve-se aos seus constituintes químicos, os quais muitas vezes podem estar associados com efeitos secundários ou tóxicos da mesma, o que estimula maiores pesquisas que visem caracterizar os extratos vegetais na tentativa de promover seu uso seguro e eficiente (GONÇALVES, 2014). Deste modo, o objetivo deste estudo é de avaliar a composição química, a atividade antibacteriana e citotóxica de *Psidium cattleianum*, popularmente conhecido como araçá.

2. METODOLOGIA

Extrato Hidroalcoólico: As folhas de *P. cattleianum* foram coletadas no município de Pelotas, RS. Os extratos hidroalcoólicos (EHA) foram preparados utilizando-se uma parte da planta seca para dez partes de álcool de cereais (1:10) a 70 °GL, sendo o solvente evaporado com o emprego de um evaporador rotativo (Farmacopéia Brasileira, 2010).

Citotoxicidade: Em microplacas contendo Meio Essencial Mínimo (MEM) foram preparadas células da linhagem MDBK. O ensaio de vermelho neutro ocorreu após 48 horas de incubação com as diferentes concentrações dos

extratos vegetais, com incubação de 2 horas a 37 °C e 5 % de CO₂, a solução foi removida e as células lavadas com MEM. A placa foi mantida a temperatura ambiente por 10 minutos e a leitura das densidades ópticas realizadas em um espectrofotômetro em comprimento de onda de 540 nm. Foram consideradas concentrações não citotóxicas aquelas em que foi possível uma viabilidade celular maior que 90 % quando comparada com o controle de células (FERNANDES *et al.*, 2013).

Atividade Antimicrobiana: Foi realizada com bactérias isoladas do leite bovino e avaliada através da técnica de Macrodisluição em Agar Müller Hinton (AMH) para a obtenção dos valores referentes a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos EHAs (NCCLS, 2003). A CIM foi considerada como a média logarítmica da menor concentração capaz de inibir totalmente o crescimento bacteriano visualizado em AMH de cada duplicita. As médias obtidas foram provenientes dos isolados de *Staphylococcus* spp (n=9) e *Escherichia coli* (n=9), obtidas de leite bovino, além da cepa padrão de cada grupo bacteriano, *Staphylococcus aureus* (ATCC 12600) e *Escherichia coli* (ATCC 8739).

Fitoquímica: Para a quantificação dos compostos fenólicos totais (CFT) utilizou-se uma curva padrão preparada com ácido gálico, sendo os resultados expressos em mg de ácido gálico 100g⁻¹ de amostra (RUTZ, 2013). O conteúdo de carotenóides totais (CT) nos EHA foi lido em espectrofotômetro a 450nm, sendo os resultados expressos em µg de β-caroteno de amostra (RODRIGUEZ AMAYA; 2001). Para a análise da presença e quantificação de taninos condensados (TC) nas amostras, utilizou-se a metodologia descrita por Rutz (2013). A leitura foi realizada a 500 nm em espectrofotômetro e os resultados expressos em mg de catequina. 100mL⁻¹ de extrato (RUTZ, 2013).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à citotoxicidade, observou-se que as células MDBK toleraram altas concentrações do extrato testado, o qual apresentou baixa toxicidade, com uma viabilidade celular de 100% em sua concentração máxima, de 2,84 mg/mL.

As propriedades medicinais das espécies vegetais estão intimamente relacionadas com a sua fitoquímica, em geral, plantas com altas concentrações de compostos fenólicos, taninos e carotenóides possuem características antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatórias e moluscida (MELLO; SANTOS, 2004). Deste modo, a ação medicinal observada no EHA de araçá pode estar associada ao elevado teor de compostos fenólicos totais observados neste extrato, induzindo uma resposta eficiente frente aos micro-organismos estudados.

Os resultados da análise fitoquímica das folhas de *P. cattleianum* estão descritos na Tabela 1. Foi verificada uma elevada concentração de TC e CFT e baixos valores de CT. Com relação a atividade bactericida, observou-se ação frente aos dois grupos bacterianos, apresentando-se mais eficiente frente aos micro-organismos Gram positivos, com uma CIM que variou de 2,45 à 7,23 mg/mL e de 5,06 à 10,12 mg/mL nos Gram negativos.

Tabela 1: Teor de compostos fenólicos totais (mg GAE.100 mL⁻¹), taninos condensados (mg de catequina / 100 mL⁻¹) e de carotenóides totais (mg de β – caroteno / 100 mL) em 100 mL de EHA de *P. cattleianum*

Análise	mg de GAE / 100 mL de Extrato Hidroalcoolico	mg de catequina / 100mL de extrato	mg de β – caroteno / 100 mL
Concentração do Extrato Hidroalcoolico	686,8498	213,06	3,04

Assim como suas propriedades medicinais, a característica tóxica das espécies vegetais pode ser associada com sua composição química (PEREIRA; CASTRO, 2007), entretanto, *P. cattleianum* aparenta possuir uma baixa citotoxicidade, como anteriormente descrito em estudos conduzidos por Alvarenga et al, (2013), onde os autores revelaram que as células de mamíferos utilizadas não foram danificadas pelo extrato, apresentando uma $DL_{50}>400 \mu\text{g/mL}$.

Estudos que promovam o uso de recursos naturais, como o extrato do araçá, tornam-se relevantes na construção de um sistema de base ecológica na busca de alternativas mais sustentáveis e de menor impacto ao animal, ao ambiente e ao consumidor.

4. CONCLUSÕES

Nas condições desenvolvidas neste estudo, o extrato hidroalcoólico de *P. cattleianum* apresentou atividade antibacteriana e baixa citotoxicidade nos testes realizados, sugerindo seu potencial uso como desinfetante no controle e prevenção da mastite bovina.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, F.Q.; MOTA,B.C.; LEITE, M.N.; FONSECA, J.M.; OLIVEIRA, D.A.; ANDRADE, R.V.; SILVA, M.L.;, ESPERANDIM,V.;BORGES, A, LAURENTIZ, R.S. In vivo analgesic activity, toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Psidium cattleianum* Sabine. **Journal of Ethnopharmacology**, 2013, v.150, n.1, p. 280-284.

BRASIL, **Farmacopeia dos estados Unidos do Brasil**/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 5.ed. São Paulo: Siqueira; 2010. 546 p.

DEGRAVES, F.J.; FETROW, J. **Economics of mastitis and mastitis control. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, 1993, v.9, p. 421-434.

FERNANDES, M.H.V.; SILVA, D.S.; CASTRO, C.C.; CORRÊA, R.A.; VARGAS, G.D.; FISCHER, G.; MOTTA, A.S; HÜBNER, S.O. Avaliação da citotoxicidade do peptídeo antimicrobiano p34. **Science and Animal Health**, 2013, v.1, p. 02-10.

GONÇALVES, C. **Bacteriostasia, citotoxicidade, atividade antioxidante e sinergismo com antibacterianos comerciais de plantas bioativas com indicativo medicinal**. 2014. 92 f. Dissertação (mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão. 2014.

HILLERTON, J.E.; BERRY, E.A. Treating mastitis cow – a tradition or an archaism. *Journal of Applied Microbiology*, 2005, v. 98, p. 1250-1255.

LADEIRA, S.L. Mastite bovina. In: Riet-Correa, F.; Schild, A.L; Méndez, M.C. **Doenças dos ruminantes e equinos**. Pelotas, Ed. Universitária/UFPel. 2001. P.248-261.

NASCIMENTO, G.G.F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M.S.P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. *Ver. Nutr*, 2001, v. 14, p .119-124.

NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard—Sixth Edition. M7-A6, 2003, v.23, p.58.

PEREIRA, A. C.; CASTRO, D. L. Prospecção fitoquímica e potencial citotóxico de *Unxia kubitzkii* H. Rob. (Asteraceae-Heliantheae). **Revista Brasileira de Biociências**, 2007, v. 5, n. 2, p. 231- 233, 2007.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. 2001. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Press, p. 64.

RUTZ, JK. 2013. Caracterização e microencapsulação de suco de pitanga roxa (*Eugenia uniflora* L.). Dissertação (Mestrado) **Universidade Federal de Pelotas**. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. 107 f. 2013.

SCHIAVON, D. B. A. ; SCHUCH, L. F. D. ; OYARZABAL, M. E. B. ; PRESTES. L; ZANI, J. L.; HARTWIG, C. A. Aplicación de plantas medicinales para la antisepsia de pezones de vacas posordeo. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 16, p. 253-259, 2011.

SCHUCH,L.F.D.; Wiest,J.M.; COIMBRA,H.S.; PRESTES, L.S.; TONI, L.; LEMOS, J. S. Cinética da atividade antibacteriana *in vitro* de extratos naturais frente a micro-organismos relacionados à mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, 2008, v. 9, p. 161-169.

WELLENBERG, G.J.; VAN DER POEL, W.H.M; VAN OIRSHOT, J.T. Viral infections and bovine mastitis: a review. **Veterinary Microbiology**, v. 88, p. 27-45.