

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA “*IN VITRO*” DO DECOCTO DE *Achyrocline
satureioides* (Lam.) D.C. (ASTERACEAE) FRENTE À CEPA DE REFERÊNCIA
DE INTERESSE EM MEDICINA VETERINÁRIA – *Staphylococcus aureus* ATCC
25.923**

**Ellusa Assunção de Oliveira
Acadêmica da Faculdade de Medicina Veterinária - UFRGS**

**PORTO ALEGRE - RS
2012/1**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA “*IN VITRO*” DO DECOCTO DE *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. (ASTERACEAE) FRENTE À CEPA DE REFERÊNCIA DE INTERESSE EM MEDICINA VETERINÁRIA – *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923

**Autora: Ellusa Assunção de Oliveira
Trabalho de Conclusão apresentado à
Faculdade de Veterinária como
requisito parcial à obtenção de
Graduação em medicina Veterinária**

**Orientador: Professor Doutor César
Augusto Marchionatti Avancini
Co-orientador: Jane Mari Corrêa Both**

**PORTO ALEGRE - RS
2012/1**

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor César A. M. Avancini, quem me orientou sempre com interesse, paciência e apreço.

À Doutoranda Jane Mari Corrêa Both, com quem passei ótimos momentos de aprendizado e de contagiante alegria.

À Doutoranda Mônica J. Maciel, pelo sincero apoio e amizade.

À equipe do Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva - FAVET, principalmente à Vanessa Dias, pelo apoio técnico e aos bolsistas de Iniciação Científica, que apesar de não serem do mesmo projeto, formam uma equipe forte e unida, disposta a ajudar e a aprender.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

Aos meus pais, que mesmo longe, sempre estiveram presentes, me apoiando e motivando.

A todos minha gratidão e carinho.

*“E conhecer as plantas
Reconhecer em seu poder entidade santa
Poder de cura, nutrição e transcendência
Cultivar a consciência
A humanidade em sua pura essência
Como no projeto original”.*

(Cultivo)

RESUMO

Tanto a demanda por insumos sanitários aplicáveis em modelos sustentáveis de produção animal (orgânico, agroecológico), quanto o alto custo e possíveis resistências de microrganismos frente aos produtos químicos sintéticos (convencionais) motivam a investigação de extrações vegetais que apresentem atividade antimicrobiana. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi de submeter o decocto de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC (Asteraceae) – (“macela”) a teste padrão de avaliação quantitativa da atividade bactericida de desinfetantes e antissépticos, conferindo também, a capacidade do decocto de inativar e/ou reduzir a densidade populacional do microorganismo. O método usado foi o de diluição, pelo teste de suspensão. Para o preparo do decocto, inflorescências da planta na proporção de 5 g : 100 mL, foram submetidas à cocção em fogo brando por 15 minutos, repondo o volume inicial perdido na evaporação. O decocto foi utilizado sobre três diluições logarítmicas do inóculo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (10^7 , 10^6 e 10^5 UFC/mL), em diferentes tempos de contato: 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 e 24 horas. Os resultados confirmam a capacidade antibacteriana do decocto de *A. satureioides* sobre o *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 confirmando com isso, que o conhecimento tradicional é um importante instrumento na prospecção de plantas medicinais com atividade antimicrobiana potencial. No entanto, é necessária a continuidade das pesquisas a fim de viabilizar o uso desta extração vegetal como antimicrobiano de superfície e ambiente.

Palavras-chave: plantas medicinais, *Achyrocline satureioides*, *Staphylococcus aureus* ATCC, agroecologia, antimicrobianos.

ABSTRACT

The demand for health inputs applied to animal models of sustainable production (organic, agroecological), the high cost and the possible resistance of microorganisms compared to the synthetic chemicals (conventional) motivate the investigation of extraction plants that have antimicrobial activity. In this sense, the aim of this study was to submit the decoction of *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC (Asteraceae) – (“chamomile”) to the quantitative evaluation of the bactericidal activity of disinfectants and antiseptics, giving also the ability of the decoction to inactivate and/or reduce the population density of the microorganism. The method used was the dilution, by the suspension test. To prepare the decoction, the plantflowers in the proportion of 5g: 100ml were subjected to cooking on low heat for 15 minutes, replacing the initial volume lost to evaporation. The decoction was used on three logarithmic dilutions of inoculum of *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923 (10^7 , 10^6 e 10^5 UFC/mL), in different contact times: 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 e 24 hours. The results confirm the antibacterial capacity of the decoction of *A. satureioides* on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 confirming that the traditional knowledge is an important tool in the exploration of medicinal plants with potential antimicrobial activity. However, it is necessary to continue the research in order to facilitate the use of this plant extract as antimicrobial of surface and environment.

Key words: medicinal plants, *Achyrocline satureioides*, *Staphylococcus aureus* standard, agroecology, antimicrobianos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica de <i>A. satureioides</i> no Brasil (disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2011/FB108826).....	18
Figura 2. Preparação do decocto.	25
Figura 3. Decocto após filtração.	25
Figura 4. Controles do decocto (C1, C2 e C3) sem crescimento.	25
Figura 5. Tubos Confronto (1mL de água destilada estéril, 8mL de decocto e 1mL de suspensão com microrganismo – CT, CT-1 e CT-2) contendo respectivamente densidades populacionais de 10^7 , 10^6 e 10^5 UFC/mL.	26
Figura 6. Tempo de contato de 15 horas com a linha de diluição de 10^7 UFC/mL (sendo o primeiro, o tubo neutralizante e os três seguintes a diluição com água peptonada).	2

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Redução de densidades populacionais de <i>S. aureus</i> ATCC 25923 submetido a diferentes tempos de contato com o decocto de <i>A. saturoioides</i> D.C. (Asteraceae)	2
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC: *American Type Culture Collection*

BHI: *brain-heart infusion*

BP: *ágar baird-parker*

FAVET: Faculdade de Veterinária

MRSA: *Staphylococcus aureus* metilina resistentes

OMS: Organização Mundial da Saúde

PNPMF : Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

RS: Rio Grande do Sul

UFC: unidade (s) formadora (s) de colônia (s)

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1	Plantas Medicinais.....	12
2.2	Plantas Medicinais e a atividade antimicrobiana.....	13
2.3	Sobre o <i>Staphylococcus aureus</i>.....	14
2.4	Sobre a <i>Achyrocline satureioides</i> (“macela”).....	16
2.5	Sobre o decocto.....	19
2.6	Sobre o grupo de pesquisa.....	20
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.1	Material utilizado.....	22
3.1.1	O microrganismo.....	22
3.1.2	Amostra vegetal.....	22
3.1.3	Preparação dos meios de cultura.....	22
3.2	Preparação do decocto	23
3.3	Preparo do inóculo e suas diluições.....	23
3.4	Método usado para avaliação da atividade antimicrobiana do decocto de <i>Achyrocline satureioides</i>.....	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	28
5	CONCLUSÃO.....	31
6	SUGESTÕES.....	32
	REFERÊNCIAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

A implantação de programas sanitários em ambientes de saúde e de produção animal vem enfrentando limitações. Frente a este cenário, organizações governamentais e privadas, têm apoiado e incentivado a realização de pesquisas que apontem alternativas tanto às formas de prevenção e tratamento de enfermidades com potencial risco a saúde quanto à maneira de produção de alimentos.

Como motivação para o desenvolvimento deste trabalho, tem-se principalmente a necessidade de construção de conhecimento direcionado para os padrões tecnológicos atualmente considerados como sustentáveis.

Assim, na busca por novos insumos sanitários aplicáveis em modelos sustentáveis (orgânico, agroecológico) de saúde e produção animal, o presente trabalho objetiva através do uso do conhecimento tradicional sobre plantas medicinais e de trabalhos realizados anteriormente pelo mesmo grupo de pesquisa, avaliar a atividade antimicrobiana do decocto de uma planta nativa do sul do Brasil, a *Achyrocline satureioides*, popularmente conhecida como “macela”.

Com uma visão de complementariedade e não de substituição, porém, com vistas a reduzir ao mínimo o uso de produtos químicos sintéticos convencionais, a pesquisa e utilização de extratos de plantas medicinais nativas como antimicrobianos ou desinfetantes deve levar em consideração sua viabilidade, ou seja, ter sua atividade cientificamente comprovada, ser ecológica, econômica e socialmente sustentável.

Percebe-se então, que o desenvolvimento de pesquisas nessa área é essencialmente interdisciplinar, envolvendo questões distintas, porém, interligadas. Ou seja, é através da manutenção da biodiversidade, da realização de ações produtivas que impliquem no mínimo de impactos adversos ao meio ambiente, da necessidade de reduzir os custos de produção e de frear a evolução de mecanismos de resistências dos agentes causadores de enfermidades frente aos insumos químicos convencionais, que se poderão atender as necessidades da sociedade atual.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Plantas Mediciniais

O uso de plantas medicinais na arte de curar é uma forma de tratamento de origem muito antiga, relacionada aos primórdios da medicina e fundamentada no acúmulo de informações por sucessivas gerações. Ao longo dos séculos, produtos de origem vegetal constituíram as bases para tratamento de diferentes doenças (BRASIL, 2006).

Também, Piccinini (2008) pontua na história o recente início da era científica. Indicando que a humanidade sobreviveu e descobriu maneira de viver e nutrir-se encontrando soluções para seus males principalmente através das plantas medicinais. Muito provavelmente baseando-se no processo de experimentação e criteriosa observação, fez descobertas e perpetuou o que de fato era resolutivo e útil, sendo esta prática – a da perpetuação de conhecimentos – vital para a sua sobrevivência.

Conforme Fonte (2004), com o desenvolvimento da indústria farmacológica a partir do século XX, a prática e conhecimento milenares, testados e consolidados pela observação *in vivo* dos efeitos medicinais e colaterais, consolidados também pela prática médica, geração após geração, foram deixados de lado, na expectativa de se encontrar, a “solução para todos os males”. Na literatura técnica da área isto foi denominado de “resolução tecnológica de vida”, ou seja, para tudo, na vida, poderia haver uma solução tecnológica. Em outras palavras isto pode ser entendido como “industrialização da saúde”. Muito parecido com a conhecida “revolução verde”, da área da agricultura, ocorrendo inclusive concomitantemente.

Segundo a autora, este novo paradigma embasado no “método científico”, revelou-se de enorme ganho para a humanidade, possibilitando que enfermidades consideradas incuráveis ou de difícil tratamento passassem a ser tratadas com sucesso. Entretanto ressalta que, paralelamente ao sucesso, este novo paradigma se revelou também profundamente equivocado: não conseguindo, como esperado, desenvolver sinteticamente todas as substâncias necessárias para a cura e prevenção de todas as doenças conhecidas, nem tampouco controlar os efeitos adversos dos

medicamentos, o que por sua vez provocou, por exemplo, o surgimento de novas doenças, bactérias resistentes a antibióticos, intoxicações e mortes.

Neste sentido, Organizações internacionais na área de Saúde, vêm desempenhando papel importante em relação à necessidade de valorizar a utilização da medicina tradicional. A Organização Mundial de Saúde (OMS) se destaca, pois desde a década de 70, tem apoiado os países na concepção e implementação de programas, políticas e planos nacionais para a conservação e utilização das plantas medicinais.

De acordo com o relatado por Sambo (2011), calcula-se que mais de dois terços das espécies de plantas do mundo tenham valor medicinal, e de 25 a 50% dos medicamentos modernos são derivados de plantas. Segundo dados disponibilizados pela OMS, perto de 80% da população de países em desenvolvimento depende da medicina tradicional e do uso de plantas medicinais para as suas necessidades em termos de cuidados primários de saúde.

Segundo o relatado por Mota (2008), 25% dos medicamentos prescritos nos países industrializados são originários de plantas e 120 compostos de origem natural, obtidos através de cerca de 90 espécies de plantas, são utilizados na terapia moderna. O autor destaca também, que os produtos naturais estão envolvidos no desenvolvimento de 44% das novas drogas.

A utilização de plantas medicinais, seja na terapêutica (fitoterapia) ou na prevenção e controle de enfermidades, têm seu uso difundido em todo o mundo. Porém, essa ampla utilização sugere, mas não assegura uma relação risco-benefício favorável (BRASIL, 2008). O Brasil possui grande potencial para o desenvolvimento de pesquisas e descoberta de novos medicamentos e insumos aplicáveis em ambiente de saúde e produção, já que conforme Brasil (2006) possui a maior diversidade vegetal do mundo, ampla sociodiversidade, o uso de plantas medicinais vinculado ao conhecimento tradicional e tecnologia suficiente para validar cientificamente este conhecimento.

Com esta intenção, o governo federal tem aprovado programas e financiado projetos que se desenvolvam no sentido de promover o uso sustentável da biodiversidade, à inclusão social, o desenvolvimento industrial e tecnológico da cadeia produtiva e da indústria nacional, além da valorização e preservação do conhecimento tradicional associado das comunidades tradicionais e indígenas. Ou seja, políticas e programas que tenham como prioridade a melhoria na qualidade de vida da população brasileira como um todo. Como exemplos deste cenário, tem-se em 2006, a aprovação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF).

2.2 Plantas Medicinais e a atividade antimicrobiana

Mitscher *et al.* (1987, apud AVANCINI, 2002), relata que o uso de extratos de plantas superiores para a terapia de infecções tem história tão antiga quanto a das próprias doenças infecciosas. Além do que o uso de técnicas modernas em microbiologia demonstram que as plantas superiores frequentemente apresentam um significativo potencial contra fungos e bactérias patogênicas, e que colocar em bases racionais muitos usos folclóricos de plantas favorece o isolamento de produtos naturais com o espectro antimicrobiano comparável aos produtos sintéticos.

Girolometto *et al.* (2009) em seu trabalho sobre a atividade antimicrobiana da *Ilex paraguariensis*, destaca também, outros trabalhos realizados com plantas com indicativo medicinal, condimentar ou alimentar que comprovaram esta mesma atividade, como por exemplo: a atividade bactericida de macela (*Achyrocline satureoides*); plantas com indicativo etnográfico medicinal da Mata Atlântica residual em Porto Alegre, com ênfase à escadinha ou sinapismo (*Hypericum caprifoliatum*); a atividade antimicrobiana do látex da mangabeira (*Hancomia speciosa*) e a avaliação da atividade antibacteriana do extrato aquoso de estragão (*Artemisia dracunculus* var. *inodora*).

Both (2011) discorre sobre a questão da resistência antimicrobiana, relatando que esta é o resultado de uma complexa interação entre agentes antimicrobianos, microrganismos e meio ambiente. E, que a história da evolução vem apontando que

todo o organismo vivo busca sempre mecanismos de adequação às suas novas realidades, e a resistência dos microrganismos aos antimicrobianos é uma condição inevitável. Assim, com o aumento dos mecanismos de resistências, percebe-se a grande necessidade de encontrar novos princípios ativos e principalmente buscar uma mudança nos padrões de pensar os processos produtivos e de saúde. Com esta expectativa, as pesquisas com plantas medicinais têm progredido, possibilitando assim, a ampliação dos recursos tecnológicos também no que se refere ao setor de antimicrobianos e desinfetantes biológicos.

2.3 *Staphylococcus aureus*

Classificado no filo *Firmicutes*, o gênero *Staphylococcus* é de extrema importância na microbiologia médica, sendo que a espécie estafilocócica mais importante e patogênica é o *Staphylococcus aureus*. Os membros desta espécie são cocos gram positivos, anaeróbios facultativos e que possuem habilidade em produzir coagulase (TORTORA *et al.*, 2005).

O *S. aureus*, foi assim denominado pela coloração amarelo ouro de suas colônias, entretanto pode perder esta característica durante os sucessivos subcultivos. Segundo Tortora *et al.* (2005), este pigmento pode conferir-lhe alguma proteção para os efeitos antimicrobianos do sol. É cosmopolita, podendo ser encontrada em ambientes de saúde humana e animal, produção e manipulação de alimentos, é amplamente distribuído na natureza e faz parte da microbiota normal da pele e mucosas de mamíferos e aves, ou seja, não são espécie específicos, coloniza homens e animais e pode ser transmitido entre eles. Pode crescer e sobreviver no trato respiratório superior (fossas nasais) e na pele.

De acordo com Cabrera (2007) a espécie *aureus*, além de sua alta patogenicidade, tem evoluído sua habilidade em desenvolver resistência rapidamente aos antibióticos, estando frequentemente relacionada com infecções hospitalares graves, causadas por amostras multirresistentes (TRABULSI *et al.*, 2004). Em conformidade Souza e Figueiredo (2008, apud BOTH, 2011) relatam que cerca de 70% dos *Staphylococcus aureus* isolados de infecções nosocomiais em hospitais brasileiros são MRSA e sua importância se dá pelo fato de apresentar resistência a

todos os antibióticos beta-lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos) e, frequentemente, a diversas outras classes de antimicrobianos.

A enterotoxina produzida pela bactéria é apontada por Tortora *et al.* (2005) como uma das causas mais comuns de intoxicação alimentar. Cunha Neto *et al.* (2002) indicaram que o *S. aureus* é responsável por aproximadamente 45% das toxinfecções no mundo e trabalhos apontam os manipuladores de alimentos como os maiores responsáveis pela sua transmissão. Assim, havendo no alimento condições favoráveis à multiplicação, em poucas horas certas linhagens produzem uma toxina termoestável que é responsável pelo quadro clínico (RADDI *et al.*, 1988). A toxina forma-se durante a multiplicação bacteriana (acima de 10^6 UFC/mL) no alimento, antes que este seja ingerido. Os sintomas geralmente aparecem entre 4 e 6 horas após ingestão do alimento contaminado.

Os *S. aureus* são rapidamente destruídos pelo calor, mediante a pasteurização ou cocção. A toxina é termoestável podendo permanecer no alimento mesmo após o cozimento, favorecendo a ocorrência de intoxicação (STAMFORD *et al.*, 2006). Porém, de acordo com Lemos (1999), ela é mais resistente ao calor, mas pode ser destruída se em ebulição por 30 minutos.

Sá *et al.* (2004) destaca *S. aureus* como um importante agente causador de mastite. E segundo Ferreira *et al.* (2006), é reconhecido como o patógeno mais frequentemente isolado em casos de mastite subclínica e está relacionado aos microrganismos mais contagiosos. É capaz de causar infecções de longa duração, com tendências a se tornarem crônicas, com baixa taxa de cura e grande perda na produção de leite (ZAFALON *et al.*, 2007).

Amostras de *S. aureus* enterotoxigênicos têm sido isoladas de leite pasteurizado, iogurte caseiro, leite em pó, achocolatados e sorvetes, bem como de outros subprodutos lácteos. A fonte de contaminação pode ser tanto o leite oriundo de vacas com mastite como os manipuladores envolvidos na ordenha (SÁ *et al.*, 2004). Este fato relaciona a ocorrência de mastite no gado leiteiro com o potencial risco de transmissão do patógeno para o homem, apontando-o como representante de um grave problema de saúde pública.

A disseminação do agente durante a ordenha pode estar relacionada ao material de limpeza do úbere, as mãos do ordenhador e/ou a pele do teto. Porém, o mesmo não se desenvolve bem na pele do teto saudável, mas pode colonizar rapidamente o canal, se houver lesões e rachaduras, próximas ao esfíncter do teto.

2.4 Sobre a *Achyrocline satureioides* (“macela”)

Integrante da família Asteraceae, que conforme Hattori (2008) é a maior família de angiospermas, que compreende 25.000 espécies pertencentes a 1.600 gêneros dispostos em 17 tribos e três subfamílias e é representada no Brasil, por aproximadamente 196 gêneros e cerca de 1.900 espécies, está *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C..

Descrita por Lorenzi e Matos (2002) como herbácea perene, ereta ou de ramos decumbentes, muito ramificada, de 60-120 cm de altura. Possui folhas simples, inflorescências axilares e terminais, com capítulos amarelados. Multiplica-se exclusivamente por sementes.

É uma espécie nativa da região sudeste tropical temperada, da América do Sul, mais comumente Brasil, Argentina e Uruguai. Cresce espontaneamente em pastagens e beiras de estradas, campos sujos e limpos e em cerrado ralo. De acordo com Loeuille (2011) - dados disponíveis na versão *online* da Lista de Espécies da Flora do Brasil - os domínios fitogeográficos da *A. satureioides* são Cerrado, Mata Atlântica e Pampa e sua distribuição geográfica no Brasil consiste em: Nordeste (Bahia), Sudeste (Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro) e Sul (Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul).



Figura 1. Distribuição geográfica de *A. satureioides* no Brasil. Fonte: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2011/FB108826>.

Foi encaminhado e aprovado em assembleia, o Projeto de lei Nº 224/2001, que instituiu a “Macela” (*A. satureioides*) como planta medicinal símbolo do RS, sendo considerada a planta mais utilizada na medicina popular do estado (CONY, Fórum pela Vida, 2005).

A *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. (Asteraceae), é popularmente conhecida como macela-do-campo, macelinha, macela-amarela, camomila-nacional, carrapichinho-de-agulha, marcela, losna-do-mato, macela-do-sertão, chá-de-lagoa, conforme a região onde é encontrada, e na língua tupi-guarani é chamada de eloyatei-caia.

Na medicina caseira, o chá de suas flores, folhas ramos secos é usado tratamento de problemas gástricos, epilepsia e cólicas de origem nervosa. Também é empregado como antiinflamatório, antiespasmódico e analgésico para diarreia e disenteria, como sedativa e emenagoga (LORENZI & MATOS, 2002). As inflorescências secas são usadas para o preenchimento de travesseiros, para casos de problemas respiratórios e enxaquecas.

Mota (2008) comenta, citando Castro e Chemale, que a colheita pode ser realizada a partir do segundo ano de desenvolvimento da planta, no início do outono (março/abril) quando os capítulos florais estão maduros. No RS, tem-se por tradição fazer a colheita da Macela na sexta feira Santa, antes do sol nascer.

De acordo com Ikuta e Barros (1996), a *A. satureioides* faz parte do universo de espécies medicinais de intenso uso popular no RS. E, apesar de ter sido caracterizada quanto aos aspectos botânicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos e de controle de qualidade na forma plástica (pomada), sua disponibilidade como matéria prima para fitoterapia é baixa, em razão da forma totalmente extrativa a qual vem sendo explorada. Tanto para a *macela* como para com outras espécies nativas, existe a preocupação com o extrativismo indevido, que pode levar a extinção das espécies. Por esse motivo, há a necessidade de desenvolvimentos técnicos que sejam aliados a manutenção da vegetação nativa.

As autoras preconizam ainda, que para esta questão, o estudo de formas de propagação deve ser uma das etapas iniciais para o estabelecimento de cultivos racionais. E, em conformidade com o tema, Vendruscolo (2004) aponta a correta domesticação e cultivo/manejo das populações naturais, como opções para a obtenção de matéria prima. A qual servirá não só como fonte de recursos terapêuticos, mas também, como recurso econômico (principalmente para agricultores familiares).

Do ponto de vista químico, a *A. satureioides* é a espécie mais estudada dentre as denominações populares de macela. Dentre seus componentes químicos, foram encontrados flavonoides, terpenóides, carotenóides, cumarinas e esteróides, sesquiterpenos e monoterpenos, dibenzofurano (achyrofurano), componentes derivados de fenilpirona, componentes derivados de tiofeno e ácido cafeico, clorogênico e isoclorogênico. Quanto às propriedades biológicas, foram verificadas atividades anti-hiperglicêmica em ratos, citotóxica contra carcinoma hepático humano *in vitro*, mutagênico e genotóxico *in vitro* em *Salmonella* e atividade relaxante da musculatura lisa em porcos da Guiné (SILVA *et al.*, 2007).

Em 2007, o Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, completou 25 anos de pesquisa com a *A. satureioides*. Nesta linha, a o grupo de pesquisa da Faculdade de Farmácia da UFRGS, vem desenvolvendo inúmeros trabalhos que envolvem aspectos fitoquímicos, farmacológicos, biotecnológicos e de tecnologia farmacêutica.

Dentre eles, Zampieron (2010) se refere em sua dissertação, a atividade anti-inflamatória do extrato aquoso da *A. satureioides*, motivo pelo qual é mais utilizada na medicina tradicional. Também a sua atividade como sedativa, antioxidante *in vitro*, e justificando o uso popular para disfunções gastrointestinais demonstrou atividade hepatoprotetora e antiespasmódica. O estudo toxicológico do extrato aquoso não revelou consequências tóxicas, sendo considerado amplamente seguro em se tratando do infuso a 2%. E, conforme citado por Oliveira *et al.* (2001), foram comprovadas farmacologicamente também, as atividades antimicrobiana, tripanossomicida e inseticida e a atividade antiviral.

2.5 Sobre o decocto

Segundo a Farmacopéia (1959), decoctos são preparações resultantes do esgotamento da droga por decocção com água potável, durante determinado tempo. Salvo indicações específica, os decoctos devem ser preparados pelo seguinte processo: 50 gramas da droga vegetal em pó grosso e água potável na quantidade suficiente para 1000 cm³. O preparo é feito introduzindo a droga em um vasilhame apropriado com tampa e adicionando-lhe cerca de 1000 cm³ de água potável. Tampa-se o vasilhame e leva-se á ebulição durante 15 minutos. Deixa-se esfriar a cerca de 40°C, coa-se por expressão, filtra-se o líquido e passa-se água potável fervente sobre o resíduo do filtro até obter um litro de decocto.

Avancini (1995) cita Godward e Vieira quando se refere ao recipiente em que será feita a cocção, mesmo na manipulação popular. Esses autores chamam a atenção para que não sejam utilizados recipientes de alumínio, mas sim vasilhas de porcelana, esmaltadas, de barro ou vidro, para que não haja modificação no produto final.

Falkenberg *et al.* (1999, apud AVANCINI, 2002) indicam que a decocção possui emprego restrito, pois substâncias ativas podem ser alteradas por um aquecimento prolongado. Entretanto, o decocto foi a forma de extração escolhida pelo grupo de pesquisa por ser considerada uma solução estéril (após os 15 minutos de fervura), por seu preparo ser rápido, simples e de baixo custo, sendo assim, considerada acessível a diferentes classes da população.

2.6 Sobre o grupo de pesquisa

O grupo de pesquisa do Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva – FAVET/UFRGS - tem desenvolvido projetos de pesquisa que propõe baseado em etnografia aplicada e a partir da triagem da atividade antimicrobiana desinfetante de plantas medicinais nativas no sul do Brasil, a viabilização dessas extrações para uso como desinfetante ou antisséptico em complementariedade aos produtos sintéticos convencionais, de forma cientificamente assegurada, ecologicamente sustentável, econômica e socialmente viável.

Achyrocline satureioides começou a ser estudada pelo grupo em 2002. Fazendo parte de uma tese de doutorado na qual através de dados etnográficos, foram selecionadas 37 plantas nativas do sul do Brasil para serem experimentadas quanto a possível atividade antimicrobiana.

Com os resultados obtidos na tese de Avancini (2002), demonstrando a atividade antimicrobiana da macela, e por já vir sendo estudada quanto aos seus aspectos químicos, farmacológicos e toxicológicos, é que se escolheu dar continuidade as pesquisas.

Fernandez *et al.* (2003) avaliou o decocto de diferentes amostras de *A. satureioides* (silvestres e cultivada) frente a cepas de referências de *Staphylococcus aureus*, *Salonella cholera-suis*, *Rhodococcus equi*, *S. epidemidis*, *E. faecalis* e *E. faecium*, obtendo resultados de inibição e inativação destas bactérias.

Silva *et al.* (2004) e Gravino *et al.* (2005), realizaram testes semelhantes, que tinham como objetivo verificar a reprodutibilidade da atividade antibacteriana do

decocto de macela, porém com amostras colhidas nos respectivos anos e em outras regiões.

A dissertação de Sperotto (2010) verificou a presença de um marcador fitoquímico, a quercitina, no decocto de *A. satureioides* e avaliou a atividade antibacteriana deste sobre isolados em situações-problema sanitários em saúde e produção animal (isolados em leite de vacas com mastite) sob os tempos de contato uma e 24 horas e em três proporções planta : volume (2,5; 5 e 7,5 gramas : 100 mL).

Em 2010, iniciou-se nova bateria de testes com o decocto da macela, desenvolvidos com metodologia diferenciada dos anteriores. Foi realizado teste piloto, definido por Avancini (2011) como aquele realizado preliminarmente ao desenvolvimento de escala de maior abrangência da pesquisa, e que cumpre o propósito de verificar se o protocolo de execução está corretamente delineado, se o método, os materiais e os utensílios utilizados são adequados para gerar dados de acordo com os objetivos da investigação científica pretendida, tendo como finalidade, confirmar ou corrigir o uso de produtos, processos, procedimentos ou de interpretação dos resultados. O resultando deste estudo foi apresentado através do trabalho de conclusão de curso de Noll (2011).

Como resultados parciais de uma tese ainda em andamento, Both (2011) apresentou, em congresso nacional, resultados positivos quanto a atividade antimicrobiana do decocto de *A. satureioides* frente a *S. aureus* cepa de referencia e isolado metilina resistentes (MRSA),

O presente trabalho contou com o apoio e experiência adquiridas por todos os trabalhos desenvolvidos pelo grupo até então, sendo, portanto, uma continuidade dos mesmos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais utilizados

3.1.1 O microrganismo

Para a realização dos testes foi utilizado cepa de referência *American Type Culture Collection* (ATCC), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, a qual faz parte da bacterioteca do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (Laboratório de Saúde Pública e Zoonoses), da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS. A amostra foi reativada em caldo de infusão cérebro e coração (BHI – *Brain Heart Infusion*) e após 24 horas de crescimento em temperatura controlada 37°C, semeada em placa Baird-Parker e incubada a 37°C por 24 horas.

3.1.2 Amostra Vegetal

As amostras de *Achyrocline satureioides* “macela” provem do Sítio Apiquárius, localizado na cidade de Gramado/RS, onde se produz plantas medicinais dentro dos preceitos agroecológicos. O grupo de pesquisa adquiriu as amostras gradativamente, conforme o uso, durante 2010 e 2011, na Feira Agroecológica de Porto Alegre (que acontece aos sábados no Parque Farroupilha), em embalagens contendo 10 gramas de inflorescências da planta seca (droga vegetal).

Uma amostra foi identificada, cadastrada e incorporada ao Herbário da UFRGS: *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. - ICN nº 164964.

3.1.3 Preparação dos meios de cultura

Os meios de cultura – caldo BHI para obtenção do inóculo inicial; Água peptonada 0,1% para as diluições seriadas; e Ágar Nutriente, em placas de Petry, para quantificação bacteriana – foram preparados conforme indicação do fabricante e autoclavados a 121°C por 15 minutos.

Para obter resultados sobre a ação antibacteriana desta extração vegetal, utilizou-se um meio neutralizante, cuja função é inativar os resíduos da substância desinfetante, após contato com o inóculo ou cultura teste. Este procedimento evita que se confunda uma ação bacteriostática da extração vegetal (que continuaria

agindo) com uma ação bactericida. Para obtenção do meio neutralizante, foi preparado caldo BHI (conforme indicação do fabricante) e adicionado a ele Twin 80 (30 g/L), Lecitina de Soja (3 g/L) e Histidina (1 g/L), homogeneizado e autoclavado a 121°C por 15 minutos.

3.2 Preparação do inóculo e suas diluições

Para preparação do inóculo, foram retiradas 5 colônias características de *S. aureus* ATCC 25.923 de placa Baird-Parker, as quais foram inoculadas em tubo contendo 5 mL de caldo BHI e incubadas em estufa 37°C por 24 horas. A esta suspensão chamou-se de cultura teste (CT). Após crescimento, foi realizada a diluição seriada da CT, transferindo 1mL desta para tubo contendo 9 mL de água peptonada estéril (CT-1), e assim sucessivamente até CT-7. Feitas as diluições, retirou-se 0,1mL de cada tubo, que foram replicados em placas ágar nutriente para verificação da densidade populacional inicial da CT, resultando em uma suspensão aproximadamente de 3×10^8 UFC/mL.

3.3 Preparação do decocto

O decocto foi preparado conforme técnica descrita na Farmacopéia Brasileira (1959), com modificações (Avancini, 2002).

A obtenção do decocto procedeu-se em Erlenmayer (1000mL) tampado com placa de vidro, ambos estéreis, contendo 5 gramas de inflorescências de *A. saturoioides* e 100 mL de água destilada estéril (determinando uma proporção de 5 g : 100 mL). A cocção realizou-se em fogo brando (com bico de Bunsen e manta de amianto) durante 15 minutos, contados a partir do início da fervura. Após resfriamento em temperatura ambiente, o decocto foi filtrado (para realização do processo utilizou-se funil e bastão de vidro e filtro de papel estéreis) e transferido para proveta estéril, verificando-se assim o volume recuperado do mesmo. Entre os testes, o volume recuperado variou entre 55 e 65 ml. Para padronização do experimento e reposição das perdas ocorridas por evaporação, acrescentou-se água destilada estéril reconstituindo o volume inicial de 100mL.

Em todos os testes, o decocto foi preparado no mesmo turno em que foi realizada a diluição da Cultura Teste e à linha de testes de avaliação da atividade antibacteriana da *A. saturoioides*.



Figura 2. Preparação do decocto.

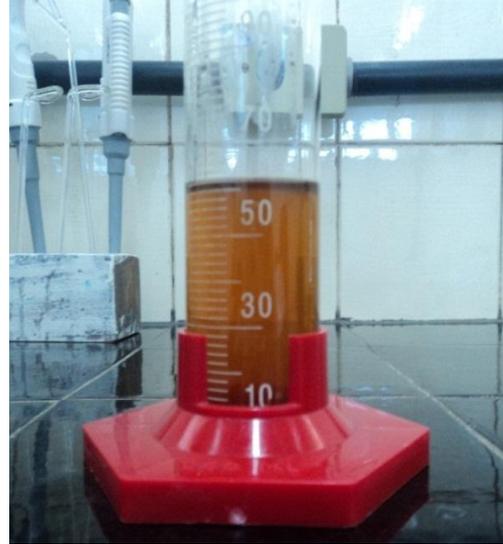


Figura 3. Decocto após filtração.

Foram feitos três controles do decocto, o primeiro após cocção, o segundo após filtração e o terceiro após reposição do volume inicial e manipulação, replicando 0,1mL em placa de Petry com ágar nutriente e incubando as três placas a 37°C por 24 horas.

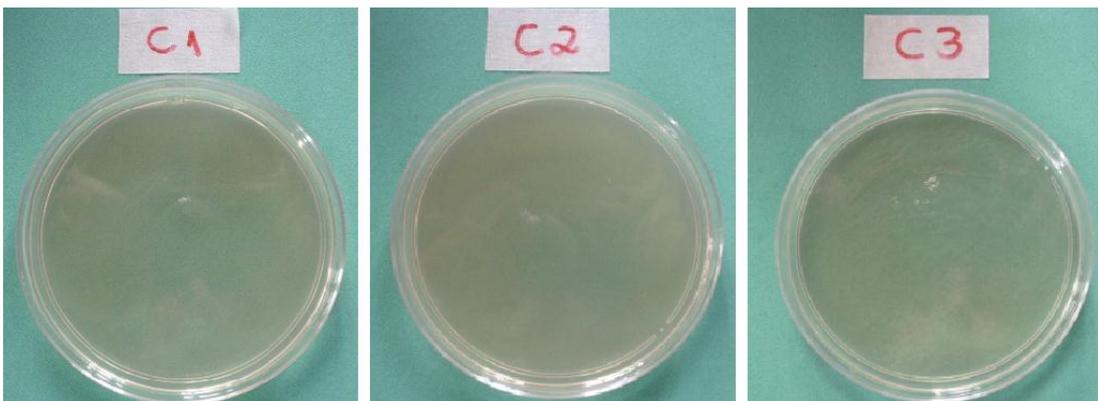


Figura 4. Controles do decocto (C1, C2 e C3) sem crescimento.

3.4 Método usado para avaliação da atividade antimicrobiana do decocto de *Achyrocline satureioides*

Para avaliação da atividade antibacteriana da *A. satureioides*, foi feito o confronto entre o decocto da planta e a cepa padrão de *S. aureus*, através do método de diluição pelo Teste de Suspensão Quantitativo para Avaliar Atividade Bactericida de Desinfetantes e Antissépticos Químicos, conforme o protocolo do Comitê Europeu de Padronização (CEN) número EN 1040 : 2005.

Terminado o processo de preparo e feito os controles do decocto, partiu-se para a etapa do confronto, a qual consistia em aliquotar em 3 tubos estéreis, que continham previamente 1 mL de água destilada estéril cada, 8mL de decocto e 1mL do inoculo inicial no primeiro tubo e de suas duas primeiras diluições nos tubos seguintes (CT, CT - 1 e CT - 2), as quais continham 10^8 , 10^7 e 10^6 UFC/mL respectivamente. Por isso, o tubo no qual foi aliquotado 1mL da CT, continha 10^7 UFC/mL, o tubo oriundo da CT - 1 continha 10^6 UFC/mL e o da CT - 2 continha 10^5 UFC/mL, por terem sido diluídos 1 vez, ou seja, a atividade do decocto foi testada frente a densidades populacionais iniciais de *S.aureus* ATCC 25.923 de 10^7 , 10^6 e 10^5 UFC/mL.

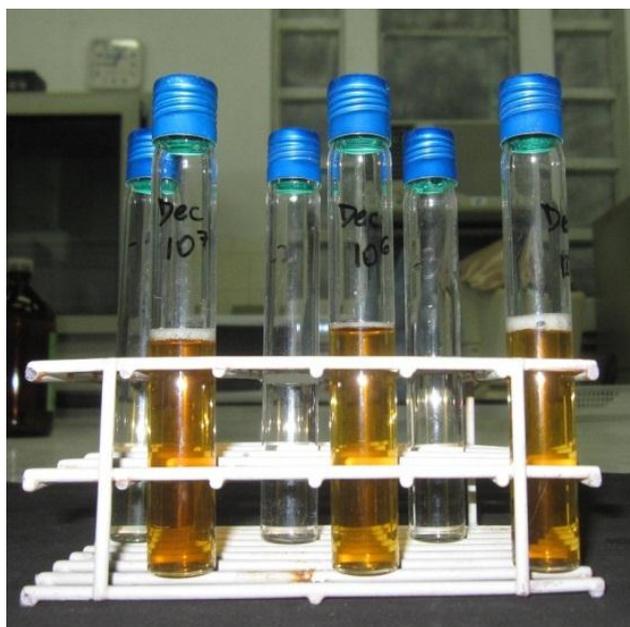


Figura 5. Tubos Confronto (1mL de água destilada estéril, 8mL de decocto e 1mL de suspensão com microrganismo – CT, CT-1 e CT-2) contendo respectivamente densidades populacionais de 10^7 , 10^6 e 10^5 UFC/mL.

Primeiramente, foram feitos os tempos de contato de 1, 8 e 24 horas. A partir dos resultados obtidos, optou-se por fazer primeiramente 20, 21, 22, 23 horas e posteriormente 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 e 19 horas de contato.

As etapas seguintes consistiam em possibilitar a quantificação do potencial antibacteriano do decocto.

A primeira etapa era “parar” a ação da extração vegetal sobre o microrganismo, no exato tempo de contato que estava sendo testado. Para isto, alíquotou-se 1mL da suspensão 10^7 UFC/mL em um tubo com neutralizador (8mL de caldo BHI com neutralizador, 1mL de água destilada estéril), este novo tubo foi homogeneizado e transcorridos cinco minutos (tempo necessário para ocorrer a neutralização) foi novamente homogeneizado. A segunda etapa foi à continuação da mesma linha de diluição, na qual foi transferido 1mL da suspensão neutralizada para 3 tubos contendo 9mL de água peptonada estéril, dos quais, após homogeneização, retirou-se 0,1mL para replicar em placas de ágar nutriente e incubar em estufa 37°C por 24 horas, possibilitando a quantificação da atividade do decocto. Procedeu-se a contagem das placas que continham até 300 UFC.

Da mesma forma, foram feitas as linhas diluições para as suspensões 10^6 e 10^5 UFC/mL.

No início do teste, no tubo em que era confrontado decocto e CT, tinha-se uma concentração de 1:1, no tubo em que ocorria a neutralização 1:10 e nos 3 tubos de diluições com água peptonada, concentrações de 1:100, 1:1000 e 1:10.000, respectivamente.

Foram realizadas três repetições dos experimentos.



Figura 6. Tempo de contato de 15 horas com a linha de diluição de 10^7 UFC/mL (sendo o primeiro, o tubo neutralizante e os três seguintes a diluição com água peptonada).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados obtidos por Sperotto (2010) e outros trabalhos realizados pelo grupo, foi feito delineamento de pesquisa para escolha dos tempos de contato em que ocorreria o confronto entre o decocto da *Achyrocline satureioides* e a cepa de referencia *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923.

Na tabela 1, pode ser observado os resultados do confronto do decocto de *Achyrocline satureioides*, na proporção 5g : 100mL, em diferentes tempos de contato frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923.

Tabela 1 Redução de densidades populacionais de *S. aureus* ATCC 25923, submetido a diferentes tempos de contato com o decocto de *A. satureioides* D.C. (Asteraceae).

Tempos de contato (horas)	Densidade populacional inicial do inóculo		
	10^7 UFC/mL	10^6 UFC/mL	10^5 UFC/mL
12	$3,0 \times 10^6$	$2,8 \times 10^3$	1×10^3
13	$2,7 \times 10^6$	$3,8 \times 10^3$	2×10^2
14	$3,9 \times 10^6$	$1,5 \times 10^3$	2×10^2
15	$1,2 \times 10^6$	$2,5 \times 10^3$	4×10^2
16	$1,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^3$	2×10^2
17	$7,3 \times 10^6$	$1,7 \times 10^3$	5×10^2
18	$3,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^3$	$< 1,0$
19	$2,1 \times 10^6$	$1,0 \times 10^2$	$< 1,0$
20	$7,3 \times 10^6$	$3,0 \times 10^2$	$< 1,0$
21	$1,9 \times 10^6$	$5,0 \times 10^2$	$< 1,0$
22	$1,8 \times 10^6$	$5,0 \times 10^2$	$< 1,0$
23	$1,8 \times 10^6$	$6,0 \times 10^2$	$< 1,0$
24	$< 1,0$	$< 1,0$	$< 1,0$

Os resultados demonstram que nas três densidades populacionais iniciais do inóculo e em todos os tempos de contato, houve redução das densidades populacionais, indicando atividade antimicrobiana do decocto da macela.

Sendo a densidade populacional inicial do inóculo 10^7 UFC/mL, observa-se a redução de apenas um logaritmo entre 12 e 23 horas de contato, ocorrendo, entretanto uma súbita inativação da mesma em 24 horas de contato com o decocto. Com a densidade populacional de 10^6 UFC/mL, percebe-se a redução de três logaritmos entre 12 e 18 horas e redução de quatro logaritmos entre 18 e 23 horas de contato, ocorrendo inativação também em 24 horas. Para a densidade inicial 10^5 UFC/mL, observa-se a redução de dois logaritmos em 12 horas e de três logaritmos

entre 13 e 17 horas, ocorrendo inativação do microrganismo a partir de 18 horas de contato.

Em concordância com FERNANDEZ *et al.* (2003), AVANCINI *et al.* (2006), TRESOLDI *et al.* (2006), AVANCINI e WIEST (2008) e SPEROTTO (2010), verificou-se que o decocto de *A. saturoioides*, foi capaz de inativar a cepa de *S. aureus* ATCC 25.923 em 24 horas de contato.

Os resultados demonstram também, que o potencial antimicrobiano do decocto de *A. saturoioides* varia conforme a densidade populacional inicial do inóculo e o tempo em que fica em contato com o microrganismo. Neste sentido, Avancini e Wiest (2008) constataram a validade de confrontar a planta *Hypericum caprifoliatum* (escadinha) frente a diferentes densidades populacionais do inóculo, simulando assim, diversas situações problema em produção e saúde animal. Os resultados apresentados pelos autores comprovam que se o confronto ocorresse com uma única densidade populacional (3×10^8 UFC/mL), o resultado seria a não atividade do decocto e este não teria apresentado potencialidade de uso em ambientes menos contaminados.

A concentração planta : volume utilizada (5 g: 100mL), foi escolhida de acordo com a Farmacopeia (1959) e baseada nos resultados obtidos por Sperotto (2010), o qual não encontrou diferença significativa na atividade antimicrobiana do decocto de *A. saturoioides* em três concentrações distintas (5 g; 6,5 g e 7 g :100 mL).

A escolha dos tempos de contato que o decocto deveria permanecer em contato com o inóculo teve como referencia os resultados obtidos por Sperotto (2010) e por Both (2011). O primeiro autor confrontou o decocto da macela frente à mesma cepa de referencia, porém com densidade populacional inicial de 10^6 UFC/mL, não encontrando redução desta em 1 hora de contato, porém em 24 horas obteve inativação da amostra. Both (2011) verificou que em oito horas de contato com o decocto da planta, a cepa referencia *S. aureus* ATCC 6538, nas densidades populacionais iniciais do inóculo 10^7 e 10^6 UFC/mL, tiveram redução de três logaritmos, sendo que, no mesmo tempo de contato, 10^5 UFC/mL a cepa de

referencia já estava inativada e na leitura das 24 horas, as três densidades populacionais dos inoculos estavam inativadas.

Os resultados obtidos apontaram para a necessidade de se determinar em que momento entre oito e 24 horas ocorre a inativação do inóculo nas três densidades populacionais testadas. Porém, para isto a pesquisa deve ser continuada verificando a atividade do decocto entre oito e 12 horas de contato com o microrganismo.

5 CONCLUSÕES

Os resultados confirmam a capacidade antibacteriana do decocto de *A. satureioides* sobre a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, confirmando com isso, que o conhecimento tradicional é um importante instrumento na prospecção de plantas medicinais com atividade antimicrobiana potencial.

Evidenciam também, que quanto menor a densidade populacional e quanto maior o tempo de contato do decocto sobre o inóculo, maior a capacidade de redução das unidades formadoras de colônia viáveis.

No entanto, é necessária a continuidade das pesquisas, principalmente no campo de análises quantitativas, a fim de viabilizar o uso desta extração vegetal como antimicrobiano de superfície e ambiente.

6 SUGESTÕES

Ao finalizar esta monografia, sugere-se ainda que o decocto de *Achyrocline satureioides* seja submetido a mais testes para melhor entender as informações baseadas em pesquisas etnográficas sobre seu uso como antimicrobiano desinfetante/antisséptico. Principalmente no que se refere ao seu espectro de ação, testá-lo em outros tempos de contato tanto frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923 (entre 1 e 12 horas) quanto frente a outros microrganismos presentes em situações problema de saúde e produção animal, na presença ou não de matéria orgânica, ou ainda investigando o tempo pelo qual o decocto da planta permanece como resíduo (sua capacidade residual) em diferentes superfícies e tecidos vivos.

REFERÊNCIAS

- AVANCINI, C. A. M. **Desinfecção em saúde e produção animal: bacteriostasia e bactericidia de *Baccharis trimera* (Less.) Compositae – (Carqueja) frente a microrganismos entéricos e cutâneos.** Dissertação apresentada para receber o título de Mestre em Ciências Veterinárias pela Faculdade de Veterinária- UFRGS. Porto Alegre, 101 p., 1995.
- AVANCINI, C. A. M. **Saneamento Aplicado em Saúde e Produção Animal: Etnografia, triagem da atividade antibacteriana de plantas nativas no sul do Brasil e testes de avaliação do decocto de *Hypericum caprifoliatum* cham. E schlecht- Hypericaceae (guttiferae) - (escadinha/ sinapismo) para uso como desinfetante e antisséptico.** Dissertação apresentada para receber o título de Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.
- AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J. M. Atividade desinfetante do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. e *Shlecht*. – Guttiferae (“escadinha/sinapismo”), frente diferentes doses infectantes de *Staphylococcus aureus* (agente infeccioso em mastite bovina). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 1, p. 64-69, 2008.
- BRASIL. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS.** Brasília: Ministério da Saúde, 92 p., 2006.
- BRASIL. **Instruções operacionais: informações necessárias para a condução de ensaios clínicos com Fitoterápicos.** Brasília: Ministério da Saúde, 20 p., 2008.
- BOTH, J. M. C. **Atividade antibacteriana de desinfetantes convencionais e do decocto de *Achyrocline satureioides* DC. – Asteraceae (“macela”) sobre isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* metilina resistentes (MRSA).** Requisito parcial ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias - UFRGS, Porto Alegre, 35 p., 2011.
- BRITISH STANDARD. The European Standard EN 1040:2005 has. **Chemical disinfectants and antiseptics – quantitative - suspension test for the evaluation of basic bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics – Test method and requirements (phase 1).** 2006.
- CABREIRA, C. E. *et al.* La Resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfetantes una manifestación de los mecanismos de supervivência y adaptacion. **Colombia Médica**, v. 38, n. 2, p. 149-158, 2007.
- CONY, J. **Fórum pela Vida: Macela – Planta Medicinal Símbolo do RS.** Projeto de Lei 224/2001, Porto Alegre: 2005.
- CUNHA N. A.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos *in natura* e processados no Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 22, p. 263-271, dez. 2002.

FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 2 ed. São Paulo: Siqueira S.A., 1959.

FERNANDEZ, V. N. V.; SILVA, R. K. P.; XIMENES, R. S. F.; AVANCINI, C. A. M. Atividade desinfetante e antisséptica de extrações de plantas nativas no sul do Brasil, frente bactérias de interesse na área da Medicina Veterinária: I - resultados preliminares do sub-projeto *Achyrocline satureioides* D.C. ASTERACEAE (macela). In: **Livro de Resumos. XV Salão e XII Feira de Iniciação Científica/UFRGS**, Porto Alegre: Sonopress Rimo Indústria e Comércio Fonográfica LTDA, p. 222, 2003.

FERREIRA, L. M.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, E.; ZAFALON, L. F.; SOUZA, V.; Variabilidades fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas em casos de mastite subclínica bovina. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, jul-ago, 2006.

GIROLOMETTO, G.; AVANCINI, C.A.M.; CARVALHO, H.H.C.; WIEST, J.M. Atividade antibacteriana de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 1, p. 49-55, 2009.

GRAVINO, I.; CORINO, R. B.; FISCH, E.; AVANCINI, C. A. M. Atividade antibacteriana desinfetante *in vitro* de extração vegetal (decocto) frente a microrganismos padronizados de interesse em Medicina Veterinária: III - Resultados preliminares do subprojeto *Achyrocline satureioides* D.C. – Asteraceae – (macela). In: **Livro de Resumos. XVII Salão de Iniciação Científica/ UFRGS**, Porto Alegre. p. 179, 2005.

HATTORI, E. K. O.; NAKAJIMA, J. N. 2008. A família Asteraceae na Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiro, In: **Rodriguésia**, v. 59, n. 4, p. 687-749, Minas Gerais: 2008.

IKUTA, A. R. Y.; BARROS, I. B. I. Influencia da temperatura e da luz sobre a germinação de marcela (*Achyrocline satureioides*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 12, p. 859-862, dez. 1996.

LEMOS, M. P. **Contribuições da ergonomia na melhoria da qualidade higiênico-sanitária de refeições coletivas: um estudo de caso**. Dissertação de mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina, 1999.

LOEUILLE, B. *Achyrocline in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2011/FB108826>>. Acesso em: jan. 2012.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

MOTA, F. M. **Atividade antibacteriana *in vitro* de inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. – Asteraceae – (“macela”, “marcela”) como fator de proteção em zoonoses**. Dissertação apresentada para receber o título de Mestre em Ciências Veterinárias pela Faculdade de Veterinária- UFRGS. Porto Alegre, 2008.

NOLL, N. C. **Teste piloto para avaliar a atividade antimicrobiana quantitativa do decocto de *Achyrocline satureioides* (LAM.) D.C. frente à cepa padronizada de *Staphylococcus aureus*.** Trabalho de conclusão de curso da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

OLIVEIRA, A. L.; PADILHA, C. D.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R. *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. (marcela), Asteraceae, avaliação comparativa da droga vegetal e estudos preliminares de otimização da extração. **Caderno de Farmácia**, Porto Alegre, v. 17, n. 1, p. 33-38, 2001.

RADDI, M. S. G.; LEITE, Q. F.; MENDONÇA, C. P. *Staphylococcus aureus*: Portadores entre manipuladores de alimentos. **Revista de Saúde Pública**. São Paulo, v. 22, p. 36-40, 1988.

SÁ, M. E. P. *et al.* Importância do *Staphylococcus aureus* nas mastites subclínicas: pesquisa de enterotoxinas e toxina do choque tóxico, e a relação com a contagem de células somáticas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 320-326, 2004.

SAMBO, L. G. **Mensagem do Director Regional da OMS para África, Dr. Luis Gomes Sambo, por ocasião do Dia da Medicina Tradicional Africana, 31 de Agosto de 2011.** Disponível em: <<http://www.afro.who.int/pt/rdo/discursos/3280-mensagem-por-ocasio-do-dia-da-medicina-tradicional-africana-31-de-agosto-de-2011.html>> Acesso em: Jan, 2012.

SILVA, R. K. P.; CARLI, C. M.; AVANCINI, C. A. M. Atividade antibacteriana desinfetante *in vitro* de extração vegetal (decocto) frente a microrganismos padronizados de interesse em Medicina Veterinária: II - Resultados preliminares do subprojeto *Achyrocline satureioides* D.C. – Asteraceae – (macela). In: **Livro de Resumos**. XVI Salão de Iniciação Científica UFRGS. Porto Alegre: 2004, p. 187.

SPEROTTO, V. R. **Atividade antibacteriana *in vitro* do decocto de *Achyrocline satureioides* (LAM.) D.C. – Asteraceae – (“macela”) sobre bactérias isoladas de mastite bovina.** Dissertação apresentada para receber o título de Mestre em Ciências Veterinárias pela Faculdade de Veterinária- UFRGS. Porto Alegre, 2010.

STAMFORD, T. L. M.; SILVA, C. G.; MOTA, R. A.; CUNHA NETO, A. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus spp.* isolados de leite *in natura*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 41-45, jan.-mar. 2006.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Procaríotos: Domínios Bacteria e Archaea*. In: **Microbiologia**. 8. Ed., cap. 11, p. 305-333, Porto Alegre: Artmed, 2005.

TRABULSI, L. R.; TEIXEIRA, L. M.; BUERIS, V. *Staphylococcus aureus*. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4 ed., cap. 20, p. 175, São Paulo: Atheneu, 2004.

VENDRUSCOLO, G. S. **Estudo das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.** 2004. 276 p. Dissertação apresentada para receber o título de Mestre em Botânica pelo Instituto de Biociências Ciências- UFRGS. Porto Alegre, 2004.

ZAMPIERON, R. G. **Estudo químico e potencial antioxidante de espécies vegetais utilizadas na medicina popular de Mato Grosso do Sul – *Achyrocline alata* (Kunth) D.C e *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. – Asteraceae.** 2010. 147 f. Dissertação apresentada para receber o título de Doutor em Ciências da Saúde pela Universidade de Brasília, Campo Grande, 2010.