

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DE INFLORESCÊNCIAS DE *Achyrocline*
satureioides (LAM.) DC. – ASTERACEAE – (“macela”, “marcela”) COMO FATOR DE
PROTEÇÃO EM ZONÓSES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Fabiely Machado Mota

PORTO ALEGRE

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DE INFLORESCÊNCIAS DE *Achyrocline*
satureioides (LAM.) DC. – ASTERACEAE – (“macela”, “marcela”) COMO FATOR DE
PROTEÇÃO EM ZOONOSES

Fabiely Machado Mota
Dissertação apresentada
como requisito parcial
para a obtenção do grau
de Mestre em Ciências
Veterinárias na área de
Medicina Veterinária
Preventiva

Orientador: Prof. Dr.
José Maria Wiest

PORTO ALEGRE

2008

M917a Mota, Fabiely Machado

Atividade antibacteriana in vitro de inflorescências de *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC. – Asteraceae – (“macela”, “marcela”) como fator de proteção em zoonoses./ Fabiely Machado Mota. – Porto Alegre: UFRGS, 2008.

91 f.; il. – Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, RS-BR, 2008. José Maria Wiest, Orient.

1. Plantas medicinais: uso terapêutico 2. Atividade antibacteriana: plantas 3. *Achyrocline*: zoonoses: microbiologia I. Wiest, José Maria, Orient. II. Título.

CDD 619.4

Catálogo na fonte: Biblioteca da Faculdade de Veterinária da UFRGS

AGRADECIMENTOS

Aos Amigos de caminhada pelo insistente apoio, dedicação e auxílio em todos os momentos;

Ao meu Orientador, Prof. Dr. José Maria Wiest, pelo apoio e incentivo nas áreas científica e pessoal;

A Profa. Dra. Heloísa Helena Carvalho, pelo infatigável apoio ao desenvolvimento da pesquisa;

A Viviane Zato Mudez (*in memoriam*) pela sua maravilhosa simplicidade de ser e nos presentear com sua presença neste plano;

A equipe de bolsistas, agradeço a atenção, interesse e auxílio, pessoal e logístico,

A Eduardo Schmidt, pelo companheirismo, cumplicidade e dedicação, e

A CAPES, pelo importante estímulo à pesquisa, principalmente ao desempenho deste trabalho através de Bolsa de Estudos.

RESUMO

Através de Testes de Diluição em Sistema de Tubos Múltiplos determinou-se *in vitro* atividade antibacteriana em inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. – Asteraceae (“macela”, “marcela”), expressa como Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB / bacteriostasia) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB / bactericidia), a partir de formas de extração etanólica (hidroalcoolaturas) e hídrica (decoctos), sobre inóculos padronizados de *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 11229) e *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076). *Enterococcus faecalis* apresentou a maior sensibilidade, seguido por *Staphylococcus aureus*, enquanto *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia coli* apresentaram-se mais resistentes. Dentre as formas de extração, a hidroalcoolatura apresentou capacidade de inibição e/ou inativação intensa e seletiva frente aos quatro inóculos bacterianos. Os decoctos mostraram-se completamente ineficazes frente às bactérias Gram-negativas, enquanto que as Gram-positivas apresentaram somente bacteriostasia/inibição.

Palavras-chave: *Achyrocline satureioides*, atividade antibacteriana, inibição bacteriana, inativação bacteriana.

ABSTRACT

Dilutions Tests in Multiple Tubes System were used to establish the antibacterial activity “in vitro” of inflorescences of Achyroclines satureioides (Lam.) DC. – Asteraceae – (“macela”, “marcela”), from ethanolic extracts (hydroalcoholics) and hydrics (decoction) on pattern bacterial suspension such as Enterococcus faecalis (ATCC 19433), Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Escherichia coli (ATCC 11229) and Salmonella Enteritidis (ATCC 11076) expressed as Intensity Activity of Bacterial Inhibition (IINIB) and Intensity Activity of Bacterial Inactivation (IINAB). The mentioned extract showed to be more sensibility with Enterococcus faecalis, followed by Staphylococcus aureus, however Salmonella Enteritidis and Escherichia coli showed to be more resistant. Behind the extraction forms, the hydroalcoholic extract presented intense and selective inhibition and / or inactivation capacity in relation of the four agents. However the hydroalcoholic extract presented better antibacterial activity intensity (inhibition / inactivation) in relation of the four bacterial suspensions. Decoctions showed to be completely without capacity in front of the Gram-negatives bacterias, on the other hand the Gram-positive the bacteriostasy / inhibition were observed.

Key words: Achyrocline satureioides, antibacterial activity, bacterial inhibition, bacterial inactivation

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 -** Representação dos valores ordinais arbitrários de intensidade de atividade atribuídos às variáveis de Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana / bacteriostasia (IINIB) e de Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana / bactericidia (IINAB) e suas correspondentes diluições e doses infectantes dos inóculos..... 43
- Tabela 2 -** Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB / bacteriostasia) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB / bactericidia) produzida por diferentes formas de extração de inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (“macela”), na concentração de 50%, sobre inóculos bacterianos padrões, em até 144 horas de incubação aeróbia à 37°C, média de três repetições independentes..... 44

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	Considerações Iniciais	11
1.2	Problema.....	12
1.3	Hipóteses.....	12
1.4	Objetivos.....	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1	Plantas medicinais.....	14
2.1.1	Histórico.....	14
2.1.2	Planta Medicinal.....	15
2.1.3	Planta Medicinal no Brasil.....	16
2.1.4	<i>Achyrocline satureioides</i> no Rio Grande do Sul.....	17
2.2	Aspectos Botânicos e Morfológicos da <i>Achyrocline satureioides</i>.....	17
2.2.1	Família Asteraceae (antiga Compositae).....	17
2.2.2	<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC. “macela”.....	18
2.2.3	Utilização da “Macela” na Medicina Popular.....	20
2.2.4	Estudos Realizados com a <i>Achyrocline satureioides</i>	21
2.2.5	Constituintes Químicos.....	22
2.2.6	Atividade Biológica.....	24
2.2.7	Atividade Espasmolítica.....	26
2.2.8	Toxicidade.....	26
2.2.9	Atividade Mutagênica.....	27
2.3	Bactérias Causadoras de Zoonoses.....	28
2.3.1	Zoonoses.....	28
2.3.2	Parede Celular Bacteriana.....	28
2.3.3	Bactérias Gram-Negativas.....	29
2.3.3.1	<i>Salmonella</i> Enteritidis.....	29
2.3.3.2	<i>Escherichia coli</i>	30
2.3.4	Bactérias Gram-Positivas.....	31
2.3.4.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	31

2.3.4.2	<i>Enterococcus faecalis</i>	32
CAPÍTULO II		
3	ARTIGO CIENTÍFICO	35
	Atividade antibacteriana <i>in vitro</i> de inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC. – Asteraceae – (“macela”, “marcela”)	35
	Artigo submetido à publicação na Revista Brasileira de Plantas Medicinais em Janeiro 2008.....	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		50
ANEXOS		
ANEXO A	Comparação de resultados entre as formas de extração decocto concentrado, decocto reidratado e extrato hidroalcoólico frente às quatro bactérias confrontadas na presença e na ausência de desinibidor no período de 24 horas.....	55
ANEXO B	Comparação de resultados entre as formas de extração decocto concentrado, decocto reidratado e extrato hidroalcoólico frente às quatro bactérias confrontadas na presença e na ausência de desinibidor no período de 48 horas.....	57
ANEXO C	Comparação de resultados entre as formas de extração decocto concentrado, decocto reidratado e extrato hidroalcoólico frente às quatro bactérias confrontadas na presença e na ausência de desinibidor no período de 72 horas.....	59
ANEXO D	Comparação de resultados entre as formas de extração decocto concentrado, decocto reidratado e extrato hidroalcoólico frente às quatro bactérias confrontadas na presença e na ausência de desinibidor no período de 144 horas.....	61
ANEXO E	Comparação de resultados entre bactérias e formas de extração...	63
ANEXO F	Comparação de resultados entre tempos de exposição e formas de extração.....	65
ANEXO G	Comparação de resultados entre formas de extração e tempo de exposição para <i>Staphylococcus aureus</i>	67
ANEXO H	Comparação de resultados entre formas de extração e tempos de exposição para <i>E. faecalis</i>	69
ANEXO I	Comparação de resultados entre formas de extração e tempos de exposição para <i>S. Enteritidis</i>	70
ANEXO J	Comparação de resultados entre formas de extração e tempos de exposição para <i>Escherichia coli</i>	71
ANEXO K	Comparação de resultados entre bactérias e formas de extração no período de 24 horas.....	72

ANEXO L	Comparação de resultados entre bactérias e formas de extração no período de 48 horas.....	73
ANEXO M	Comparação de resultados entre bactérias e formas de extração no período de 72 horas.....	74
ANEXO N	Comparação de resultados entre bactérias e formas de extração no período de 144 horas.....	75
ANEXO O	Comparação de resultados entre formas de extração e desinibidor frente a todas as bactérias no período de 24 horas.....	76
ANEXO P	Comparação de resultados entre formas de extração e desinibidor frente a todas as bactérias no período de 48 horas.....	77
ANEXO Q	Comparação de resultados entre formas de extração e desinibidor frente a todas as bactérias no período de 72 horas.....	78
ANEXO R	Comparação de resultados entre formas de extração e desinibidor frente a todas as bactérias no período de 144 horas.....	79
ANEXO S	Comparação de resultados entre a presença e a ausência do desinibidor frente às formas de extração e tempo de exposição para <i>Staphylococcus aureus</i>	80
ANEXO T	Comparação de resultados entre a presença e a ausência do desinibidor frente às formas de extração e tempo de exposição para <i>Enterococcus faecalis</i>	82
ANEXO U	Comparação de resultados entre a presença e a ausência do desinibidor frente às formas de extração e tempo de exposição para <i>Salmonella</i> Enteritidis.....	84
ANEXO V	Comparação de resultados entre a presença e a ausência do desinibidor frente às formas de extração e tempo de exposição para <i>Escherichia coli</i>	85
ANEXO X	Comparação de resultados por bactérias entre formas de extração e tempo de exposição para <i>Staphylococcus aureus</i>	86
ANEXO Z	Comparação de resultados por bactérias entre formas de extração e tempo de exposição para <i>Enterococcus faecalis</i>	87
ANEXO AA	Comparação de resultados por bactérias entre formas de extração e tempo de exposição para <i>Salmonella</i> Enteritidis.....	88
ANEXO BB	Comparação de resultados por bactérias entre formas de extração e tempo de exposição <i>Escherichia coli</i>	89
ANEXO CC	Identificação botânica das inflorescências de “macela”.....	90

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações iniciais

O uso das espécies vegetais, com fins de tratamento e cura de doenças e sintomas, remonta ao início da civilização, desde o momento em que o homem despertou e começou um longo percurso de manuseio, adaptação e modificação dos recursos naturais para seu próprio benefício (DI STASI, 1996).

Segundo Schenkel, Gosmann e Petrovick (2003), até o século XIX, os recursos terapêuticos eram constituídos predominantemente por plantas e extratos vegetais, o que pode ser ilustrado pelas Farmacopéias da época, onde se verifica que as plantas medicinais e seus extratos constituíam a maioria dos medicamentos, que pouco se diferenciavam dos remédios utilizados na medicina popular. No início do século passado, esses recursos começaram a ser estudados com os instrumentos científicos da ocasião e se estabeleceu paulatinamente a tendência de utilização de princípios ativos.

Presentemente, as plantas medicinais representam uma das alternativas entre as diversas fontes de insumos necessários à existência da sociedade, tendo como principal vantagem o fato de ser uma fonte renovável e, em grande parte, controlável pelo gênero humano (SCHENKEL, GOSMANN, PETROVICK, 2003).

Conforme Florit (2003), a partir do século XVIII, houve uma separação nítida entre as ciências sociais e as naturais, separando também o homem do meio ambiente. No entanto, sabe-se que a transmissão oral continua sendo o principal modo pelo qual o conhecimento é perpetuado em sociedades tradicionais, como salienta Amorozo (1996).

Considerando as inúmeras transformações decorrentes da evolução humana, destacando, conseqüentemente, a degradação ambiental com a escassez de recursos naturais, Schenkel, Gosmann e Petrovick (2003) afirmam que as plantas medicinais e seus extratos hoje representam uma das alternativas entre as diversas fontes de insumos necessários à existência da sociedade, tendo como principal vantagem o fato de ser uma fonte renovável e, em grande parte, controlável pelo homem.

1.2 Problema

Questionou-se a presença de atividade antibacteriana em inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. – Asteraceae – (“macela”, “marcela”) expressa como IINIB (Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana / bacteriostasia) e como IINAB (Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana / bactericidia).

1.3 Hipóteses

- As inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. – Asteraceae – (“macela”, “marcela”), planta utilizada por grande parte da população do Rio Grande do Sul apresentam atividade antibacteriana seletiva passível de expressão como IINIB (Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana / bacteriostasia) e como IINAB (Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana / bactericidia).

- As diferentes formas de extração da planta não influenciam a atividade antibacteriana em estudo.

1.4 Objetivos

Considerando a utilização medicinal da macela pela população do Rio Grande do Sul e os diferentes estudos científicos da ação biológica desta planta, o presente trabalho se propõe determinar a atividade antibacteriana *in vitro* de extratos etanólico (hidroalcoólaturas com evaporação do etanol em sistema de rota-vapor e posterior reconstituição hídrica sob assepsia) e hídrico (decoctos com e sem reconstituição hídrica posterior) em inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. – Asteraceae – (“macela”, “marcela”), expressa como IINIB (Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana / bacteriostasia) e IINAB (Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana / bactericidia) sobre bactérias de interesse em alimentos como *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 11229) e *Salmonella Enteritidis* (ATCC 11076). Manipulam-se, em síntese, as variáveis: bactérias

Gram-negativas e positivas, as formas de extração das soluções conservantes, os tempos de confrontação e a presença ou ausência de desinibidores bacterianos, permanecendo constante a concentração final das várias soluções conservantes contendo as diferentes formas de extração.

Pretende-se ainda, neste trabalho, avaliar cientificamente a utilização da planta como sistema antimicrobiano natural, fundamentando sua aplicação em ações básicas de saúde e alimentação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS

2.1.1 Histórico

A origem do conhecimento do homem sobre as virtudes das plantas confunde-se com sua própria história (ALMEIDA, 2003). Este conhecimento sempre acompanhou a evolução do homem através dos tempos (FERRO, 2006) e certamente surgiu à medida que ele tentava suprir suas necessidades básicas, através de casualidades, tentativas e observações, conjunto de fatores que constituem o empirismo (ALMEIDA, 2003).

As primitivas civilizações cedo se aperceberam da existência, ao lado das plantas comestíveis, de outras dotadas de maior ou menor toxicidade que, ao serem experimentadas no combate à doença, revelaram, embora empiricamente, o seu potencial curativo. A descoberta das propriedades curativas das plantas foi, no início, meramente intuitiva (empírica) ou dada pela observação dos animais que buscavam nas ervas cura para suas afecções (FERRO, 2006).

Acredita-se que o registro mais antigo de todos é o Pen Ts'ao, de 2800 a.C., escrito pelo herborista chinês Shen Numg, que descreve o uso de centenas de plantas medicinais na cura de várias moléstias.

A eficácia das drogas de origem vegetal é fato desde as mais remotas civilizações, na chamada “Matriz Geográfica” da civilização ocidental.

Os primeiros tratados médicos de grande importância são de aproximadamente 500 a.C., o “Taxaraca – Samhita e Susruta – Samhita”, prováveis precursores do sistema UNANI de medicina árabe. Estes sistemas terapêuticos são certamente a origem inspiradora da medicina hipocrática grega, conhecida como a mãe da medicina ocidental.

Durante as chamadas civilizações clássicas, as drogas vegetais começam a ser registradas de forma sistemática. Na Grécia, Pedacius Dioscórides escreveu a obra que foi posteriormente traduzida para o Latim por humanistas do século XV, chamada “Matéria Médica” que por mais de 1500 anos, durante o período greco-romano e na Idade Média, foi considerada a bíblia de médicos e farmacêuticos. Dioscórides descreveu a origem,

características e usos em terapêutica de mais de 500 drogas vegetais, aproximadamente 100 drogas de origem animal e outras tantas de origem mineral. Acredita-se que a matéria-médica, transformada em disciplina didática, deu origem à moderna Farmacognosia. Após a queda do Império Romano, a Europa atravessou um longo período de obscurantismo científico entre os séculos V e XV, a chamada Idade Média. De forma paralela, nesse período, o mundo árabe emergiu com grande atividade científica sendo acrescido de alguns conhecimentos de origem indiana. Dessa forma, surge a “Medicina Árabe”, destacando-se o médico Avicena e as suas famosas flores como terapêutica para os males cardíacos. Através da península ibérica, os conhecimentos árabes ganharam toda a Europa. Muitas drogas, novas para a época, foram introduzidas na terapêutica européia: canela, limão, noz moscada, sene, tamarindo e cânfora são algumas das mais importantes.

As descobertas geográficas, ao final do século XV, com a abertura das rotas marítimas para as Índias e para a América trouxeram o conhecimento de outros vegetais como o coco, o chá preto e o café, iniciando uma nova era para o estudo de fitofármacos.

Muitas drogas vieram da Antigüidade e através dos séculos sobreviveram aos diferentes hábitos culturais.

Por outro lado, preciosos conhecimentos perderam-se no decorrer da história das civilizações, extintas por fenômenos naturais, migrações e, principalmente, pela ocorrência das invasões gregas, romanas, muçulmanas e pelas colonizações européias, que impuseram seus costumes, alterando realidades sócio-culturais e econômicas. No Brasil, o conhecimento dos índios, dos africanos e de seus descendentes está desaparecendo em decorrência da imposição de hábitos culturais importados de outros países, havendo um risco iminente de se perder essa importante memória cultural (ALMEIDA, 2003).

2.1.2 Planta Medicinal

Planta medicinal é a planta selecionada, silvestre ou cultivada, utilizada popularmente como remédio no tratamento de doenças. Segundo a OMS (1978) é toda e qualquer planta contendo substâncias que possam ser usadas para prevenir, aliviar, curar ou modificar um processo fisiológico normal ou patológico e que possa servir como fonte de fitofármacos e de seus precursores para a síntese químico-farmacêutica.

Princípio ativo é uma substância ou um grupo delas, quimicamente caracterizadas, cuja ação farmacológica é conhecida e responsável, total ou parcialmente, pelos efeitos terapêuticos do produto fitoterápico (FERRO, 2006).

As plantas representaram, durante séculos, a única fonte de agentes terapêuticos para o homem. No início do século XIX, com o desenvolvimento da química farmacêutica, as plantas passaram a representar a primeira fonte de substâncias para o desenvolvimento de medicamentos. Atualmente, apesar do grande desenvolvimento da síntese orgânica e de novos processos biotecnológicos, 25% dos medicamentos prescritos nos países industrializados são originária de plantas e 120 compostos de origem natural, obtidos a partir de cerca de 90 espécies de plantas, são utilizados na terapia moderna. De fato, os produtos naturais estão envolvidos no desenvolvimento de 44% de todas as novas drogas (HOSTETTMANN, QUEIROZ, VIEIRA, 2003).

Países como a China, a Coréia do Norte, o Japão e outros têm feito um esforço significativo na investigação de fármacos de uso tradicional, o que tem conduzido a resultados de alto interesse sob o ponto de vista terapêutico e evitado a perda dessa informação.

Por outro lado, a forma alarmante como se processa em nível de depredação, em certas regiões, o extermínio de espécies vegetais, mesmo antes de serem investigadas química e farmacologicamente, justifica que se conceda prioridade a tais estudos. No cerrado, cerca de 700 a 750 espécies medicinais estão em risco de extinção declarado. Vários investigadores têm feito importantes revisões sobre o uso medicinal e efeitos tóxicos de plantas por populações não ocidentalizadas.

É um fato que aproximadamente 80% a 85% da população mundial ainda utiliza medicamentos à base de plantas. Com o adequado estudo e desenvolvimento destes sistemas, procura a OMS que melhores cuidados de saúde possam ser estendidos a todos neste século (FERRO, 2006).

2.1.3 Planta Medicinal no Brasil

Conforme citações em literatura especializada, ainda é difícil estimar com precisão a grandeza da biodiversidade brasileira. Entretanto, estima-se que o Brasil possua a maior

diversidade genética vegetal do planeta. Apesar do potencial para a busca de novos fitofármacos ser inegável, estima-se que menos de 10% da flora nacional foi estudada com fins fitoquímicos e farmacológicos, visando a avaliação das propriedades terapêuticas (ALMEIDA, 2003).

O Brasil, com cerca de 10% de toda a flora mundial, apesar de ter proporcionado à humanidade produtos com propriedades extraordinárias, como os curares, a emetina, a pilocarpina e outros, continua a ser um país com muitas potencialidades, também neste campo, considerando-se serem menos que 1% as espécies vegetais brasileiras que foram analisadas sob o ponto de vista químico e farmacológico (FERRO, 2006).

2.1.4 *Achyrocline satureioides* no Rio Grande do Sul

No Rio Grande do Sul há a tradição de colheita da macela na Sexta-Feira Santa, antes do sol nascer, pois acredita-se que a colheita nesse dia traga mais eficiência ao chá das flores.

Comprovando a importância que a *Achyrocline satureioides* (“macela”) tem no costume popular, através da Lei 11.858, de 05 de dezembro de 2002, ela foi “instituída como Planta Medicinal Símbolo do Estado do Rio Grande do Sul”.

2.2 Aspectos Botânicos e Morfológicos da *Achyrocline satureioides*

2.2.1 Família Asteraceae (antiga Compositae)

As Compositae ou Asteraceae compreendem cerca de 1.100 gêneros, com, aproximadamente, 25.000 espécies (HEEMANN, MIGUEL, MIGUEL, 2006), das quais, cerca de 600 são encontradas no Rio Grande do Sul (LOPES *et al.*, 2001), e 13 tribos, de ampla distribuição, bem representadas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas. No Brasil, estão representadas por, aproximadamente, 180 gêneros (HEEMANN, MIGUEL, MIGUEL, 2006). Os estados do extremo sul do Brasil, compreendendo o Paraná, Santa

Catarina e Rio Grande do Sul, possuem uma população relativamente densa e de grande diversidade de espécies de Asteraceae.

O nome da família Asteraceae, segundo Heemann, Miguel e Miguel (2006), deriva da estrutura característica da inflorescência, em capítulos florais. É considerada uma das famílias mais numerosas e evoluídas do reino vegetal.

Heemann, Miguel e Miguel (2006) relatam em seu trabalho que a família Asteraceae é cosmopolita, com grande concentração de espécies em regiões subtropicais, temperado-frias e temperadas. Também são muito abundantes nas regiões montanhosas. Matzenbacher (2003) relata que também podem ser encontrados representantes da família nas mais variadas condições climáticas, desde regiões tropicais, subtropicais e temperadas, aos Andes gelados. O endemismo é muito freqüente na família Asteraceae, encontrando-se certas espécies em áreas muito restritas.

Devido ao seu extraordinário poder de adaptação ambiental, as espécies Asteraceae podem ser encontradas nos mais variados habitats. Outro fator importante pelo sucesso biológico é a grande capacidade de dispersão das espécies, cada uma com sua particularidade inerente às suas características (MATZENBACHER, 2003).

Ervas, arbustos, árvores baixas ou médias, não raro trepadeiras perenes, com indumento variado não secretor ou glanduloso, com abundantes princípios ativos muito diversificados, incluindo inulina, alcalóides, com ou sem sistema de canais lactíferos e condutos ou depósitos, esquizolisígenos de resina, freqüentemente com floema ou canais vasculares em uma medula. A inflorescência das Asteraceae é o capítulo, que é composto de um receptáculo comum sobre o qual se inserem as flores, rodeadas por brácteas especializadas, as brácteas involucrais (chamadas também de escamas ou filarias) (HEEMANN, MIGUEL, MIGUEL, 2006).

2.2.2 *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.

Lorenzi e Matos (2002) relatam que a *Achyroclines satureioides* apresenta nomes sinônimos como *Achyrocline candicans* (Kunth) DC., *Achyrocline flaccida* DC., *Gnaphalium satureioides* Lam., *Gnaphalium candicans* Kunth, sendo conhecida também

pelos nomes comuns de “macela”, “alecrim-de-parede”, “camomila-nacional”, “macela-amarela”, “macela-da-terra”, “macela-do-campo”, “macela-do-sertão”, “macelinha”, “marcela”, “marcela-do-campo”, dentre outros. Segundo Simões (1984) nos países vizinhos ao nosso é conhecida por “macela galega”, “marcella hembra”, “marcelita” e “yatei-caá” (em Tupi-guarani).

Seu habitat natural é a América Austral Oriental, florescendo espontaneamente no Uruguai, Paraguai e sul do Brasil (SIMÕES, 1984; TORRES, 2005). Em nosso Estado, cresce abundantemente sob forma de vegetal silvestre, tanto em solos arenosos como em solos basálticos (SIMÕES, 1984).

Caracteriza-se como planta herbácea perene, ereta (LORENZI, MATOS, 2002; PIO CORREA, 1974) ou de ramos decumbentes, muito ramificada (LORENZI, MATOS, 2002; CASTRO, CHEMALE, 1993), de 60 a 120 cm de altura, nativa de campos e áreas abertas do sul e sudeste do Brasil. Folhas simples (LORENZI, MATOS, 2002), alternas, inteiras, sésseis lineares lanceoladas de até 12 cm de comprimento por 1,8 cm de largura, com revestimento alvo-tomentoso na face inferior (LORENZI, MATOS, 2002; CASTRO, CHEMALE, 1993). Inflorescências axilares e terminais, com capítulos amarelados (LORENZI, MATOS, 2002), em dois tipos de flores, reunidas em panículas corimbosas. As flores são amarelo-douradas, as centrais hemafroditas, de corola tubulosa, em número de uma a duas e as flores marginais quatro ou cinco femininas de corola filiforme, papus branco (CASTRO, CHEMALE, 1993), possuindo odor característico (SIMÕES, 1984). Fruto do tipo aquênio, glabro e pardo (CASTRO, CHEMALE, 1993), multiplicando-se exclusivamente por sementes (LORENZI, MATOS, 2002; CASTRO, CHEMALE, 1993).

É encontrada em todo o Rio Grande do Sul. Prefere luz, podendo, no entanto, ocupar terrenos de encosta pouco ensolarados. Nos campos altos e secos seu porte é mais baixo. Nas várzeas produz melhor. Os solos férteis, levemente úmidos e húmidos são os melhores. Não é exigente quanto ao pH. Quanto à colheita, é visada toda a parte aérea, mas apenas as flores (capítulos) são usadas para fins medicinais. Com relação ao quando colher, faz-se isto no segundo ano de desenvolvimento da planta, no início do outono (março-abril), quando os capítulos estão maduros (CASTRO, CHEMALE, 1993).

2.2.3 Utilização da “Macela” na Medicina Popular

Na medicina popular, utiliza-se a “macela” em distúrbios do trato gastrointestinal (SIMÕES *et al.*, 1988; LAMATY *et al.*, 1991).

A *Achyrocline satureioides* cresce espontaneamente em pastagens e beira de estradas, sendo considerada pelos agricultores como “planta daninha”. Suas inflorescências secas são utilizadas em muitas regiões para o preenchimento de travesseiros e acolchoados, no entanto, é na medicina caseira onde seu uso é maior, tanto no Brasil como em outros países da América do Sul.

O chá de suas flores, folhas e ramos secos, na proporção de 5 gramas por litro de água fervente, é usado no Brasil no tratamento de problemas gástricos, epilepsia e cólicas de origem nervosa. Também empregado como antiinflamatório, antiespasmódico e analgésico, para diarreia e disenteria, como sedativa e emenagoga. Em uso externo contra reumatismo, nevralgias, cólicas (intestinais e renais), menstruações dolorosas, dores articulares e musculares é recomendada na forma de cataplasma e de banho de imersão.

Na Argentina é ingerida para ajudar a regulação do ciclo menstrual e para o tratamento da asma. No Uruguai o seu chá tem a mesma aplicação, além do emprego para problemas estomacais, digestivos e gastrointestinais, como emenagoga, sedativa e antiespasmódica.

Esta planta tem sido objeto de estudos farmacológicos e clínicos desde os anos 80, visando a sua validação. Em experiências com animais, tem sido provada suas propriedades analgésicas, antiinflamatória, relaxante muscular externo e interno (músculos gastrointestinais), sem nenhum efeito tóxico colateral. Análises químicas mostraram que esta planta é rica em flavonóides, incluindo alguns totalmente novos, sesquiterpenos e monoterpenos, sendo que muitas destas substâncias são responsáveis por suas propriedades ativas (LORENZI, MATOS, 2002).

A sua utilização empírica na medicina popular se faz principalmente na forma de infusos ou decoctos das inflorescências, sendo também observadas preparações de folhas e caules (SILVA, 1993). Os usos são bastante variados, destacando-se indicações como digestiva, carminativa, colagoga, eupéptica, antiinflamatória, emenagoga, hipocolesterêmica, antidiarreico, antisséptica intestinal (LAMATY *et al.*, 1991; SILVA, 1993; SIMÕES, 1984; TORRES, 2005) e antiespasmódica (LAMATY *et al.*, 1991; SILVA,

1993; SIMÕES, 1984). Seu emprego também está relacionado em quadros de asma brônquica (SILVA, 1993; SIMÕES, 1984). Simões (1984) relata o emprego da “macela” em casos de inflamação do apêndice cecal, em lavagens ginecológicas, e em diabéticos, no controle da glicogênese.

Torres (2005) refere que o uso da “macela” acalma e favorece o sono, sob a forma de chás ou postas sob o travesseiro.

2.2.4 Estudos realizados com a *Achyrocline satureioides*

Atualmente, o estudo das plantas está muito difundido, principalmente nas faculdades de Farmácia, e a cada dia apresentam-se trabalhos científicos sobre as plantas, sua composição e sua ação terapêutica, bem como a melhor forma galênica de apresentação e utilização (FERRO, 2006).

Como Silva (1993) relata inúmeros artigos têm sido publicado sobre a ação biológica sobre os compostos, dos quais podemos citar alguns: a quercetina e a rutina vêm sendo utilizadas como constituintes de vários produtos farmacêuticos usados para o tratamento da fragilidade capilar e fleboesclerose; quercetina, rutina, kaempferol-3-rhamnoglucose e luteolina demonstraram atividade diurética; quercetina, luteolina e kaempferol e 3-O-metilquercetina apresentaram atividade antiespasmódica em musculatura lisa de ratos e cobaios; o ácido cafeico e ácido protocatéquico também mostraram atividade antiespasmódica na musculatura lisa de ratos, a quercetina, luteolina e 3-O-metilquercetina mostraram atividade antiinflamatória, a luteolina mostrou atividade hipoclorética, a quercetina mostrou atividade viricida a uma concentração de 100µg/mL em linhagens humanas e porcina de herpesvírus da parainfluenza; a 3-O-metilquercetina e derivados apresentam atividade contra picornavírus e vírus da estomatite vesicular, sendo potentes compostos antipoliiovírus. Relacionou também aos compostos flavonoídicos, principalmente as 3-O-metilflavonas, a atividade antiviral do extrato aquoso de sumidades floridas de marcela.

Silva (1993) relata a existência de atividade antiespasmódica em extratos alcoólicos e hidroalcoólicos, elaborados a partir das sumidades floridas de *Achyrocline satureioides* e

que o extrato alcoólico foi capaz de reduzir os efeitos máximos da noradrenalina e cloreto de bário, evidenciando a capacidade de exercer um efeito espasmolítico sobre a musculatura lisa genital de ratos, e que a partir de experimentos realizados em jejuno de rato, ducto deferente e útero de rata foram evidenciadas atividades colenolítica e miorrelaxante do extrato aquoso de folhas/caules de *Achyrocline satureioides*, justificando o uso popular do infuso como antiespasmódico.

Os extratos aquosos a frio e a quente e extrato etanólico a frio de flores de “marcela”, apresentaram atividades antiinflamatória, no modelo de inibição do edema das patas dos ratos produzido por carragenina. Os flavonóides quercetina, 3-metoxi-quercetina e luteolina também apresentaram atividade antiinflamatória, no modelo de inibição do edema das patas dos ratos produzido por carragenina. Os extratos aquosos a frio e a quente e extrato etanólico a frio de flores de “marcela”, apresentaram ação analgésica, no modelo de inibição dos estiramentos abdominais produzidos por injeção intraperitoneal de uma solução de ácido acético, em camundongos. O extrato aquoso a quente de flores de “marcela” apresentou ação sedativa central, no modelo de potenciação do sono barbitúrico induzido pelo pentobarbital sódico, em camundongos.

Os extratos aquosos a frio e a quente e extrato etanólico a frio de flores de “marcela”, não provocaram mudanças comportamentais nem mortes dos animais, até 48 horas após sua administração via endovenosa (SIMÕES, 1984).

2.2.5 Constituintes Químicos

Diversos estudos a respeito da composição química de *Achyrocline satureioides* têm sido desenvolvidos. Em geral, os estudos são efetuados com as inflorescências, mas a composição química das folhas e caules também tem sido objeto de estudos. Os constituintes químicos até agora identificados são flavonóides (SILVA, 1993; VENDRUSCOLO, RATES, MENTZ, 2005), sob forma de agliconas livres: isognafalina (SILVA, 1993; SIMÕES, 1984); gnafalina; quercetina (SILVA, 1993; SILVA, 2003; VENDRUSCOLO, RATES, MENTZ, 2005; SIMÕES, 1984); 3-metoxi-quercetina; galangina e seus 3-O-metiléteres (SILVA, 2003; SIMÕES, 1984); luteolina (SILVA, 1993; VENDRUSCOLO, RATES, MENTZ, 2005); 7,4'-dihidroxi-5-O-metiléter; quercetagenina;

tamarixitina; 3,7-dimetoxiquercetina; 5-hidroxi-3,6-7-trimetoxiflavona (almustina); 7-hidroxi-3,5,8-trimetoxiflavona; 3,5,7,8-tetrametoxiflavona; 5,7,8-trimetoxiflavona; 3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona e 3,5-dihidroxi-7,8-dimetoxiflavona (SILVA, 1993). Há também relatos de outros componentes isolados das partes aéreas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (SILVA, 1993): ácido e ésteres cafeico, clorogênico e isoclorogênico (SILVA, 1993; SILVA, 2003; VENDRUSCOLO, RATES, MENTZ, 2005), éster de calerianina, ácido protocatéuico (SILVA, 1993; SILVA, 2003; SIMÕES, 1984), derivado da fenilpirona, kawapirona (SILVA, 1993; SILVA, 2003; SIMÕES, 1984; VENDRUSCOLO, RATES, MENTZ, 2005), minerais e polissacarídeos (SILVA, 1993; SILVA, 2003; VENDRUSCOLO, RATES, MENTZ, 2005), óleos essenciais (VENDRUSCOLO, RATES, MENTZ, 2005), nor-yangonina (SILVA, 2003; SIMÕES, 1984), uma aglicona flavonoídica polihidroxilada não identificada, 7,4'-dihidroxi-5-metoxiflavanona, um glusodídeo desta flavanona e o 7-O-glucosídeo da 3-metoxiquercetina (SIMÕES, 1984).

Com relação ao aspecto quantitativo da composição química do vegetal, Silva (1993) cita que há a predominância de agliconas flavonoídicas, identificando a quercetina e a 3-O-metilquercetina como compostos majoritários das inflorescências de *Achyrocline satureioides*, e que as atividades farmacológicas de extratos de *Achyrocline satureioides* podem estar relacionadas ao teor predominante de compostos fenólicos.

A quercetina e 3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona isolados de extratos acetônicos de folhas secas de *Achyrocline satureioides* mostraram-se ativos frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis* e *Streptococcus faecalis*.

Simões (1984) também cita os constituintes do óleo essencial da “marcela”: α e β -pineno, limoneno, p-cimeno, dihidrocarvona, citronelol e cariofileno. Este mesmo autor cita ainda que a partir de uma extração etanólica inicial, seguida de fracionamento por solventes como éter etílico e metanol e purificação por processos cromatográficos, obtiveram-se compostos polifenólicos. Do extrato etéreo isolaram-se quatro agliconas flavonoídicas: quercetina, 3-metoxiquercetina, luteolina e 7,4'-dihidroxi-5-metoxiflavanona; e um ácido fenólico do tipo cinâmico: ácido cafeico. Do extrato metanólico separaram-se dois heterosídeos flavônicos e uma fração \underline{x} semipurificada, que por dificuldades nos processos

de purificação, teve sua elucidação estrutural parcialmente impedida. Provavelmente, seu componente principal seja uma aglicona flavônica polihidroxilada.

No que diz respeito ao aspecto quantitativo da composição química do vegetal, foi verificada a predominância de agliconas flavonoídicas, tendo sido constatadas em maior quantidade, quercetina e 3-metoxi-quercetina.

Estas diferenças qualitativas e quantitativas são, possivelmente, devidas a variações na composição química do vegetal decorrente do período do ciclo vegetativo no qual foram coletadas as amostras, do tipo do solo, das condições climáticas, ou mesmo por tratar-se de diferentes variedades botânicas ou espécies químicas.

Na amostra analisada de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. por Simões (1984) foi constatada a presença de quatro agliconas flavonoídicas, quercetina, 3-metoxi-quercetina, luteolina e 7,4'-dihidroxi-5-metoxiflavanona; dois heterosídeos flavônicos; um ácido fenólico do tipo cinâmico, o ácido cafeico e uma outra aglicona flavonoídica polihidroxilada não identificada.

Simões, *et al.* (1988) citam que as inflorescências produzem alguns flavonóides, ácidos fenólicos e nor-yangonina, que é uma substância similar a kawapirona, e que das partes aéreas foram isolados sesquiterpenos e derivados da fenilpirona.

2.2.6 Atividade Biológica

Achyrocline satureioides (Lam.) DC. tem ampla utilização na medicina popular do RS, abrangendo uma série de atividades biológicas, como no tratamento de distúrbios do trato gastrointestinal (dores espasmódicas, má digestão, úlceras gástricas), como antiinflamatório, analgésico, antibacteriano, sedativo, (SIMÕES, 1984).

Testes farmacológicos foram realizados para verificar as atividades biológicas dos extratos de *Achyrocline satureioides*, tendo sido relatadas atividade antibacteriana em extratos das sumidades floridas, atividade antiespasmódica em extratos aquosos, alcoólicos e hidroalcoólicos das sumidades floridas e extrato aquoso de folhas/caules, ação inibitória sobre *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* em extrato etanólico das sementes, atividade analgésica em extratos aquosos a frio e a quente e etanólico das inflorescências, atividade antiinflamatória em extratos aquosos a frio e a quente etanólico, hidroalcoólico e

em extrato seco nebulizado das sumidades floridas, efeitos depressores central em extratos aquosos a frio e a quente e etanólico das sumidades floridas, atividade imunoestimulante em extratos aquosos, atividade antiinflamatória em extratos aquosos e alcoólicos de extratos metanólicos das folhas, atividade antiinflamatória tópica em extratos aquosos e alcoólicos das sumidades floridas, atividade antiviral contra vírus herpético tipo 1, rinovírus 14, vírus da poliomielite, da estomatite e vírus da imunodeficiência tipo 1 em extratos aquosos (SILVA, 1993).

Vendruscolo, Rates e Mentz (2005) relatam que dados farmacológicos de diferentes extratos (aquoso, etanólico e hidroalcoólico) e frações purificadas (polissacarídeos e flavonóides) das inflorescências, folhas e caules têm sido extensivamente estudados “*in vitro*” e “*in vivo*”, por diferentes autores, apresentando resultados promissores para as seguintes atividades: antiinflamatória, antiespasmódica e analgésica, colerética, sedativa, imunoestimulante, antiviral, antimicrobiana, hipoglicemiante e antioxidante. Silva (2003) cita também atividades imunomoduladora, tripanomicida e inseticida.

Quanto às propriedades antibióticas, Simões (1984) relata que a quercetina apresentou uma fraca atividade em valores de pH acima de 7,0, e boa atividade antibacteriana em faixa ácida de pH. Em concentrações de 0,075 a 0,10 mg/mL, a quercetina inibiu completamente *Aerobacillus polymyxa*, *Brucella abortus*, *Staphylococcus albus* e *Staphylococcus aureus*, e em uma concentração de 0,15 mg/mL, ela inibiu parcialmente duas cepas de *Streptococcus aerogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. angulata*, *P. tobaci* e *Salmonella oranienburg*. Também cita a atividade antibiótica e várias propriedades do ácido cafeico: atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae* e *Proteus vulgaris*; ação tuberculostática contra *Mycobacterium tuberculosis* “*in vitro*”; atividade fungistática contra *Helminthosporium carbonum* e poder inibitório do crescimento de *Streptomyces scabies*.

Em trabalhos de “screening”, já havia sido indicada atividade antibiótica de extratos de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Com base nos experimentos poder-se-ia explicar a utilização da “marcela” em algumas afecções de origem microbiana e relacionar-se-ia então, esta propriedade com alguns flavonóides que foram dela isolados, como a quercetina, luteolina e galangina (SIMÕES, 1984).

Os extratos das inflorescências foram farmacologicamente avaliados e mostraram atividades antibacteriana, antiespasmódica, antiinflamatória, analgésica e sedativa, e ausência de toxicidade aguda. Folhas e talos têm sido relacionados com a atividade espasmolítica; o óleo essencial das inflorescências é formado fundamentalmente por monoterpenos (SIMÕES *et al.*, 1988).

2.2.7 Atividade Espasmolítica

Simões (1984) relata a atividade espasmolítica dos extratos alcoólico e hidroalcoólico de flores de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., e que a atividade sugerida pelo uso popular e detectada em conjunto com outros pesquisadores nestes seria atribuída à presença dos flavonóides Q e 3MQ, que quando testados isoladamente também apresentaram tal atividade.

A análise cromatográfica destes extratos demonstrou uma presença marcante dos flavonóides quercetina e 3-metoxi-quercetina. Em experimentos realizados “in vitro” com estes dois flavonóides, obtiveram-se resultados positivos no que diz respeito ao antagonismo das contrações produzidas pela acetilcolina (10^9 a 10^{-4} M) em jejuno isolado de rato. Utilizaram-nos nas dose 10^{-4} M (aproximadamente 30 μ g/mL), constatando-se uma atividade antiespasmódica com características farmacológicas semelhantes às observadas com 16,6 μ g/mL do extrato alcoólico de “marcela” nas mesmas condições experimentais. A 3-metoxi-quercetina mostrou-se mais potente do que a quercetina, no sentido de antagonizar a atividade contrátil induzida pela acetilcolina (SIMÕES, 1984).

2.2.8 Toxicidade

Com relação aos ensaios de toxicidade, os extratos aquosos a frio, quente e etanólico das sumidades floridas na concentração de 500mg/kg não provocaram mudanças comportamentais e nem a morte dos animais, até 48 horas após sua administração endovenosa (SILVA, 1993).

Nos ensaios de toxicidade excessiva, Simões (1984) cita que os extratos testados de flores de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. não provocaram mudanças comportamentais

nem morte dos animais, podendo-se assim inferir que estes extratos não representam toxicidade aguda nas condições experimentais utilizadas.

Estes resultados são coincidentes com os dados encontrados na literatura, que apontam até o momento uma baixa toxicidade para os flavonóides em geral, constituindo uma vantagem para seu emprego terapêutico. No entanto, apesar desta aparente ausência de toxicidade aguda ou crônica dos flavonóides em geral, a quercetina apresentou uma atividade mutagênica para bactérias (teste de Ames), o que não constitui necessariamente indicação de danos genéticos em organismos superiores. Substâncias com atividade mutagênica são potencialmente carcinogênicas e por isto estes fatos despertaram atenção e preocupação da comunidade científica, já que a quercetina encontra-se amplamente distribuída no reino vegetal, inclusive em muitos alimentos (SIMÕES, 1984).

2.2.9 Atividade Mutagênica

A atividade mutagênica de extratos de *Achyrocline satureioides* foi realizada para avaliar o risco à saúde humana devido ao seu uso prolongado (SILVA, 1993).

Silva (1993) relata a atividade mutagênica de infuso a 50% (m/v) das inflorescências de marcela foi verificada nas linhagens TA 100, TA 98 e TA 102 de *Salmonella typhimurium* nos testes de Ames, Cromoteste e Induteste. Entretanto a atividade mutagênica ou genotóxica foi somente observada na presença de S9 mix, o que sugere que os flavonóides presentes nos extratos brutos de *Achyrocline satureioides* não possuem atividade mutagênica direta, o que pode ser explicado pela presença dos flavonóides em sua forma pró-mutagênica e/ou pela presença de pequenas quantidades da forma ativa.

Apesar de ter sido observada atividade citológica e antimicrobiana com algumas flavonas e flavonóides, bem como capacidade teratogênica e mutagênica de flavonóides como quercetina e kaempferol em células ovarianas de hamster, os compostos polifenólicos geralmente são inócuos para o homem (SILVA, 1993).

Com relação a quercetina, Silva (1993) cita que há grandes evidências de ação mutagênica em microrganismos com ou sem ativação microssomal.

2.3 Bactérias Causadoras de Zoonoses

2.3.1 Zoonoses

Segundo Wiest (1984), zoonoses são aquelas doenças compartilhadas na natureza pela espécie humana e as espécies animais vertebradas inferiores. A Organização Mundial da Saúde (1966) define-as como aquelas infecções transmitidas naturalmente entre animais vertebrados e o homem (WIEST, 1984).

As zoonoses têm, mundialmente, uma grande importância para a saúde pública e bem-estar da população. Especialmente nos países em desenvolvimento estas doenças ainda registram altas taxas de incidência, mesmo havendo modernas medidas profiláticas e controle de doenças (ACHA, SZYFRES, 1986).

2.3.2 Parede Celular Bacteriana

A parede celular de uma célula bacteriana é uma estrutura complexa, semi-rígida, responsável pela forma da célula. A principal função é prevenir a ruptura das células bacterianas quando a pressão da água dentro da célula é maior que fora dela. Ela também ajuda a manter a forma de uma bactéria e serve como ponto de ancoragem para os flagelos.

As paredes de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas apresentam diferenças marcantes. Bactérias Gram-negativas possuem uma parede composta de várias camadas (CARVALHAL, ALTERTHUM, 2004) de peptidoglicanas (TORTORA, FUNKE, CASE, 2000), que diferem na sua composição química e, conseqüentemente, é mais complexa que a parede das Gram-positivas que, apesar de mais espessa, apresenta predominantemente um único tipo de macromolécula (CARVALHAL, ALTERTHUM, 2004). Esta é a razão pela qual as bactérias gram-positivas são mais sensíveis à penicilina do que as bactérias gram-negativas, que são mais suscetíveis ao rompimento mecânico (TORTORA, FUNKE, CASE, 2000).

O peptidoglicano representa a maior parte da parede das bactérias Gram-positivas, atingindo de 15 a 50% da massa seca da célula, ao passo que nas Gram-negativas não ultrapassa 5%. Além desta macromolécula, encontramos proteínas e ácidos teicóicos que

podem representar até 50% da massa seca da parede (CARVALHAL, ALTERTHUM, 2004).

O conhecimento das diferenças entre as paredes de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas é da mais alta relevância para o estudo dos mecanismos de ação dos quimioterápicos, de patogenicidade e de outros tantos assuntos que estão relacionados diretamente à composição química e estrutura da parede bacteriana (CARVALHAL, ALTERTHUM, 2004).

2.3.3 Bactérias Gram-negativas

2.3.3.1 *Salmonella* Enteritidis

As salmonelas são bacilos Gram-negativos com flagelo peritríquio (OLIVEIRA, 1984; PELCZAR, CHAN, KRIEG, 1996; POPOFF, MINOR, 2005), excetuando-se *S. gallinarum* e *S. pullorum* que são imóveis. São bastonetes curtos, aeróbios (OLIVEIRA, 1984) e facultativamente anaeróbios (OLIVEIRA, 1984; POPOFF, MINOR, 2005), fermentam açúcares produzindo gás; produtores de ácido sulfídrico (OLIVEIRA, 1984).

São membros da família Enterobacteriaceae e estão intimamente relacionados com os gêneros *Escherichia* e *Shigella*. Há uma única espécie no gênero – *Salmonella enterica* -, mas existem mais de 2.000 sorotipos, todos eles patogênicos para o homem e freqüentemente para os animais. Os seres humanos são infectados por salmonelas quase exclusivamente devido ao consumo de água e alimentos contaminados. Elas são largamente distribuídas na natureza, com humanos e animais sendo seu reservatório primário (JAY, LOESSNER, GOLDEN, 2005).

São habitantes comuns do trato intestinal de vários animais, principalmente galinhas e bovinos. Em condições sanitárias precárias, podem contaminar alimentos (TORTORA, FUNKE, CASE, 2000). A matéria fecal animal é de maior importância que a humana, e a pele animal pode ser inicialmente contaminada pelas fezes. A *Salmonella* spp. é mantida na população animal através de infecções em animais não sintomáticos e no alimento animal (JAY, LOESSNER, GOLDEN, 2005).

No homem, as salmonelas causam vários tipos de infecções - as mais comuns são a gastroenterite e a febre tifóide (CAMPOS, 2004) -, que ocorrem através da ingestão de alimentos contaminados por organismos vivos e em grande número. O período de incubação varia de acordo com o número de organismos infectantes (7 horas até vários dias) (OLIVEIRA, 1984).

A transmissão da salmonela para o homem geralmente ocorre pelo consumo de alimentos contaminados, embora a transmissão pessoa a pessoa possa ocorrer, particularmente nos hospitais, ou, ainda, através do contato com animais infectados, principalmente veterinários e trabalhadores de granjas e fazendas. Os produtos alimentícios de origem animal, como carne, leite e ovos, constituem os veículos mais comumente incriminados na transmissão desses microrganismos para o homem. Os ovos podem ser contaminados a partir de rachaduras na casca ou através de infecção transovariana, ou seja, a partir de um ovário ou oviduto infectado, para a gema, antes da deposição da casca. Além disto, a estocagem prolongada dos ovos, a temperaturas variáveis de 18 a 30°C, favorece a multiplicação da bactéria no seu interior. Este modo de transmissão é particularmente difícil de ser controlado, pois as aves geralmente apresentam infecções assintomáticas. Nestes casos, a *Salmonella* Enteritidis tem sido o sorovar mais comumente incriminado, verificando-se, nos últimos anos, um aumento do seu isolamento tanto de material biológico de origem humana como de produtos aviários, em vários países do mundo, inclusive no Brasil (CAMPOS, 2004).

De modo geral, a prevenção das gastroenterites por salmonela tem por base a manipulação e preparo adequado de alimentos, principalmente ovos e carnes de aves (CAMPOS, 2004).

2.3.3.2 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* foi estabelecida como um patógeno de origem alimentar em 1971 quando queijos importados revelaram estar contaminados com uma cepa enteroinvasiva que causou enfermidade em aproximadamente 400 indivíduos em 14 estados americanos.

É uma bactéria pertencente ao gênero Enterobacteriaceae, anaeróbia facultativa e um dos habitantes mais comuns do trato intestinal, e provavelmente o organismo mais familiar da microbiologia. Sua presença na água e nos alimentos também é um importante indicador de contaminação fecal. A *E. coli* não é normalmente considerada patogênica. Entretanto, pode ser uma causa comum de infecções do trato urinário, e certas linhagens produzem enterotoxinas que comumente causam a diarreia do viajante e ocasionalmente causam várias doenças graves de origem alimentar (TORTORA, FUNKE, CASE, 2000).

Além de ser um patógeno importante, a *E. coli* é membro da flora intestinal normal do homem (TRABULSI, ORDOÑEZ, MARTINEZ, 2004), sendo encontrada nas fezes de todos os indivíduos normais (SCHEUTZ, STROCKBINE, 2005; TRABULSI, ORDOÑEZ, MARTINEZ, 2004), e de animais. Em hospedeiros com defesas comprometidas, ela pode ser um excelente patógeno oportunista (SCHEUTZ, STROCKBINE, 2005).

Segundo Scheutz, Strockbine (2005), a *Escherichia* produz ácidos fortes e comumente gás na fermentação da D-glicose (positiva no teste vermelho de metila) e não produz acetilmetilcarbinol (negativo no teste Voges-Proskauer).

A espécie compreende pelo menos cinco categorias de amostras que causam infecção intestinal por diferentes mecanismos, e várias outras especificamente associadas com infecções urinárias, meningites e provavelmente outras infecções extra-intestinais.

Cepas patogênicas de *Escherichia coli* são sorologicamente tipificadas do mesmo modo que outras Enterobacteriaceae. Baseado nas síndromes e nas características da doença, e também nos efeitos em certas culturas celulares e grupos sorológicos, cinco grupos virulentos de *E. coli* são reconhecidos: enteroagregativa (EAEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatogênica (EPEC) e enterotoxigênica (ETEC) (JAY, LOESSNER, GOLDEN, 2005).

2.3.4 Bactérias Gram-positivas

2.3.4.1 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* é um coco Gram-positivo (TRABULSI, TEIXEIRA, BUERIS, 2004; PELCZAR, 1996), catalase positivo (TRABULSI, TEIXEIRA, BUERIS,

2004), disposto em agrupamentos característicos; crescem bem em condições de aerobiose e anaerobiose, mas geralmente não competem bem com outros microrganismos presentes nos alimentos (PELCZAR, 1996; TRABULSI, TEIXEIRA, BUERIS, 2004). Uma vez em alimentos suscetíveis, pode ser esperado que seu crescimento induza a produção de enterotoxinas, causando síndromes severas em humanos, incluindo a gastroenterite alimentar (TRABULSI, TEIXEIRA, BUERIS, 2004).

A síndrome do envenenamento alimentar estafilococal, ou intoxicação alimentar, foi primeiro estudada em 1894 por J. Denys e mais tarde, em 1914, por M. A. Barber, que produziu em si mesmo os sinais e sintomas da doença consumindo leite contaminado com a cultura de *Staphylococcus aureus*.

Embora encontrado com relativa frequência como membro da microbiota normal do corpo humano, o *Staphylococcus aureus* é uma das bactérias patogênicas mais importantes, uma vez que atua como agente de uma ampla gama de infecções, variando desde aquelas localizadas, geralmente superficiais, até algumas disseminadas, com elevada gravidade. Em geral, as doenças causadas por este microrganismo podem ser classificadas como somente superficiais, invasivas ou tóxicas, ou ainda apresentar características mistas, tóxicas e invasivas. Sua importância clínica tem variado ao longo dos anos, tendo crescido particularmente devido ao aumento na ocorrência de infecções hospitalares graves causadas por amostras multirresistentes (TRABULSI, TEIXEIRA, BUERIS, 2004).

As medidas preventivas mais indicadas são as precauções sanitárias durante o preparo de alimentos perecíveis e a refrigeração do alimento a temperaturas inferiores a 6 a 7°C, devendo os alimentos não permanecerem por várias horas à temperatura ambiente antes de serem servidos (PELCZAR, 1996).

2.3.4.2 *Enterococcus faecalis*

Os enterococos constituem um importante grupo de microrganismos que se destacam, cada vez mais, como patógenos oportunistas, cuja biologia e taxonomia têm passado por significativas alterações nos últimos anos.

São cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos, catalase negativos, de maior importância em medicina humana e animal. São microrganismos nutricionalmente

exigentes, mas crescem bem em agar sangue e em caldo nutriente contendo glicose. O arranjo celular característico é em forma de cadeias ou aos pares.

Os enterococos são membros da flora normal do trato intestinal, e são também encontrados nas mucosas de outros tratos, embora em menor concentração. As infecções surgem quando a bactéria se transfere a órgãos ou locais sensíveis. O trato urinário, as feridas, sobretudo as decorrentes de cirurgias, e a corrente circulatória são os locais mais freqüentemente infectados.

É a espécie mais freqüente do gênero *Enterococcus*, compreendendo cerca de 80 a 85% das amostras de enterococos isoladas de material clínico. Ganhou grande proeminência nos últimos anos, porque se tornou um dos agentes mais importantes de infecção hospitalar, com o agravante de ter adquirido resistência à maioria dos antibióticos, incluindo a vancomicina.

O *Enterococcus faecalis* pertence ao grupo D de Lancefield. Cresce bem em agar sangue; desenvolve colônias alfa ou não hemolíticas. Algumas amostras são β -hemolíticas.

Ele é membro da flora normal do trato intestinal, podendo ser também encontrado na mucosa oral e vaginal e na pele. É relativamente freqüente nos alimentos, na água, no solo e no meio ambiente em geral, inclusive no meio hospitalar. Estudos clínicos também têm demonstrado que as infecções mais graves são causadas por amostras produtoras de citolisina. É interessante o fato de que a citolisina expressa atividade, tanto contra células de mamíferos como contra células bacterianas. Neste aspecto, pode ser considerada uma bacteriocina, ativa contra Gram-positivos (estafilococos e estreptococos), mas não contra bactérias Gram-negativas (TEIXEIRA, TRABULSI, 2004).

CAPÍTULO 2

3 ARTIGO CIENTÍFICO

Atividade antibacteriana *in vitro* de inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. – Asteraceae – (“macela”, “marcela”) sobre agentes de interesse em alimentos

MOTA, F.M.¹; CARVALHO, H.H.C²; WIEST, J.M.^{1,2,*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil; ² Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil. * Correspondência: J.M.Wiest – ICTA/UFRGS, Campus do Vale, Avenida Bento Gonçalves, 9500 –Caixa Postal 15090, CEP 91505-970, Porto Alegre – RS/Brasil. E-mail: jmwiest@ufrgs.br

RESUMO

Através de Testes de Diluição em Sistema de Tubos Múltiplos determinou-se *in vitro* atividade antibacteriana em inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. – Asteraceae (“macela”, “marcela”), expressa como Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB / bacteriostasia) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB / bactericidia), a partir de formas de extração etanólica (hidroalcoolaturas) e hídrica (decoctos), sobre inóculos padronizados de *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 11229) e *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076). *Enterococcus faecalis* apresentou a maior sensibilidade, seguido por *Staphylococcus aureus*, enquanto *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia coli* apresentaram-se mais resistentes. Dentre as formas de extração, a hidroalcoolatura apresentou capacidade de inibição e / ou inativação intensa e seletiva frente aos quatro inóculos bacterianos. Os decoctos mostraram-se completamente ineficazes frente às bactérias Gram-negativas, enquanto que as Gram-positivas apresentaram somente bacteriostasia / inibição.

Palavras-chave: *Achyrocline satureioides*, atividade antibacteriana, inibição bacteriana, inativação bacteriana.

ABSTRACT: *“In vitro” antibacterial activity of inflorescences of Achyroclines satureioides (Lam.) DC. – Asteraceae – (“macela”, “marcela”) on agents of interest in food.*

Dilutions Tests in Multiple Tubes System were used to establish the antibacterial activity “in vitro” of inflorescences of Achyroclines satureioides (Lam.) DC. – Asteraceae – (“macela”, “marcela”), from ethanolic extracts (hydroalcoholics) and hydric (decoction) on pattern bacterial suspension such as Enterococcus faecalis (ATCC 19433), Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Escherichia coli (ATCC 11229) and Salmonella Enteritidis (ATCC 11076) expressed as Intensity Activity of Bacterial Inhibition (IINIB) and Intensity Activity of Bacterial Inactivation (IINAB). The mentioned extract showed to be more sensibility with Enterococcus faecalis, followed by Staphylococcus aureus, however Salmonella Enteritidis and Escherichia coli showed to be more resistant. Behind the extraction forms, the hydroalcoholic extract presented intense and selective inhibition and / or inactivation capacity in relation of the four agents. However the hydroalcoholic extract presented better antibacterial activity intensity (inhibition / inactivation) in relation of the four bacterial suspensions. Decoctions showed to be completely without capacity in front of the Gram-negatives bacterias, on the other hand the Gram-positive the bacteriostasy / inhibition were observed.

Key words: *Achyrocline satureioides*, antibacterial activity, bacterial inhibition, bacterial inactivation

INTRODUÇÃO

O uso das espécies vegetais, com fins de tratamento de doenças e seus sintomas, remonta ao início da civilização, desde o momento em que o homem despertou para a

consciência e começou um longo percurso de manuseio, adaptação e modificação dos recursos naturais para seu próprio benefício (Di Stasi, 1996).

Considerando as inúmeras transformações decorrentes da evolução humana, destacando, conseqüentemente, a degradação ambiental com a escassez de recursos naturais, Schenkel et al. (2003) afirmam que as plantas medicinais e seus extratos hoje representam uma das alternativas entre as diversas fontes de insumos necessários à existência da sociedade, tendo como principal vantagem o fato de ser uma fonte renovável e, em grande parte, controlável pelo gênero humano.

Achyrocline satureioides (Lam.) DC. é uma planta pertencente à família Asteraceae, popularmente denominada “marcela” ou mesmo “macela”. Lorenzi & Matos (2002) relatam que *Achyroclines satureioides* apresenta cientificamente sinônimos como *Achyrocline candicans* (Kunth) DC., *Achyrocline flaccida* DC., *Gnaphalium satureioides* Lam., *Gnaphalium candicans* Kunth, sendo conhecida também pelos nomes comuns de “macela”, “alecrim-de-parede”, “camomila-nacional”, “macela-amarela”, “macela-da-terra”, “macela-do-campo”, “macela-do-sertão”, “macelinha”, “marcela”, “marcela-do-campo”, dentre outros. Segundo Simões (1984) nos países vizinhos ao nosso é conhecida por “macela galega”, “marcella hembra”, “marcelita” e “yatei-caá” (em Tupi-guarani).

Silva (1993) relata sobre a ação biológica de compostos da “macela”: que a quercetina e a rutina vêm sendo utilizadas como constituintes de vários produtos farmacêuticos usados para o tratamento da fragilidade capilar e fleboesclerose; que quercetina, rutina, kaempferol-3-rhamnoglucose e luteolina demonstraram atividade diurética; que quercetina, luteolina e kaempferol e 3-O-metilquercetina apresentaram atividade antiespasmódica em musculatura lisa de ratos e cobaios; que o ácido cafeico e ácido protocatéquico também mostraram atividade antiespasmódica na musculatura lisa de ratos; que a quercetina, luteolina e 3-O-metilquercetina mostraram atividade antiinflamatória; que a luteolina mostrou atividade hipocolerética; que a quercetina mostrou atividade viricida a uma concentração de 100µg/mL em linhagens humanas e suínas de herpesvírus da parainfluenza; que a 3-O-metilquercetina e derivados apresentam atividade contra picornavírus e vírus da estomatite vesicular, sendo potentes compostos antipoliiovírus. Este autor relacionou também aos compostos flavonoídicos, principalmente

as 3-O-metilflavonas, a atividade antiviral do extrato aquoso de sumidades floridas de marcela.

Silva (1993) relata a existência de atividade antiespasmódica em extratos alcoólicos e hidroalcoólicos, elaborados a partir das sumidades floridas de *Achyrocline satureioides* e que o extrato alcoólico foi capaz de reduzir os efeitos máximos da noradrenalina e cloreto de bário, evidenciando a capacidade de exercer um efeito espasmolítico sobre a musculatura lisa genital de ratos, bem como que a partir de experimentos realizados em jejuno de rato, ducto deferente e útero de rata foram evidenciadas atividades colenolítica e miorrelaxante do extrato aquoso de folhas/caules de *Achyrocline satureioides*, justificando o uso popular do infuso como antiespasmódico.

Os extratos aquosos a frio e a quente, bem como o extrato etanólico a frio de flores de “marcela”, apresentaram atividade antiinflamatória, no modelo de inibição do edema das patas dos ratos produzido por carragenina. Os flavonóides quercetina, 3-metoxi-quercetina e luteolina também apresentaram atividade antiinflamatória, no modelo de inibição do edema das patas dos ratos produzido por carragenina. Os extratos aquosos a frio e a quente e extrato etanólico a frio de flores de “marcela”, apresentaram ação analgésica, no modelo de inibição dos estiramentos abdominais produzidos por injeção intraperitoneal de uma solução de ácido acético, em camundongos. O extrato aquoso a quente de flores de “marcela” apresentou ação sedativa central, no modelo de potenciação do sono barbitúrico induzido pelo pentobarbital sódico, em camundongos.

Os extratos aquosos a frio e a quente e extrato etanólico a frio de flores de “marcela”, não provocaram mudanças comportamentais nem mortes de animais de experimentação, até 48 horas após sua administração via endovenosa (Simões, 1984).

Quanto aos aspectos químicos, diversos estudos a respeito da composição química de *Achyrocline satureioides* têm sido desenvolvidos. Em geral, os estudos são efetuados com as inflorescências, mas a composição química das folhas e caules também tem sido objeto de estudos. Os constituintes químicos até agora identificados são flavonóides (Silva, 1993; Vendruscolo et al., 2005), sob forma de agliconas livres: isognafalina (Silva, 1993; Simões, 1984); gnafalina; quercetina (Silva, 1993; Silva, 2003; Vendruscolo et al., 2005; Simões, 1984); 3-metoxi-quercetina; galangina e seus 3-O-metiléteres (Silva, 2003; Simões, 1984); luteolina (Silva, 1993; Vendruscolo et al., 2005); 7,4'-dihidroxi-5-O-

metiléter; quercetagenina; tamarixitina; 3,7-dimetoxiquercetina; 5,7,8-trimetoxiflavona; 5-hidroxi-3,6-7-trimetoxiflavona (almustina); 7-hidroxi-3,5,8-trimetoxiflavona; 3,5,7,8-tetrametoxiflavona; 3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona e 3,5-dihidroxi-7,8-dimetoxiflavona (Silva, 1993). Há também relatos de outros componentes isolados das partes aéreas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Silva, 1993): ácido e ésteres cafeico, clorogênico e isoclorogênico (Silva, 1993; Silva, 2003; Vendruscolo et al., 2005), éster de calerianina, ácido protocatéquico (Silva, 1993; Silva, 2003; Simões, 1984), derivado da fenilpirona, kawapirona (Silva, 1993; Silva, 2003; Simões, 1984; Vendruscolo et al., 2005), minerais e polissacarídeos (Silva, 1993; Silva, 2003; Vendruscolo et al., 2005), óleos essenciais (Vendruscolo et al., 2005), nor-yangonina (Silva, 2003; Simões, 1984), uma aglicona flavonoídica polihidroxilada não identificada, 7,4'-dihidroxi-5-metoxiflavanona, um glusodídeo desta flavanona e o 7-O-glucosídeo da 3-metoxi-quercetina (Simões, 1984).

Com relação ao aspecto quantitativo da composição química do vegetal, Silva (1993) cita que há a predominância de agliconas flavonoídicas, identificando a quercetina e a 3-O-metilquercetina como compostos majoritários das inflorescências de *Achyrocline satureioides*, e que as atividades farmacológicas de extratos de *Achyrocline satureioides* podem estar relacionadas ao teor predominante de compostos fenólicos.

A quercetina e 3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona isolados de extratos acetônicos de folhas secas de *Achyrocline satureioides* mostraram-se ativos frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis* e *Streptococcus faecalis* (Silva, 1993).

Lemos et al. (2000) pesquisando especificamente a atividade bactericida de inflorescências de macela (*Achyrocline satureioides*) demonstraram atividade bacteriana em extratos hexânico e clorofórmico sobre oito cepas de *Staphylococcus aureus* isolados de leites mamáticos subclínicos.

Simões (1984) cita também os constituintes do óleo essencial da “marcela”: α e β -pineno, limoneno, p-cimeno, dihidrocarvona, citronelol e cariofileno. Este mesmo autor cita ainda que a partir de uma extração etanólica inicial, seguida de fracionamento por solventes como éter etílico e metanol e purificação por processos cromatográficos, obtiveram-se compostos polifenólicos. Do extrato etéreo isolaram-se quatro agliconas flavonoídicas: quercetina, 3-metoxi-quercetina, luteolina e 7,4'-dihidroxi-5-metoxiflavanona; e um ácido fenólico do tipo cinâmico: ácido cafeico. Do extrato metanólico separaram-se dois

heterosídeos flavônicos e uma fração x semipurificada, que por dificuldades nos processos de purificação, teve sua elucidação estrutural parcialmente impedida. Provavelmente, seu componente principal seja uma aglicona flavônica polihidroxilada.

No que diz respeito ao aspecto quantitativo da composição química do vegetal, foi verificada a predominância de agliconas flavonoídicas, tendo sido constatadas em maior quantidade, quercetina e 3-metoxi-quercetina (Simões, 1984).

Estas diferenças qualitativas e quantitativas são, possivelmente, devidas a variações na composição química do vegetal decorrente do período do ciclo vegetativo no qual foram coletadas as amostras, do tipo do solo, das condições climáticas, ou mesmo por se tratarem de diferentes variedades botânicas ou espécies químicas (Simões, 1984).

Na amostra analisada de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (“marcela”) por Simões (1984) foi constatada a presença de quatro agliconas flavonoídicas, quercetina, 3-metoxi-quercetina, luteolina e 7,4'-dihidroxi-5-metoxiflavanona; dois heterosídeos flavônicos; um ácido fenólico do tipo cinâmico, o ácido cafeico e uma outra aglicona flavonoídica polihidroxilada não identificada.

Simões, et al. (1988) citam que as inflorescências produzem alguns flavonóides, ácidos fenólicos e nor-yangonina, que é uma substância similar a kawapirona, e que das partes aéreas foram isolados sesquiterpenos e derivados da fenilpirona.

Considerando a utilização medicinal da macela pela população do Rio Grande do Sul e os diferentes estudos científicos da ação biológica desta planta, o presente trabalho se propõe determinar a atividade antibacteriana *in vitro* de extratos etanólico (hidroalcoólaturas com evaporação do etanol em sistema de rota-vapor e posterior reconstituição hídrica sob assepsia) e hídrico (decoctos com e sem reconstituição hídrica posterior) em inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. – Asteraceae – (“macela”, “marcela”), expressa como IINIB (Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana / bacteriostasia) e IINAB (Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana / bactericidia) sobre bactérias de interesse em alimentos como *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 11229) e *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076). Manipulam-se, em síntese, as variáveis: bactérias Gram-negativas e positivas, as formas de extração das soluções conservantes, os tempos de confrontação e a presença ou ausência de desinibidores bacterianos, permanecendo

constante a concentração final das várias soluções conservantes contendo as diferentes formas de extração.

Pretende-se ainda, neste trabalho, avaliar cientificamente a utilização da planta como sistema antimicrobiano natural, fundamentando sua aplicação em ações básicas de saúde e alimentação, a partir da validação de saberes e fazeres locais relacionados ao cuidado em saúde.

MATERIAL E MÉTODOS

No presente trabalho foram utilizadas inflorescências desidratadas de *Achyrocline satureioides* adquiridas de J.V.B. Chas e Temperos Gravataiense[®], Gravataí, Região Metropolitana de Porto Alegre / RS, constituindo-se de um “pool” de matéria prima fornecida por produtores estabelecidos no estado do RS a esta empresa do ramo fitoterápico. Este material de estudo foi identificado botanicamente pela bióloga Silvia Maria Marodin (CRBioRS - 17268) a partir de literatura taxonômica e de confrontações com exsicatas anteriormente depositadas no Herbário do Instituto de Biociências / Departamento de Botânica da UFRGS, Porto Alegre / RS, Brasil.

As diferentes formas de extração das inflorescências de macela para a determinação de atividade antibacteriana foram processadas segundo Farmacopéia Brasileira (1959) e Avancini (2002) e denominadas soluções conservantes ou antibacterianas. Para a obtenção da forma de extração hidroalcoólica partiu-se de álcool etílico de cereais à 75° GL, na proporção de 100 g de planta seca para 1000 mL de álcool. Em um prazo não inferior a 15 dias, este extrato foi submetido à destilação fracionada sob pressão reduzida em sistema rota-vapor, desprezando-se a porção alcoólica com posterior reidratação asséptica do concentrado final, reestabelecendo-se assim as concentrações iniciais da planta seca no extrato vegetal. Para obtenção dos extratos aquosos ou decoctos, foram processadas inflorescências secas na proporção de 100 g de planta para 1000 mL de água destilada estéril, durante quinze minutos em aquecedor de refluxo, com reconstituição ou não do volume evaporado através de água destilada estéril. Fez-se controle de esterilidade de todos os extratos estudados, retirando-se alíquotas de 5 mL, semeada em tubos de Caldo BHI

(Brain Heart Infusion, OXOID), incubados aerobiamente à 37° C por até 48 horas, confirmando-se os resultados por plaqueamento em Agar Nutriente (Nutrient Agar, OXOID).

As formas de extração hidroalcoólicas e por decocção, de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. – Asteraceae – (“macela”, “marcela”), foram confrontados com amostras de bactérias padrões da American Type Culture Collection (ATCC), sendo duas Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923); e *Enterococcus faecalis* (ATCC 19.433), e duas Gram-negativas: *Escherichia coli* (ATCC 11.229) e *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11.076), provenientes da coleção - bacterioteca do Laboratório de Higiene do Instituto de Ciências e Tecnologia dos Alimentos / UFRGS, mantidas em meios nutriente (*Nutrient Agar*, OXOID e *BHI-Agar*, OXOID), reativadas em infusão de cérebro e coração (BHI, OXOID) à 36°C por 18 a 24 horas de incubação aeróbia, atingindo no mínimo $1,0 \times 10^8$ UFC/mL, para posterior confrontação com as soluções conservantes, devidamente fracionadas através de diluições seriais logarítmicas / concentrações bacterianas, controladas biometricamente segundo Cavalli-Sforza (1974).

Para avaliação da atividade antibacteriana das soluções conservantes contendo as diferentes formas de extração do “pool” de inflorescências de *Achyrocline satureioides*, lida como Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB / bacteriostasia) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB / bactericidia), utilizou-se os Testes de Diluição segundo Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft / Sociedade Alemã de Medicina Veterinária (DVG, 1980), com base na Técnica do Sistema de Tubos Múltiplos, modificada por Avancini (2002), confrontando as soluções conservantes com oito ou mesmo nove diluições seriais logarítmicas (10^1 a 10^8 ou 10^9 Unidades Formadoras de Colônias por Mililitro – UFC / mL) dos inóculos bacterianos, na dependência da concentração atingida às 24 horas de incubação, durante sua ativação a partir da bacterioteca.

Entende-se por IINIB (bacteriostasia), o resultado do confronto da bactéria com a solução conservante em meio específico, e por IINAB (bactericidia), o mesmo resultado, porém sob a influência dos desinibidores bacterianos acrescidos ao BHI (DVG, 1980; Andrade & Macedo, 1996; Reybrouck, 1979, 1998). São, segundo Avancini (2002),

representações da atividade biológica inibitória / bacteriostasia ou inativadora / bactericidia de diferentes soluções antibacterianas ou conservantes, sobre os microrganismos.

Os resultados de IINIB / bacteriostasia e IINAB / bactericidia foram representados por variáveis ordinais arbitrárias, que assumiram valores de 11 a 2, indicando a intensidade da atividade antibacteriana, como demonstra a Tabela 1.

Tabela 1 - Representação dos valores ordinais arbitrários de intensidade de atividade atribuídos às variáveis Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana / bacteriostasia (IINIB) e de Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana / bactericidia (IINAB) e suas correspondentes diluições e doses infectantes dos inóculos.

11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Variáveis ordinais de intensidade de atividade
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}		UFC/mL – diluições dos inóculos inibidas ou inativadas
10^8	10^7	10^6	10^5	10^4	10^3	10^2	10^1	1	n.a.	UFC/mL – doses infectantes inibidas ou inativadas

n.a = ausência de atividade antibacteriana

UFC/mL = Unidades Formadoras de Colônias por mililitro

A avaliação dos resultados obtidos das variáveis de IINIB e de IINAB para as diferentes formas de extração de macela confrontadas *in vitro* com os agentes bacterianos foi verificada através de análise estatística descritiva e análise de variância, com complementação pelo Teste de Tukey segundo Cavalli-Sforza (1974).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 2 - Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB / bacteriostasia) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB / bactericidia) produzida por diferentes formas de extração de inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (“macela”), na concentração de 50%, sobre inóculos bacterianos padrões, em até 144 horas de incubação aeróbia à 37°C, média de três repetições independentes.

Forma de Extração	Tempo (hora)	Bactérias ATCC / Desinibidores							
		S.a.		E.f.		S.E.		E.c.	
		IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB
Hidroalcololatura	24	10,33	8,00*	10,33	10,33	11,00	9,67	10,00	10,00
		ABe		Ae		Be		Be	
	48	10,33	8,67*	10,33	10,33	11,00	11,00	10,00	10,00
		ABe		Ae		Be		Be	
	72	10,33	9,33*	10,33	10,33	11,00	11,00	10,00	10,00
	ABe		Ae		ABCe		BCe		
	144	10,33	9,33*	10,33	10,33	11,00	11,00	10,00	10,00
		Ae		Ae		Be		Be	
Média	F	10,186							
Decocto com reconstituição	24	5,00	2,00*	10,00	2,00*	2,00	2,00	2,00	2,00
		ABe		Ae		Be		Be	
	48	5,00	2,00*	10,00	2,00*	2,00	2,00	2,00	2,00
		ABe		Ae		Be		Be	
	72	6,00	2,00*	10,00	2,00*	2,00	2,00	2,00	2,00
	ABe		Ae		Be		Be		
	144	7,00	2,00*	10,00	2,00*	2,00	2,00	2,00	2,00
		ABe		Ae		Be		Be	
Média	G	3,468							
Decocto sem reconstituição	24	8,00	2,00*	10,00	2,00*	2,00	2,00	2,00	2,00
		Ae		Ae		Be		Be	
	48	9,00	2,00*	10,00	2,00*	2,00	2,00	2,00	2,00
		Ae		Ae		Be		Be	
	72	9,00	2,00*	10,00	2,00*	2,00	2,00	2,00	2,00
	Ae		Ae		Be		Be		
	144	10,00	2,00*	10,00	2,00*	2,00	2,00	2,00	2,00
		Ae		Ae		Be		Be	
Média	H	3,875							

E.f. = *Enterococcus faecalis*

S.E. = *Salmonella* Enteritidis

E.c. = *Escherichia coli*

S.a. = *Staphylococcus aureus*

IINIB = sem desinibidor / bacteriostasia

IINAB = com desinibidor / bactericidia

- letras maiúsculas (A, B, C) diferentes na mesma linha representam diferença significativa analisando a resposta das quatro bactérias frente às diferentes formas de extração, independente do tempo de atuação e da presença ou ausência de desinibidores bacterianos;

- letra minúscula (e) igual na mesma coluna indica que não há diferença significativa quando analisados os tempos de exposição, independente da bactéria, da presença ou ausência de desinibidores bacterianos e da forma de extração;
- letras maiúsculas (F, G, H) diferentes na mesma coluna representam diferença significativa entre os três tipos de extração, independente do tempo de exposição, da bactéria e da presença ou ausência de desinibidores bacterianos;
- a presença de (*) sobrescrito na mesma linha indica que há diferença significativa entre presença e ausência de desinibidores bacterianos especificamente na bactéria em teste.

Em relação à Tabela 2, o teste de Tukey referente às quatro bactérias demonstrou ser o *Enterococcus faecalis* o agente mais sensível à forma de extração hidroalcoólica, seguido pelo *Staphylococcus aureus*, enquanto a *Salmonella* Enteritidis e a *Escherichia coli* apresentaram-se mais resistentes a esta solução conservante, não havendo diferença significativa entre si ($p > 0,05$). Verifica-se ainda diferença significativa entre os quatro inóculos bacterianos confrontados ($p < 0,05$) independentemente dos tempos de exposição e presença ou ausência de desinibidores bacterianos. Independente dos inóculos desafiados, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tempos de exposição, diferença que se manteve considerando-se cada um dos inóculos, especificamente. Independentemente de bactéria houve diferença significativa ($p < 0,05$) de resultados de IINIB e IINAB (ausência ou presença de desinibidores bacterianos), mas considerando-se a especificidade bacteriana houve diferença entre *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* ($p < 0,05$), não havendo significância entre *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia coli*. Considerando, por sua vez, as diferentes formas de extração, frente a todos os inóculos, houve diferença significativa ($p < 0,05$); a extração por hidroalcoólatura apresentou diferença significativa quando relacionada aos dois tipos de decocto ($p < 0,05$), embora estes últimos (com e sem reconstituição hídrica sob assepsia) não apresentaram diferença entre si ($p > 0,05$).

Os resultados permitem concluir, nas condições do experimento, que as soluções conservantes a partir das diferentes formas de extração das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. – Asteraceae –, apresentaram eficácia bacteriostática e bactericida diferenciadas, sendo que a hidroalcoólatura apresentou capacidade de inibição e / ou inativação intensa e seletiva frente aos quatro inóculos bacterianos, enquanto que os decoctos mostraram-se completamente ineficazes frente às bactérias Gram-negativas, e as Gram-positivas, somente bacteriostasia / inibição. Independente da forma de extração, do tempo de confrontação e da presença ou ausência dos desinibidores, *Enterococcus faecalis*

apresentou a maior sensibilidade, seguido por *Staphylococcus aureus*, enquanto *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia coli* apresentaram-se mais resistentes. Estes resultados coincidem aos de Silva (1993) e aos de Lemos et al. (2000) em relação às bactérias Gram-positivas apresentarem-se mais sensíveis. Dorman & Deans (2000), entretanto, embora trabalhando com óleos essenciais de plantas diferentes, afirmam que os agentes Gram-positivos apresentam maior tendência de resistência a extratos vegetais.

A pesquisa da atividade antimicrobiana em plantas com indicativos medicinal, condimentar ou alimentar, dentro do princípio da triagem com droga crua, vem merecendo ênfase, demonstrada por autores como: Avancini (2002) avaliando 36 plantas com indicativo etnográfico medicinal da Mata Atlântica residual em Porto Alegre, com ênfase à escadinha ou sinapismo (*Hypericum caprifoliatum*); Carvalho et. al. (2005) envolvendo bacteriostasia e bactericidia de 32 plantas com indicativo condimentar; Sousa & Wiest (2007) pesquisando especificamente bacteriostasia e bactericidia de garupá (*Aloysia gratissima*); Santos et al. (2007) investigando a atividade antimicrobiana do látex da mangabeira (*Hancomia speciosa*), bem como Alvarenga et al. (2007) testando atividade antimicrobiana de extratos vegetais em bactérias patogênicas humanas.

Nas condições do experimento, os resultados permitem concluir, outrossim, que *Achyroclines satureioides*, a “macela”, apresenta potencialidades quanto à atividade antibacteriana com vistas a sua aplicação em ações básicas no cuidado em saúde, uma vez consideradas as formas de extração, a concentração das soluções conservantes ou antibacterianas e os próprios agentes causais envolvidos, entre outros fatores.

AGRADECIMENTO

Ao CNPq, pelo apoio e financiamento continuados.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALVARENGA, A.L.; SCHWAN, R.F.; DIAS, D.R.; SCWAHN-ESTRADA, K.R.F.; BRAVO-MARTINS, C.E.C. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.9, n.4, p. 86-91, 2007.

ANDRADE, N.J.; MACEDO, J.A.B. **Higienização na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela, 1996. 182p.

AVANCINI, C.A.M. **Saneamento aplicado em saúde e produção animal: etnografia, triagem da atividade antibacteriana de plantas nativas do 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**. 2002. 309f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

CARVALHO, H.H.C.; CRUZ, F. T.; WIEST, J.M. Atividade antibacteriana de plantas com indicativo etnográfico condimentar em Porto Alegre, RS/Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.7, n.3, p.25-32, 2005.

CAVALLI-SFORZA, L. **Biometrie Grundzüge biologisch-medizinische Statistik**. Stuttgart: Gustav Fisher, 1974.

DI STASI, L.C. **Conceitos básicos na pesquisa de plantas medicinais**. In: DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: arte e ciência – um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996. p. 23-27.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils. **Journal Applied Microbiology**, v.88, n.2, p.308 – 16, 2000.

DVG (Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft / Sociedade Alemã de Medicina Veterinária) **Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin (Normas para a testagem de desinfetantes químicos para a medicina veterinária)**. In: SCHLIESSER, T.; STRAUCH, D. **Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch und Milchwirtschaft (Desinfecção na produção animal, em laticínios e em frigoríficos)**. Stuttgart: Enke Verlag, 1980. 455p.

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

LEMOS, G.C.S.; OLIVEIRA, L.O.; EBERLI, B.M.; OLNEY, V.; FOLLY, M.M. Bacterial activity of macela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.) against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis. **Brazilian Journal of Medicinal Plants**, v.3, n.1, p.67-72, 2000.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas, exóticas, cultivadas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. p. 131.

REYBROUCK, G. Efficacy of inactivators against 14 disinfectant substances. **Bakteriologie und Hygiene: Abt. Orig. B**, v. 69, p.480-492, 1979.

REYBROUCK, G. The testing of disinfectants. **International Biodeterioration and Biodegradation**. Oxford, v.41, p. 269-272, 1998.

SANTOS, P.O.; BARBOSA JUNIOR, A.M.; MELO, D.L.F.M.; TRINDADE, R.C. Investigação da atividade antimicrobiana do látex da mangabeira (*Harcomia speciosa* GOMES). **Brazilian Journal of Medicinal Plants**, v.9, n.2, p.108-111, 2007.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. **Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos**. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. de; MENTZ, L. A.;PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ªed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2003. p. 373.

SILVA, D.M. **Desenvolvimento de forma farmacêutica semi-sólida contendo extrato padronizado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Asteraceae**. 2003. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SILVA, L. F. **Estudo da potência antiespasmódica de extratos hidroalcoólicos 80% (v/v) de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. e *Achyrocline vauthieriana* D.C. Asteraceae (Marcela)**. 1993. 124f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

SIMÕES, C.M.O. **Investigação químico-farmacológica de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C., Compositae (“Marcela”)**. 1984. 186f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 2.ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1988. 173p.

SOUZA, A.A.; WIEST, J.M. Atividade antibacteriana de *Aloysia gratissima* (Gill et Hook) Tronc. (“garupa”, “erva-santa”) usada na medicina tradicional no Rio Grande do Sul – Brasil. **Brazilian Journal of Medicinal Plants**, v.9, n.3, p.23-29, 2007.

VENDRUSCOLO, G.S.; RATES, S.M.K.; MENTZ, L.A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. João Pessoa, PB: UFPB-CNPq-CRFRJ, v. 15, n. 4, p. 361-372, out.-dez. 2005.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2.ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 1986. 989p.

ALMEIDA, M.Z. **Plantas medicinais**. 2.ed. Salvador: EDUFBA, 2003, 216p.:il.

AMOROZO, M.C.M. A abordagem etnobotânica na pesquisa de plantas medicinais. In: DI STASI, L.C. (org.). **Plantas medicinais: arte e ciência – um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996. p. 47.

AVACINI, C.A.M. **Sanidade animal na agroecologia** – atitudes ecológicas de sanidade animal e plantas medicinais em Medicina Veterinária. Porto Alegre: Fundação Gaia e Centro Agrícola Demonstrativo da Prefeitura Municipal de Porto Alegre, 1994. 46p.

AVACINI, C.A.M. **Desinfecção em saúde e produção animal: bacteriostasia e bacteriocidia de *Baccharis trimera* L. (Less) D.C. – Compositae – (“carqueja”) frente a microrganismos entéricos e cutâneos**. 1995. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, 1995.

AVACINI, C.A.M. **Saneamento aplicado em saúde e produção animal: etnografia, triagem da atividade antibacteriana de plantas nativas do 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**. 2002. 309f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – UFRGS. Porto Alegre.

BRASIL. Lei nº 11.858. Disponível em:

http://www.al.rs.gov.br/legis/MO10/MO100099.ASP?Hid_Tipo=TEXTO&Hid_Todas Acesso em: 21/10/2007

CARVALHAL, M.L.; ALTERTHUM, F. Morfologia e estrutura da célula bacteriana. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2004. 718p. cap. 2, p. 7.

CAMPOS, L.C. Salmonella. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2004. cap. 43, p. 319.

CASTRO, L.O; CHEMALE, V.M. **Manual de identificação e cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. Porto Alegre: IPAGRO / CIENTEC, 1993. 79p.: il. p. 32.

CAVALLI-SFORZA, L. **Biometrie: Grundzüge biologisch-medizinische Statistik**. Stuttgart: Gustav Fisher, 1974.

DI STASI, L.C. Conceitos básicos na pesquisa de plantas medicinais. In: _____. **Plantas medicinais: arte e ciência – um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996. p. 23-27.

DVG (Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft / Sociedade Alemã de Medicina Veterinária) Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin (Normas para a testagem de desinfetantes químicos para a medicina veterinária). In: SCHLIESSER, Th.;

STRAUCH, D. **Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch und Milchwirtschaft** (Desinfecção na produção animal, em laticínios e em frigoríficos). Stuttgart: Enke Verlag, 1981. 455p.

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

FERRO, D. **Fitoterapia**: conceitos clínicos. São Paulo: Atheneu, 2006.

GIROLOMETTO, G. **Avaliação da atividade antibacteriana de extratos de *Ilex paraguariensis* A. St. Hill (“erva-mate”) frente a bactérias zoonóticas em saúde e produção animal**. 2005. 71f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, 2005.

GUERREIRO, M.G. *Staphylococcus* In: GUERREIRO, M.G. *et al.* **Bacteriologia especial**: com interesse em saúde pública e saúde animal. Porto Alegre: Sulina, 1984.

HEEMANN, A.C.W.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D. Revisão do gênero *Pterocaulon* – aspectos fitoquímicos e atividades biológicas. In: **Visão Acadêmica**. Curitiba, v. 5, n. 1, p. 53 - 60, Jan. – Jun./ 2004. Disponível em: <http://www.calvados.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/academica/article/viewFile/543/456>. Acesso em: 26/04/2006

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E.F.; VIEIRA, P.C. A importância das plantas medicinais. In: _____. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EdUFScar, 2003. 152p.: il. cap.1, p. 9-42, cap. 2, p. 43-58.

JAY, J.M.; LOESSNER, M.J.; GOLDEN, D.A. Foodborne Gastroenteritis caused by *Escherichia coli*. In: _____. **Modern food microbiology**. 7.ed. New York, USA: Springer, 2005. cap. 27, p. 637.

JAY, J.M.; LOESSNER, M.J.; GOLDEN, D.A. Staphylococcal Gastroenteritis. In: _____. **Modern food microbiology**. 7th ed. New York, USA: Springer, 2005. cap. 23, p. 545.

LAMATY, G. *et al.* The chemical composition of some *Achyrocline satureioides* and *Achyrocline alata* oils from Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, Estados Unidos, v. 3, p. 317-321: tab., set.-out. 1991.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. p. 131.

LOPES, R. *et al.* Screening in vitro do efeito anticâncer de espécies de Asteraceae. In: Salão de Iniciação Científica, 13, 2001, Porto Alegre. **Livro de Resumos**, Porto Alegre: UFRGS-PROPESQ, 2001. p. 245.

MATZENBACHER, N.I. Diversidade florística dos campos sulbrasileiros: Asteraceae. In: Desafios da botânica no novo milênio: inventário, sistematização e conservação da diversidade vegetal. CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 54, 2003, Belém. **Anais**. Belém: MPEG, UFRA, EMBRAPA, Brasil / Museu Paraense Emílio Goeldi, 2003, p. 124.

OLIVEIRA, S.J. Salmonella. In: GUERREIRO, M.G. *et al.* **Bacteriologia especial**: com interesse em saúde animal e saúde pública. Porto Alegre: Sulina, 1984, cap. 14, p. 162-177.

OMS (Organizacion Mundial de la salud). **Alma-Ata 1978: Atención Primária de Salud**. Genebra. OMS, série Saúde para todos, n. 1, 1978. 3-4p.

PELCZAR Jr., M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia**: conceitos e aplicações. 2.ed. São Paulo: Makron Books do Brasil, 1996. v.2: il.

CORRÊA, M. P. Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1974. v.6:il.

POPOFF, M.Y.; MINOR, L.E. Salmonella. In: BRENNER, D.J.; KRIEG, N.R.; STALEY, J.T. (editors). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2.ed. Michigan, USA: Springer, 2005. vol. 2, part B, p. 587

SILVA, D.M. **Desenvolvimento de forma farmacêutica semi-sólida contendo extrato padronizado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Asteraceae**. 2003. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, UFRGS, Porto Alegre, 2003.

SILVA, L. F. **Estudo da potência antiespasmódica de extratos hidroalcoólicos 80% (v/v) de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. e *Achyrocline vauthieriana* D.C. Asteraceae (Marcela)**. 1993. 124f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, UFRGS, Porto Alegre, 1993.

SIMÕES, C.M.O. **Investigação químico-farmacológica de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C., Compositae (“Marcela”)**. 1984. 186f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, UFRGS, Porto Alegre, 1984.

SIMÕES, C.M.O. *et al.* Analisis de flavonoides de “*Achyrocline satureioides*” (Lam.) D.C., Compositae. In: SAFYBI. Buenos Aires, v.28, n. 77(out. 1988), p. 2626-2630: graf.

SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 2.ed. Porto Alegre: editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1988. 173p.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C.M.O. (org.), *et al.* **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 5ªed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2003. p.373

SCHEUTZ, F.; STROCKBINE, N.A. Escherichia. In: BRENNER, D.J.; KRIEG, N.R.; STALEY, J.T. (editors). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2.ed. Michigan, USA: Springer, 2005. vol. 2, part B, p. 607.

SOUZA, A. A. **Aspectos etnobiológicos e avaliação da atividade antibacteriana da *Aloysia gratissima* (Gill et Hook) Tronc. (“garupa”, “erva santa”) sobre agentes de importância em saúde e produção animal**. 2005. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, 2005.

TEIXEIRA, L.M.; TRABULSI, L.R. *Enterococcus faecalis*. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2004. cap. 26, p. 213.

TEIXEIRA, L.M.; TRABULSI, L.R. *Streptococcus, Enterococcus* e gêneros relacionados. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2004. cap. 22, p. 189.

TORRES, P. G. V. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares**: uma abordagem prática para o dia-a-dia. Porto Alegre: Rigel, 2005. 144p.

TORTORA, G. J., FUNKE, B. R., CASE, C. L. Anatomia funcional das células procarióticas e eucarióticas. In: _____. **Microbiologia**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 830p.

TRABULSI, L.R.; ORDÓÑEZ, J.G.; MARTINEZ, M.B. Enterobacteriaceae. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2004. cap. 35, p. 269.

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

VENDRUSCOLO, G.S.; RATES, S.M.K.; MENTZ, L.A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. In: **Revista Brasileira de Farmacognosia**. João Pessoa, PB: UFPB-CNPq-CRFRJ, v. 15, n. 4, p. 361-372, out.-dez. 2005.

WIEST, J.M. Zoonoses. In: GUERREIRO, M. *et al.* **Bacteriologia especial**: com interesse em saúde pública e saúde animal. Porto Alegre: Sulina, 1984, cap. 8. p. 117-120.

ANEXOS

ANEXO A

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre os formas de extração decocto concentrado, decocto rehidratado e extrato hidroalcoólico frente as quatro bactérias confrontadas na presença e na ausência de desinibidor no período de 24 horas

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Bactérias	3	89,95	29,98	8,24**
Método de Extração	2	656,20	328,10	90,14**
Desinibidor	1	102,72	102,72	28,22**
Resíduo	65	236,41	3,64	
Total	71	1085,28		

** = muito significativo ($p = 0,99$)

MÉDIAS DO DESINIBIDOR

Tratamento	Média
------------	-------

Sem Desinibidor	6,89
Com Desinibidor	4,50

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	9,96 (A)*
DC	3,75 (B)
DR	3,38 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

TESTE DE TUKEY PARA BACTÉRIAS

Bactérias	Médias
<i>E. faecalis</i>	7,44 (A)*
<i>S. aureus</i>	5,89 (AB)
<i>S. Enteritidis</i>	4,78 (B)
<i>E. coli</i>	4,67 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO B

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre as formas de extração decocto concentrado, decocto reidratado e extrato hidroalcoólico frente as quatro bactérias confrontadas na presença e na ausência de desinibidor no período de 48 horas

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Bactérias	3	91,00	30,33	7,82**
Método de Extração	2	670,36	335,18	86,39**
Desinibidor	1	102,72	102,72	26,47**
Resíduo	65	252,36	3,88	
Total	71	1116,44		

** = muito significativo ($p = 0,99$)

MÉDIAS DO DESINIBIDOR

Tratamento	Média
Sem Desinibidor	6,97
Com Desinibidor	4,58

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,08 (A)*
DC	3,88 (B)
DR	3,38 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

TESTE DE TUKEY PARA BACTÉRIAS

Bactérias	Médias
-----------	--------

<i>E. faecalis</i>	7,44 (A)*
<i>S. aureus</i>	6,17 (AB)
<i>S. Enteritidis</i>	4,83 (B)
<i>E. coli</i>	4,67 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO C

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre as formas de extração decocto concentrado, decocto reidratado e extrato hidroalcoólico frente as quatro bactérias confrontadas na presença e na ausência de desinibidor no período de 72 horas

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
--------------------	-------------------------	------------------------	---------------------	---

Bactérias	3	90,22	30,07	7,42**
Método de Extração	2	699,53	349,77	86,36**
Desinibidor	1	98,00	98,00	24,20**
Resíduo	65	263,36	4,05	
Total	71	1151,11		

** = muito significativo (p = 0,99)

MÉDIAS DO DESINIBIDOR

Tratamento	Média
Sem Desinibidor	7,06
Com Desinibidor	4,72

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,29 (A)*
DC	3,88 (B)
DR	3,50 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

TESTE DE TUKEY PARA BACTÉRIAS

Bactérias	Médias
<i>E. faecalis</i>	7,44 (A)*
<i>S. aureus</i>	6,44(AB)
<i>S. Enteritidis</i>	5,00 (ABC)
<i>E. coli</i>	4,67 (BC)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO D

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre as formas de extração decocto concentrado, decocto reidratado e extrato hidroalcoólico frente as quatro bactérias confrontadas na presença e na

ausência de desinibidor no período de 144 horas

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Bactérias	3	98,38	32,79	7,39**
Método de Extração	2	676,36	338,18	76,17**
Desinibidor	1	112,50	112,50	25,34**
Resíduo	65	288,70	4,44	
	1,23			
Total	71	1175,94		

** = muito significativo (p = 0,99)

MÉDIAS DO DESINIBIDOR

Tratamento	Média
Sem Desinibidor	7,22
Com Desinibidor	4,72

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,29 (A)*
DC	4,00 (B)
DR	3,69 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

TESTE DE TUKEY PARA BACTÉRIAS

Bactérias	Médias
<i>E. faecalis</i>	7,44 (A)*
<i>S. aureus</i>	6,78(A)
<i>S. Enteritidis</i>	5,00 (B)
<i>E. coli</i>	4,67 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO E

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre bactérias e formas de extração

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Bactérias	3	364,25	121,42	23,31 **
Formas de extração	2	2698,94	1349,47	259,02**
Resíduo	282	1468,81	5,21	
Total	287	4532		

** = muito significativo ($p = 0,99$)

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,16 (A)*
DC	3,88 (B)
DR	3,47 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

TESTE DE TUKEY PARA BACTÉRIAS

Bactérias	Médias
<i>E. faecalis</i>	7,44 (A)*
<i>S. aureus</i>	6,32(AB)
<i>S. Enteritidis</i>	4,90 (B)
<i>E. coli</i>	4,67 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre tempos de exposição e formas de extração

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempos de exposição	3	3,22	1,07	0,16 ns
Formas de extração	2	2698,94	1349,47	207,93**
	282	112,50	112,50	
Total	287	4532		

ns = não significativo ($p = 0,95$)

** = muito significativo ($p = 0,99$)

TEMPOS DE EXPOSIÇÃO (horas)

Tempos de Exposição	Médias
24	5,69
48	5,78
72	5,89
144	5,97

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,16 (A)*
DC	3,88 (B)
DR	3,47 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

ANEXO G

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre formas de extração e tempo de exposição

Staphylococcus aureus

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempos de exposição	3	7,82	2,61	0,42ns
Formas de extração	2	415,19	207,60	33,38**
Resíduo	66	410,64	6,22	
Total	71	833,65		

ns = não significativo (p= 0,95)

** = muito significativo (p = 0,99)

TEMPOS DE EXPOSIÇÃO (horas)

Tempos de Exposição	Médias
24	5,89
48	6,17
72	6,44
144	6,78

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	9,58 (A)*
DC	5,50 (B)
DR	3,88 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

ANEXO H

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre formas de extração e tempos de exposição

Enterococcus faecalis

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempos de exposição	3	0,00	0,00	0,00
Formas de extração	2	300,45	150,23	13,32**
Resíduo	66	733,33	11,11	
Total	71	1073,78		

** = muito significativo (p = 0,99)

TEMPOS DE EXPOSIÇÃO (horas)

Tempos de Exposição	Médias
24	7,44

48	7,44
721	7,44
144	7,44

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,33 (A)*
DC	6,00 (B)
DR	6,00 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO I

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre formas de extração e tempos de exposição

Salmonella Enteritidis

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempos de exposição	3	0,71	0,24	0,70ns
Formas de extração	2	1213,36	606,68	1784,35**
Resíduo	66	22,25	0,34	
Total	71	1236,32		

ns = não significativo (p= 0,95)

** = muito significativo (p = 0,99)

TEMPOS DE EXPOSIÇÃO (horas)

Tempos de Exposição	Médias
24	7,44
48	7,44
721	7,44
144	7,44

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,33 (A)*
DC	6,00 (B)
DR	6,00 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO J

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre formas de extração e tempos de exposição

Escherichia coli

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempos de exposição	3	0,00	0,00	0,00
Formas de extração	2	1024,00	0,00	0,00
Resíduo	66	0,00	0,00	
Total	71	1024,00		

ns = não significativo (p= 0,95)

** = muito significativo (p = 0,99)

TEMPOS DE EXPOSIÇÃO (horas)

Tempos de Exposição	Médias
24	4,78
48	4,78
72	4,78
144	4,78

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,00 (A)*
DC	2,00 (B)
DR	2,00 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

ANEXO K

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre bactérias e formas de extração no período de 24 horas

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Bactérias	3	89,95	29,98	5,83**
Formas de extração	2	656,20	328,10	63,83**
Resíduo	66	339,13	5,14	
Total	71	1085,28		

** = muito significativo ($p = 0,99$)

TESTE DE TUKEY PARA BACTÉRIAS

Bactérias	Médias
<i>E. faecalis</i>	7,44 (A)*
<i>S. aureus</i>	5,89(AB)
<i>S. Enteritidis</i>	4,78 (B)
<i>E. coli</i>	4,67 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	9,96 (A)*
DC	3,75 (B)
DR	3,38 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO L

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre bactérias e formas de extração no período de 48 horas

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
--------------------	-------------------------	------------------------	---------------------	---

Bactérias	3	91,00	30,33	5,64**
Formas de extração	2	670,36	335,18	63,30**
Resíduo	66	355,08	5,38	
Total	71	1116,44		

** = muito significativo (p = 0,99)

TESTE DE TUKEY PARA BACTÉRIAS

Bactérias	Médias
<i>E. faecalis</i>	7,44 (A)*
<i>S. aureus</i>	6,17 (AB)
<i>S. Enteritidis</i>	4,83 (B)
<i>E. coli</i>	4,67 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,08 (A)*
DC	3,88 (B)
DR	3,38 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO M

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre bactérias e formas de extração no período de 72 horas

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Bactérias	3	90,22	30,07	5,49**
Formas de extração	2	699,53	349,77	63,83**
Resíduo	66	361,36	5,48	
Total	71	1151,11		

** = muito significativo (p = 0,99)

TESTE DE TUKEY PARA BACTÉRIAS

Bactérias	Médias
<i>E. faecalis</i>	7,44 (A)*
<i>S. aureus</i>	6,44(AB)
<i>S. Enteritidis</i>	5,00 (B)
<i>E. coli</i>	4,67 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,29 (A)*
DC	3,88 (B)
DR	3,50 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO N

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre bactérias e formas de extração no período de 144 horas

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Bactérias	3	98,38	32,79	5,36**
Formas de extração	2	673,36	336,88	55,05**
Resíduo	66	404,20	6,12	
Total	71	1175,94		

** = muito significativo (p = 0,99)

TESTE DE TUKEY PARA BACTÉRIAS

Bactérias	Médias
<i>E. faecalis</i>	7,44 (A)*
<i>S. aureus</i>	6,78(AB)
<i>S. Enteritidis</i>	5,00 (B)
<i>E. coli</i>	4,67 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,29 (A)*
DC	4,00 (B)
DR	3,63 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO O

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre formas de extração e desinibidor frente a todas as bactérias no período de 24 horas

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Desinibidor	1	102,72	102,72	21,40**
Método de extração	2	656,20	328,10	68,35**
Resíduo	68	326,36	4,80	
Total	71	1085,28		

** = muito significativo ($p = 0,99$)

MÉDIAS DO DESINIBIDOR

Tratamento	Média
Sem Desinibidor	6,89
Com Desinibidor	4,50

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	9,96 (A)*
DC	3,75 (B)
DR	3,38 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

ANEXO P

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre formas de extração e desinibidor frente a todas as bactérias no período de 48 horas

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Desinibidor	1	102,72	102,72	20,34**
Método de extração	2	670,36	335,18	66,37**
Resíduo	68	343,36	5,05	
Total	71	1116,44		

** = muito significativo ($p = 0,99$)

MÉDIAS DO DESINIBIDOR

Tratamento	Média
Sem Desinibidor	6,97
Com Desinibidor	4,58

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,08 (A)*
DC	3,88 (B)
DR	3,38 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

ANEXO Q

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre formas de extração e desinibidor frente a todas as bactérias no período de 72 horas

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Desinibidor	1	98,00	98,00	18,85**
Método de extração	2	699,53	349,77	67,26**
Resíduo	68	353,58	5,20	
Total	71	1151,11		

** = muito significativo ($p = 0,99$)

MÉDIAS DO DESINIBIDOR

Tratamento	Média
Sem Desinibidor	7,06
Com Desinibidor	4,72

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,29 (A) *

DC	3,88 (B)
DR	3,50 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO R

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre formas de extração e desinibidor frente a todas as bactérias no período de 144 horas

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Desinibidor	1	112,50	112,50	19,60**
Método de extração	2	673,36	336,68	58,66**
Resíduo	68	390,08	5,74	
Total	71	1175,94		

** = muito significativo (p = 0,99)

MÉDIAS DO DESINIBIDOR

Tratamento	Média
Sem Desinibidor	7,22
Com Desinibidor	4,72

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,29 (A)*
DC	4,00 (B)
DR	3,36 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO S

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre a presença e a ausência do desinibidor frente às formas de extração e tempo de exposição

Staphylococcus aureus

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempo de exposição	3	7,83	2,61	1,36ns
Método de extração	2	415,20	207,60	122,12**
Desinibidor	1	300,13	300,13	176,55**
Resíduo	65	110,49	1,70	
Total	71	833,65		

ns = não significativo (p= 0,95)

** = muito significativo ($p = 0,99$)

TEMPOS DE EXPOSIÇÃO (horas)

Tempos de Exposição	Médias
24	5,89
48	6,17
72	6,44
144	6,78

MÉDIAS DO DESINIBIDOR

Tratamento	Média
Sem Desinibidor	8,36
Com Desinibidor	4,28

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	9,58 (A)*
DC	5,50 (B)
DR	3,88 (C)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

ANEXO T

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre a presença e a ausência do desinibidor frente às formas de extração e tempo de exposição

Enterococcus faecalis

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
--------------------	-------------------------	------------------------	---------------------	---

Tempo de exposição	3	0,00	0,00	0,00
Formas de extração	2	300,45	150,23	37,37**
Desinibidor	1	512,00	512,00	127,36**
Resíduo	65	261,33	4,02	
Total	71	1073,78		

** = muito significativo (p = 0,99)

TEMPOS DE EXPOSIÇÃO (horas)

Tempos de Exposição	Médias
24	7,44
48	7,44
72	7,44
144	7,44

MÉDIAS DO DESINIBIDOR

Tratamento	Média
Sem Desinibidor	10,11
Com Desinibidor	4,78

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,33 (A)*
DC	6,00 (B)
DR	6,00 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

ANEXO U

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre a presença e a ausência do desinibidor frente às formas de extração e tempo de exposição

Salmonella Enteritidis

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempo de exposição	3	0,71	0,24	0,73ns
Formas de extração	2	1213,36	606,68	1838,42**
Desinibidor	1	0,68	0,68	2,06ns
Resíduo	65	21,57	0,33	
Total	71	1236,32		

ns = não significativo ($p = 0,95$)

** = muito significativo ($p = 0,99$)

MÉDIAS DO DESINIBIDOR

Tratamento	Média
Sem Desinibidor	5,00
Com Desinibidor	4,81

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,71 (A)*
DC	2,00 (B)
DR	2,00 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

ANEXO V

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados entre a presença e ausência do desinfetante frente às formas de extração e tempo de exposição

Escherichia coli

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempo de exposição	3	0,00	0,00	0,00
Formas de extração	2	1024,00	512,00	-
Desinfetante	1	0,00	0,00	0,00
Resíduo	65	512,00	7,88	
Total	71	1024,00		

** = muito significativo (p = 0,99)

MÉDIAS DO DESINFETANTE

Tratamento	Média
Sem Desinfetante	4,67
Com Desinfetante	4,67

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,00 (A)*
DC	2,00 (B)
DR	2,00 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO X

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados por bactérias entre formas de extração e tempo de exposição

Staphylococcus aureus

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempo de exposição	3	7,82	2,61	0,42ns
Formas de extração	2	415,19	207,60	33,38**
Resíduo	66	410,64	6,22	
Total	71	833,65		

ns = não significativo ($p = 0,95$)

** = muito significativo ($p = 0,99$)

TEMPOS DE EXPOSIÇÃO (horas)

Tempos de Exposição	Médias
24	5,89
48	6,17
72	6,44
144	6,78

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	9,58 (A)*
DC	5,50 (B)
DR	3,88 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

ANEXO Z

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados por bactérias entre formas de extração e tempo de exposição

Enterococcus faecalis

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempo de exposição	3	0,00	0,00	0,00
Formas de extração	2	300,45	150,23	12,82**
Resíduo	66	773,33	11,72	
Total	71	1073,78		

** = muito significativo (p = 0,99)

TEMPOS DE EXPOSIÇÃO (horas)

Tempos de Exposição	Médias
24	7,44
48	7,44
72	7,44
144	7,44

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,33 (A)*

DC	6,00 (B)
DR	6,00 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95).

ANEXO AA

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados por bactérias entre formas de extração e tempo de exposição

Salmonella Enteritidis

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempo de exposição	3	0,71	0,24	0,71ns
Formas de extração	2	1213,36	606368	1784,35**
Resíduo	66	22,25	0,34	
Total	71	1236,32		

ns = não significativo (p = 0,95)

** = muito significativo (p = 0,99)

TEMPOS DE EXPOSIÇÃO (horas)

Tempos de Exposição	Médias
24	4,78
48	4,83
72	5,00
144	5,00

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
--------------------	--------

EH	10,71(A)*
DC	2,00 (B)
DR	2,00 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO BB

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Comparação de resultados por bactérias entre formas de extração e tempo de exposição

Escherichia coli

Fontes de Variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempo de exposição	3	0,00	0,00	0,00
Formas de extração	2	1024,00	512,00	-
Resíduo	66	0,00	0,00	
Total	71	1024,00		

** = muito significativo (p = 0,99)

TEMPOS DE EXPOSIÇÃO (horas)

Tempos de Exposição	Médias
24	4,67
48	4,67
72	4,67
144	4,67

TESTE DE TUKEY PARA FORMAS DE EXTRAÇÃO

Formas de Extração	Médias
EH	10,00 (A)*
DC	2,00 (B)
DR	2,00 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

ANEXO CC

Identificação Botânica das Inflorescências de “macela”

METODOLOGIA

O material de estudo são as inflorescências de “macela” provenientes do Laboratório Chás e Temperos Gravataiense. Foram analisadas 9 (nove) amostras de material coletado e embalado em 16 de janeiro de 2007.

Para a identificação botânica foi consultada literatura especializada e comparação com exsicatas do Herbário ICN (Departamento de Botânica da UFRGS) comumente comercializadas como “macelas” no Estado do Rio Grande do Sul, *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. e *Pseudognaphalium gaudichaudianum* (DC.) Anderb., ambas da família Asteraceae.

As amostras estudadas não foram incorporadas junto ao referido Herbário por apresentarem somente as estruturas férteis (inflorescências).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 9 (nove) amostras analisadas, todas pertencem à espécie da família Asteraceae, *Achyrocline satureioides*.

Das três espécies do gênero *Achyrocline* (*A. vauthieriana*, *A. satureioides* e *A. flaccida*), a *A. satureioides* é a mais amplamente distribuída nas diferentes regiões do Estado do Rio Grande do Sul, além dos países Argentina e Uruguai. Entre as espécies citadas como “macela” para o nosso Estado, *A. satureioides* e *Pseudognaphalium gaudichaudianum* são as mais semelhantes, diferindo principalmente na forma dos capítulos, do número de brácteas e de flores (SILVA et al., 2007).

MATERIAL EXAMINADO

Achyrocline satureioides BRASIL. RIO GRANDE DO SUL: **Bom Jesus**, 8.IV.1995, *M.R.Ritter*, 839 (ICN); **São Francisco de Paula**, 31.III.1995, *A.J.Franco* s/nº (ICN 115610); 31.III.1995, *A.J.Franco* s/nº (ICN 115607).

Pseudognaphalium gaudichaudianum BRASIL. RIO GRANDE DO SUL:
Porto Alegre, 16.XI.1974, *L.Arzivenco* s/nº (ICN 45266); **São José do Norte**,
II.1978, *Pfadenhauer*, 608 (ICN); **Vacaria**, 27.II.1976, *L.Arzivenco* s/nº (ICN
44311).

BIBLIOGRAFIA

BARROSO, G.M. 1986. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Vol III. Viçosa,
UFV Imprensa Universitária.

CABRERA, A.L. 1963. *Flora de la Provincia de Buenos Aires. Parte 4.*
Compuestas. Buenos Aires, INTA.

CABRERA, A.L. 1974. *Compuestas*. In: BURKART, A. *Flora Ilustrada de Entre*
Rios, Argentina. Tomo VI. Buenos Aires, INTA.

SILVA, R.E. da, MACHADO, R., RITTER, M.R. 2007. Espécies de “macela”
utilizadas como medicinais no Rio Grande do Sul. *Pesquisas, Botânica*,5:395-
406.


bióloga Silvia Maria Marodin – CRBio 17268
taxonomia de plantas medicinais