

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

**TESTE PILOTO PARA A VALIAR A ATIVIDADE ANTIMICROBIANA
QUANTITATIVA DO DECOCTO DE *Achyrocline satureioides* Lam. (D.C.)
FRENTE A CEPA PADRONIZADA DE *Staphylococcus aureus***

Natália da Conceição Noll

**PORTO ALEGRE
2011/1**

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

**TESTE PILOTO PARA AVALIAR A ATIVIDADE ANTIMICROBIANA
QUANTITATIVA DO DECOCTO DE *Achyrocline satureioides* Lam. (D.C.)
FRENTE A CEPA PADRONIZADA DE *Staphylococcus aureus***

Natália da Conceição Noll

Trabalho de Conclusão apresentado à
Faculdade de Veterinária como requisito
parcial à obtenção de Graduação em
medicina Veterinária

Orientador: Prof. Dr. César Augusto
Marchionatti Avancini

Co-orientadora: Prof. Dra. Susana
Cardoso

PORTO ALEGRE

2011/1

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos colegas do laboratório de Medicina Veterinária Preventiva, principalmente à doutoranda Jane Mari Corrêa Both, pessoa fundamental no meu aprendizado das técnicas laboratoriais e à colega de Iniciação Científica – PIBIC, Ellusa Oliveira, parceira na realização de todos os experimentos.

RESUMO

Visando prevenir ou controlar enfermidades transmissíveis, programa de pesquisa vem sendo desenvolvido no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva / FAVET / UFGRS para verificar se extrações de espécies vegetais, as denominadas plantas medicinais, podem ser usadas como desinfetante ou antisséptico sobre bactérias de interesse em ambientes de saúde e de produção animal. Neste sentido, projetos de investigação da atividade antimicrobiana do decocto de *A. saturoioides* estão sendo desenvolvidos para avaliar *in vitro* sua capacidade de inibição ou inativação bacteriana. O objetivo deste trabalho foi executar teste piloto para a obtenção de dados quantitativos de redução da dose bacteriana infectante. O método foi o de diluição, pelo teste de suspensão. Inflorescências da planta, na proporção de 5 g : 100 mL, foram submetidas à cocção em fogo brando por 15 min., repondo o volume inicial perdido na evaporação. Para este experimento, utilizou-se o delineamento de pesquisa: decocto x três diluições logarítmicas (10^9 UFC/mL – 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) do inóculo *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923 x seis tempos de contato (1h, 8h, 12h, 16, 20h e 24h). Na diluição 10^{-1} , devido à densidade bacteriana em placa de Petry, não foi possível dizer se houve ou não redução na atividade antimicrobiana nos tempos de 1h e 8h. Já nos tempos 12h, 16h e 20h, houve redução de 3 logaritmos. Nas diluições 10^{-2} e 10^{-3} , os três primeiros tempos de contato (1h, 8h e 12h) apresentaram redução de dois exponenciais logarítmicos. A partir das 16h, a contagem de colônias se manteve a mesma na diluição 10^{-2} . Já a diluição 10^{-3} , os tempos de 16h, 20h e 24h apresentaram resultados decrescentes até as 24h. Frente ao presente resultado, verificou-se que a técnica utilizada permite observar a redução promovida pelo decocto sobre a dose bacteriana infectante inicial. No entanto, percebeu-se ser necessário qualificar o protocolo e execução do teste, visto que se mostrou contraditório com resultados de inativação do inóculo nas 24h, seriadamente obtidos em outros experimentos com *A. saturoioides*.

Palavras-chave: *A. saturoioides*, antimicrobianos, plantas medicinais.

ABSTRACT

In order to prevent or control transmissible diseases, research program is being developed at the Laboratory of Preventive Veterinary Medicine / FAVET / UFGRS to see if that extraction of plant species, the so-called medicinal plants, can be used as a disinfectant or antiseptic on bacteria of interest in environments health and animal production. Therefore, research projects about antimicrobial activity of the decoction of A. satureioides are being developed to evaluate, in vitro, its ability to inhibit or inactivate bacterial activity. The aim of this study was run pilot test to obtain quantitative data about bacterial dose infecting reduction. The method was the dilution, by the suspension test. Inflorescences of the plant, at the proportion of 5 g : 100 mL, were subjected to cooking on low heat for 15 min. With replacement of the initial volume lost to evaporation. For this experiment, we used the research design: decoction x three logarithmic dilutions (10^9 CFU / mL - 10^1 , 10^2 and 10^3) of the inoculum Staphylococcus aureus ATCC 25923 x six contact times (1h, 8h , 12h, 16, 20h and 24h). At the 10^1 dilution, due to the density of bacterial in Petry plaque, it was not possible to say whether or not there was a reduction in antimicrobial activity in the times of 8h and 1h. In the times 12h, 16h and 20h, there was a reduction of 3 logarithms. In 10^2 and 10^3 dilutions, the first three contact times (1h, 8h and 12h) there was reduction of two logarithmic exponentials. After 16h, the count of colonies remained the same to the 10^2 dilution. Nevertheless, at the 10^3 dilution, the time of 16h, 20h and 24h results showed decreasing until 24h. Faced with this result, it was found that the technique used allows the observation of the reduction promoted by the decoction of the original infecting bacterial dose. However, it was perceived to be necessary to qualify the protocol and test execution, as proved to be contradictory to results from inactivation of the inoculum in 24 hours, serially obtained in other experiments with A. satureioides.

Keywords: A. satureioides, antimicrobial, medicinal plants

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01: embalagem de “marcela” do Sítio Apiquarius.....	15
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: resultados do teste piloto quantitativo da atividade antimicrobiana de *A. satereioides* sobre três diferentes densidades populacionais de *S. aureus* ATCC 25.293 18

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC: *American Type Culture Collection*

BHI: *brain-heart infusion*

FAVET: Faculdade de Veterinária

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

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 Plantas Medicinais	11
2.1.2 <i>Achyrocline satureioides</i>	12
2.2 Staphylococcus aureus	13
3 MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Obtenção da Cultura-Mãe	15
3.2 Extração Vegetal.....	16
3.3 Avaliação da atividade Antimicrobiana	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	18
5 CONCLUSÕES.....	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21

1 INTRODUÇÃO

Na intenção de controlar enfermidades, se faz necessária a adoção de programas sanitários com o objetivo de impedir a transmissão de agentes infecciosos entre hospedeiros susceptíveis. Desta forma, deve-se dar atenção especial ao ambiente no sentido do uso de desinfetantes e antissépticos a fim de reduzir cargas microbianas a doses não patogênicas.

Contudo, o uso indiscriminado de desinfetantes químicos convencionais pode selecionar bactérias resistentes ou induzir resistências, tornando-as ainda mais difíceis de serem eliminadas. Além disso, em produções agroecológicas, é indesejável a utilização de produtos químicos artificialmente sintetizados. Portanto, a descoberta de formas alternativas de substâncias antimicrobianas de ambiente, os desinfetantes, torna-se de grande importância para ambiente de saúde e de produção animal, sejam elas agroecológicas ou não.

Uma das propostas de substituição ou uso complementar aos desinfetantes e antissépticos convencionais é a utilização de vegetais considerados popularmente como medicinais. A utilização dessas plantas busca ampliar os recursos tecnológicos locais no que diz respeito a desinfetantes e antissépticos, que não apresentem os possíveis efeitos negativos que substâncias químicas sintéticas possam ter sobre o usuário ou o ambiente, encontrar novos recursos frente à resistência de agentes patogênicos, além da diminuição de custos das práticas de higiene em Medicina Veterinária (AVANCINI *et al.*, 2000).

Com esse sentido, FERNANDEZ *et al.* (2003), AVANCINI *et al.* (2006) e TRESOLDI *et al.* (2006) realizaram ensaios experimentais usando as inflorescências da planta *Achyrocline satureioides*, confrontando sua forma de decocto com bactérias padronizadas, evidenciando o seu potencial antibacteriano.

O objetivo do presente trabalho, desenvolvido no Laboratório de Medicina veterinária Preventiva da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FAVET – UFRGS), no ano de 2010, foi executar *in vitro* teste piloto para a obtenção de dados quantitativos sobre a capacidade de *Achyrocline*

satureioides Lam. (D.C.) Asteraceae em reduzir a densidade populacional de *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923.

Podemos definir teste piloto como aquele realizado preliminarmente ao desenvolvimento de escala de maior abrangência da pesquisa, e que cumpre o propósito de verificar se o protocolo de execução está corretamente delineado, se o método, os materiais e os utensílios utilizados são adequados para gerar dados de acordo com os objetivos da investigação científica pretendida. Tem a finalidade de confirmar ou corrigir o uso de produtos, de processos, de procedimentos ou de interpretação dos resultados (AVANCINI, 2011).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Plantas Medicinais

O conhecimento do homem a respeito das plantas medicinais evoluiu através dos tempos, por meio de empirismos. A descoberta das propriedades das plantas iniciou de forma intuitiva, através da associação de seu uso à cura de algumas afecções ou pela observação de animais que buscavam nas ervas alívio para suas enfermidades (FERRO, 2006).

É possível que o documento mais antigo sobre plantas medicinais date de 2.800 a.C., na China. Os primeiros tratados médicos de relevância são de 500 a.C. e são os prováveis precursores do sistema UNANI da medicina árabe, que, por sua vez, serviram de inspiração para o surgimento da medicina hipocrática grega, mãe da medicina ocidental (MOTA, 2008).

A obra grega “Matéria Médica”, escrita no século XV, foi, por mais de 500 anos, o guia de médicos e farmacêuticos do período Greco-romano e da Idade Média. Nesta obra, estão descritas a origem, as características e as aplicações de mais de 500 plantas com propriedades medicinais, e mais outras tantas drogas de origem animal e mineral. Acredita-se que parte daí a origem da moderna Farmacognosia (MOTA, 2008).

Durante a Idade Média, enquanto a produção científica européia encontrava-se “adormecida”, a Medicina Árabe ganha destaque, com o acréscimo de conhecimentos de origem indiana e o uso de determinadas flores no tratamento de cardiopatias. Através da península Ibérica esse conhecimento chega à Europa. Também a abertura das rotas marítimas, para as Índias e Américas mostraram o uso de outros vegetais, antes desconhecidos (MOTA, 2008).

Embora muito do conhecimento construído ao longo dos séculos esteja vivo nas diferentes culturas até hoje, boa parte foi perdida, principalmente pela imposição dos costumes de um povo sobre outro.

No Brasil, diferentes tradições terapêuticas, formadas pela cultura indígena, enriquecida com o conhecimento dos escravos e as colaborações trazidas por

imigrantes resultaram em uma medicina popular rica e original, com destaque especial para a utilização das plantas medicinais (BALDAUF *et al.*, 2009). Essa sabedoria tradicional está se perdendo, dia após dia, devido ao pouco valor dado a essas valiosas informações, associado à redução das áreas naturais e ao acesso crescente e facilitado à medicina alopática convencional.

A extensão do nosso território, somada à variedade de biomas e sua diversidade individual, é difícil estimar a quantidade de diferentes plantas que podemos encontrar no Brasil. De qualquer forma, estima-se que exista em nosso país a maior diversidade genética vegetal do mundo, entretanto, menos de 10% da flora nacional teria sido estudada com fins farmacológicos (ALMEIDA, 2003).

2.1.1 *Achyrocline satureioides*

A *Achyrocline satureioides*, conhecida popularmente como macela, pertence à família das Asteraceae, que contém mais de 1.100 gêneros, cerca de 180 deles encontrados no Brasil (HEEMAN *et al.*, 2006). Estima-se que 600 das 25 mil espécies desta família sejam nativas do Rio Grande do Sul (LOPES *et al.*, 2001).

Representantes da família Asteraceae podem ser encontrados nas mais diversas regiões climáticas, de regiões tropicais e subtropicais, a regiões temperadas. Entretanto, o endemismo é muito comum, sendo algumas espécies encontradas apenas em áreas muito restritas (MATZEMBACHER, 2003).

O habitat natural da *A. satureioides* é o leste da América do Sul, florescendo naturalmente no Uruguai, Paraguai e sul do Brasil (Paraná, Santa Catarina e rio Grande do Sul). No nosso Estado, cresce sob a forma vegetal silvestre, em solos arenosos e basálticos (SIMÕES, 1984).

A colheita da macela é de março a abril, no início do outono, quando as flores estão maduras, deve-se colher a planta a partir de seu segundo ano de desenvolvimento (CASTRO, CHEMALE, 1993). Na medicina popular, utiliza-se o chá de suas flores, folhas e ramos secos em distúrbios gastro-intestinais, epilepsia, cólicas. Possui ação sedativa e emenagoga. É empregada sob a forma de cataplasmas

ou banhos de imersão como antiinflamatório contra reumatismos, nevralgias, cólicas intestinais, renais e menstruais.

Inúmeros estudos a respeito de plantas medicinais têm surgido nos últimos anos, mostrando o interesse em resgatar e confirmar os conhecimentos tradicionais antes que eles se percam. Com a *A. saturoioides* não é diferente. Investigações sobre as propriedades terapêuticas, as melhores formas de extração e utilização, os componentes químicos se apresentam a cada dia (FERRO, 2006). Foi possível identificar a presença de flavonóides e outros componentes isolados, como ácidos e ésteres cafeico, clorogênico e isoclorogênico, minerais e polissacarídeos (VENDRUSCOLO *et al.*, 2005 e SILVA, 1993).

A realização de testes farmacológicos a fim de desvendar as atividades biológicas da planta comprovou atividade antibacteriana em extratos aquosos das sumidades floridas; ação inibitória de *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* em extrato etanólico das sementes e atividade antiviral sobre Herpesvírus tipo I, Rinovírus 14, vírus da poliomielite, da estomatite e da imunodeficiência tipo I em extratos aquosos (SILVA, 1993).

Dados farmacológicos de diferentes extratos e frações purificadas (polissacarídeos e flavonóides) das flores, folhas e caules têm mostrado resultados promissores para atividade antiinflamatória, antiespasmódica, analgésica, colerética, sedativa, imunoestimulante, antiviral, antibacteriana, hipoglicemiante e antioxidante (VENDRUSCOLO *et al.*, 2005). Além de atividade tripanossomida e inseticida (SILVA, 2003). Os extratos das inflorescências também demonstraram ausência de toxicidade aguda (SIMÕES, 1984).

2.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus trata-se de um coco Gram positivo e catalase positivo. Cresce bem em condições de aerobiose ou de anaerobiose, mas geralmente não compete bem com outros micro-organismos presentes nos alimentos. Pode causar gastroenterite alimentar em humanos, através da produção de enterotoxinas em alimentos susceptíveis (TRABULSI *et al.*, 2004).

É um micro-organismo encontrado na microbiota normal de seres humanos, mas constitui-se uma bactéria patogênica de grande importância, principalmente por estar frequentemente relacionada com infecções hospitalares graves, causadas por amostras multirresistentes (TRABULSI *et al.*, 2004).

Além de causar diversos transtornos à saúde humana, o *S. aureus* é importante causador de mastite ambiental em bovinos leiteiros, sendo apontado como o agente mais frequentemente isolado em todo o mundo nas infecções intramamárias subclínicas de fêmeas bovinas em lactação. É considerado um dos micro-organismos mais contagiosos, sendo transmitido principalmente a partir de quartos mamários contaminados, pele do úbere, teteiras e mãos dos ordenhadores (FERREIRA *et al.*, 2006).

As mastites subclínicas têm especial importância devido ao seu alto potencial de transmissão do micro-organismos, tanto a outros animais do rebanho, reduzindo significativamente a produção de leite, quanto ao homem, através do leite contaminado e seus derivados, causando toxi-infecções alimentares. Amostras de *S. aureus* enterotoxigênicos têm sido isoladas de leite pasteurizado, leite em pó e sorvetes, cuja fonte contaminadora pode ter sido tanto vacas contaminadas como os manipuladores envolvidos na ordenha (SÀ *et al.*, 2004).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de *Achyrocline satureioides* Lam. (D.C) Asteraceae foram obtidas do Sítio Apiquarius (**Figura 01**), que produz plantas medicinais de forma orgânica, livre de produtos químicos, no município de Gramado – RS. A compra foi feita na Feira Agroecológica de Porto Alegre, no Parque Farroupilha, em embalagens de 10g da planta desidratada.



Figura 01: embalagem de “marcela” do Sítio Apiquarius

O micro-organismo de escolha foi a cepa padronizada de *Staphylococcus aureus* ATCC 25.923, provenientes da bacterioteca do Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva – FAVET – UFRGS. Para evitar manipulação excessiva da bacterioteca principal, foi feita a reativação do micro-organismo em caldo BHI e posteriormente semeado em placa de ágar Beard-Parker, formando a bacterioteca secundária, armazenada sob refrigeração abaixo de 8°C. Desta cultura de *S. aureus* ATCC 25.923 é que se retiravam as colônias para o experimento.

3.1 Obtenção da Cultura-Mãe

A preparação do micro-organismo era realizada 24h antes do início dos experimentos. A cultura-mãe foi obtida a partir de semeadura de colônias da bacterioteca em caldo BHI, incubada em estufa a 37°C por 24h.

Era esperado que a contagem microbiana inicial fosse 10^8 UFC/mL, entretanto, era feita a contagem da dose infectante inicial, a fim de prevenir possíveis

erros. Para determinar a contagem inicial foram feitas diluições logarítmicas seriadas, posteriormente semeadas em placa de ágar nutriente, contando as colônias presentes nas placas com até 300 UFC. . No teste piloto, a densidade populacional da cultura-mãe foi definida como 10^9 UFC/mL.

3.2 Extração Vegetal

A forma de extração escolhida foi o decocto (Farmacopéia, 1959), já que permite a fervura da planta, eliminando contaminações ambientais. Foram utilizadas apenas inflorescências da planta, fragmentadas manualmente, a fim de aumentar a superfície de contato com a água. A proporção de escolha foi de 5g a cada 100mL de água destilada estéril. A cocção se deu em frasco *Erlenmeyer* tampado, a fogo brando por 15 minutos. Em seguida, a solução era resfriada à temperatura ambiente e coada em papel filtro estéril para proveta de vidro esterilizada. O volume perdido no cozimento era repostado para que fossem mantidas as proporções iniciais.

Eram feitos três controles de esterilidade do decocto: o primeiro, antes da reconstituição do volume perdido; o segundo, após o acréscimo de água destilada estéril, mas antes de toda a manipulação do decocto; e o terceiro, após terminados os trabalhos com o decocto. Em todos os controles, era colocado 0,1mL do decocto em placa de ágar nutriente e incubadas as placas em estufa a 37°C por 24h.

3.3 Avaliação da Atividade Antimicrobiana

Foram confrontadas três diluições logarítmicas do micro-organismo. Os tubos “desafio” continham 9 mL do decocto mais 1 mL de suspensão do microrganismo confrontado (teste de suspensão) (Avancini et al, 2000), constituindo a seguinte formação: diluição “A”: 10^{-1} ; diluição “B”: 10^{-2} ; diluição “C”: 10^{-3} . Os tubos “desafio” continham 1mL de cada diluição inicial, A, B ou C e 9 mL do decocto. Tanto os tubos com micro-organismo mais decocto (tubos desafio), como os tubos das diluições, foram incubados em estufa bacteriológica, a 37°C, pelo tempo determinado pelo experimento.

Os tempos de contato escolhidos foram 1h, 8h, 12h, 16h, 20h e 24h. Os testes foram realizados primeiro com os tempos de 1h, 8h e 24h, e depois com os tempos de 12h, 16h e 20h.

Decorridos cada tempo, eram feitas três a cinco diluições seriadas (1mL do conteúdo dos tubos desafio em 9mL de água peptonada), em seguida, as diluições eram semeadas em placa com ágar-nutriente para que fosse realizada a contagem das colônias remanescentes, podendo então quantificar o poder de redução da atividade microbiana do decocto. Os tubos contendo as diluições do micro-organismo também eram semeados em placa com ágar-nutriente, sendo então o controle da viabilidade do micro-organismo (controle positivo) sem a presença de decocto. Todas as placas eram incubadas em estufa a 37°C por 24h, para então proceder a contagem das UFC.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cultura-mãe, obtida a partir de crescimento em caldo BHI, resultou, após 24h de incubação em estufa bacteriológica, em 10^9 UFC / mL, dez vezes a mais que o esperado. Entretanto, os testes foram realizados normalmente. Na **Tabela 01** podem ser observados os resultados dos desafios da confrontação do decocto de *A. saturoioides* com as três diferentes densidades do inóculo *S. aureus*.

Tabela 01: resultados do teste piloto quantitativo da atividade antimicrobiana de *A. saturoioides* sobre três diferentes densidades populacionais de *S. aureus* ATCC 25.293.

	A (10^8 UFC / mL)	B (10^7 UFC / mL)	C (10^6 UFC / mL)
1h	inc	$1,3 \times 10^6$	$1,5 \times 10^5$
8h	inc	$1,9 \times 10^6$	4×10^5
12h	6×10^6	1×10^6	$8,3 \times 10^5$
16h	7×10^6	5×10^5	$7,3 \times 10^3$
20h	1×10^6	5×10^5	2×10^4
24h	inc	$9,6 \times 10^5$	7×10^3

No teste A, não foi possível dizer se houve ou não redução na atividade antimicrobiana nos tempos de 1h e 8h. Já nos tempos 12h, 16h e 20h, a redução foi a mesma, de 2 logaritmos. Isso pode ser explicado por que talvez a atividade antimicrobiana da planta seja lenta, não fazendo grande diferença em curtos espaços de tempo. No tempo de 24h, houve grande crescimento bacteriano, levantando a suspeita de possível contaminação por outro micro-organismo, não sensível à *A. saturoioides*.

Nos testes B e C, os três primeiros tempos de contato (1h, 8h e 12h) apresentaram a mesma redução da contagem microbiana, de uma base logarítmica; diminuindo as evidências de que a contagem microbiana inicial seja decisiva na atividade da *A. saturoioides*, e reforçando a idéia de que a atividade da planta seja mais lenta.

Como no teste A, a contagem de colônias se manteve a mesma a partir das 16h do teste B, mais uma vez indicando a vagarosidade atividade antimicrobiana da *A. saturoioides*. Já no teste C, os tempos de 16h, 20 e 24h apresentaram resultados decrescentes até as 24h. No tempo de 16h, o crescimento foi duas bases logarítmicas menor que no tempo de 12h, mas em 20h, a contagem foi um logaritmo maior que

em 16h. Esse resultado pode evidenciar que a atividade da macela continua até as 24h, e que a velocidade da redução da atividade microbiana pode estar inversamente relacionada com a quantidade de micro-organismos presentes.

FERNANDEZ *et al.* (2003), AVANCINI *et al.* (2006), TRESOLDI *et al.* (2006), AVANCINI e WIEST (2008) e SPEROTTO (2010) verificaram que o decocto de *A. saturoioides* (alguns com amostra da mesma origem), na mesma concentração utilizada neste experimento (5g : 100mL), foi capaz de inativar a cepa de *S. aureus* ATCC 25.923 na leitura de 24h de contato, em doses infectantes de 10^7 a 10^1 UFC/mL. Os resultados diferentes encontrados neste experimento podem ser explicados pela maior dose infectante confrontada com o decocto, ou devido à necessidade de qualificar o protocolo de execução do teste.

5 CONCLUSÕES

Frente ao presente resultado, verificou-se que a técnica usada permite observar a redução promovida pelo decocto sobre a dose bacteriana infectante inicial. No entanto, percebeu-se a necessidade de qualificar o protocolo e execução do teste, visto que mostrou-se contraditório com resultados de inativação do inóculo nas 24h, seriadamente obtidos em outros experimentos com a *A. satureioides*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. Z. **Plantas Medicinais**. 2ª Ed. Salvador:EDUFBA, 2003. 216p.

AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J. M.; MUNDSTOCK, E. Atividade bacteriostática e bactericida do decocto de *Baccharis trimera* (Less.) D.C., Compositae, carqueja, como desinfetante ou anti-séptico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, 2000. V52, n.3.

AVANCINI, C. A. M.; *et al.* Atividade antibacteriana “*in vitro*” de extração vegetal (decocto) frente microrganismos padronizados de interesse em medicina veterinária: resultados preliminares do sub-projeto *Achyrocline satureoides* D.C. – Asteraceae (“macela”). In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO RIO GRANDE DO SUL, XVII, 2006, Gramado. **Anais**. Gramado : SOVERGS, 2006. Resumo Expandido n. 97.

AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J, M. Etnomedicina veterinária, etnonosotaxia e etnoterapêutica de doenças de pele como referência para seleção e avaliação preliminar da atividade antibacteriana de plantas nativas no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.1, p.21-28, 2008.

AVANCINI, C. A. M. Comunicação pessoal em orientação. **Departamento de Medicina Veterinária Preventiva/Faculdade de Veterinária/Universidade Federal do Rio Grande de Sul**. Porto Alegre, 2011.

BALDAUF, C. *et al.* Ferveu, queimou o ser da erva: conhecimentos de especialistas locais sobre plantas medicinais na região Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v 11, n. 3, p. 282-291, 2009. Disponível em: <<http://www.unesp.br>>. Acesso em 04 mai. 2011.

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.

Brasil. **Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil**. 2ª Ed. São Paulo: Siqueira S.A., 1959.

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

FERREIRA, L. M.; *et al.* Variabilidades fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas em casos de mastite subclínica bovina. **Ciência Rural**, v.36, n.4, jul-ago, 2006.

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

HEEMAN, 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.

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

MATZEMBACHER, N. I. Diversidade florística dos campos sulbrasileiros: Asteraceae. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 54, 2003, Belém. **Anais**. Belém: MPEG, UFRA, EMBRAPA, Brasil / Museu Paranaense Emílio Goeldi, 2003, p. 124.

MOTA, F. M. **Atividade antibacteriana *in vitro* de inflorescências de *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC – Asteraceae – (“macela”, “marcela”) como fator de proteção em zoonoses**. 2008. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade federal do Rio Grande do Sul, porto Alegre, 2008.

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

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. M. **Estudo da potência antiespasmódica de extratos hidroalcoolicos 80% (v/v) de *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C. Asteraceae (Marcela).** 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.

SPEROTTO, V. R. **Atividade antibacteriana *in vitro* do decocto de *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC – Asteraceae – (“macela”) sobre bactérias isoladas de mastite bovina.** 2010. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade federal do Rio Grande do Sul, porto Alegre, 2010.

TRESOLDI, G.; *et al.* Atividade antibacteriana desinfetante "in vitro" de extração vegetal frente a microrganismos padronizados de interesse em Medicina Veterinária: V - resultados preliminares do sub-projeto *Achyrocline satureioides* D.C. – Asteraceae. In: Salão de Iniciação Científica da UFRGS, XV Feira de Iniciação Científica e I Salão UFRGS jovem, XVIII. 2006, Porto Alegre. **Resumos.** Porto Alegre: CD-Rom. Trabalho 243, p. 205-206.

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. 5, p.361-372, out-dez, 2005.