

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

Atividade antibacteriana/desinfetante de extrações galênicas de *Jacaranda micrantha* Cham. (caroba) sobre cepas de salmonela e estafilococos padrões e de isoladas em produtos de origem animal.

Tainá Drebes

Porto Alegre
2014

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

Atividade antibacteriana/desinfetante de extrações galênicas de *Jacaranda micrantha* Cham. (caroba) sobre cepas de salmonela e estafilococos padrões e de isoladas em produtos de origem animal.

Autora: Tainá Drebes

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, na especialidade Epidemiologia, Saneamento e Profilaxia.

Orientador: Prof. Dr. César Augusto Marchionatti Avancini

Porto Alegre

2014

CIP - Catalogação na Publicação

Drebes, Tainá

Atividade antibacteriana/desinfetante de extrações galênicas de *Jacaranda micrantha* Cham. (caroba) sobre cepas de salmonela e estafilococos padrões e de isoladas em produtos de origem animal. / Tainá Drebes. -- 2014.

58 f.

Orientador: César Augusto Marchionatti Avancini.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. *Jacaranda micrantha*. 2. antibacteriana/desinfetante. 3. fitoquímico. 4. *Salmonella*. 5. *Staphylococcus*. I. Avancini, César Augusto Marchionatti, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Tainá Drebes

Atividade antibacteriana/desinfetante de extrações galênicas de *Jacaranda micrantha* Cham. (caroba) sobre cepas de salmonela e estafilococos padrões e de isoladas em produtos de origem animal.

Aprovada em 21 MAI 2014

APROVADO POR:

Prof. Dr. César Augusto Marchionatti Avancini
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Eduardo Miranda Ethur
Membro da Comissão

Prof. Dr. Guiomar Pedro Bergmann
Membro da Comissão

Profa. Dra. Susana Cardoso
Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por todas as oportunidades colocadas em meu caminho e por ter me dado forças para aproveitá-las e seguir em frente.

Ao professor e orientador César Augusto Marchionatti Avancini, pela oportunidade de ser sua orientada. Agradeço pela paciência, pelo apoio, pela compreensão, por ter confiado em meu trabalho, pelos mais variados conhecimentos, além da sua dedicação e competência para a realização deste trabalho.

À minha grande amiga Mônica J. Maciel, pelo auxílio, pela troca de conhecimentos e por estar sempre presente na minha vida. Obrigada por tudo mesmo!

A todos os professores do Curso de Mestrado que de alguma forma contribuíram para a minha formação. Aos colegas do Laboratório de Higiene de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA): Aline, Giovani e Marcelo, pelo auxílio dispensado na utilização do equipamento evaporador rotativo.

À UNIVATES pelas oportunidades oferecidas de crescimento profissional e aperfeiçoamento. Um agradecimento em especial à professora Rosângela Salvatori, por acreditar em meu trabalho e me colocar em contato com o “mundo da microbiologia”. Ao professor Eduardo M. Ethur, por sua grande disponibilidade e interesse em nos auxiliar. À bolsista Bárbara Parraga pelo auxílio na realização do *screening* fitoquímico. À bióloga Elisete Freitas pelo auxílio na identificação botânica da *Jacaranda micrantha*. Aos meus queridos colegas do Laboratório de Microbiologia – Unianálises/Univates pela compreensão nas minhas ausências e pelo apoio.

A UFRGS por me dar essa grande oportunidade de estudo.

Aos meus pais Heinz e Sonia, meu irmão Iago, meu avós, tios e namorado Luís André, pela educação, pelo incentivo constante ao estudo e por estarem ao meu lado sempre. A vocês, minha gratidão eterna.

RESUMO

Relatos sobre resistência de microrganismos a inúmeros produtos químicos-sintéticos convencionais, bem como demanda por tecnologias adequadas ao sistema de produção orgânico/agroecológico motivaram o desenvolvimento dessa pesquisa buscando soluções antimicrobianas originadas de extrações de vegetais. O objetivo deste trabalho foi avaliar atividade desinfetante em extrações de *Jacaranda micrantha* Cham. (caroba), selecionada baseado em investigação etnográfica sobre plantas medicinais nativas no sul do Brasil. Foram confrontadas as cepas padrões *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, bem como as isoladas em alimentos de origem animal *Salmonella* spp (N=20) e *Staphylococcus* coagulase positiva (N=20). O método foi o de diluição, pelo teste de suspensão quantitativo para avaliar atividade bactericida de desinfetantes e antissépticos químicos. As formas foram decocto e extrato hidroetanólico (EH). A triagem, com os organismos padrões, ocorreu nas proporções (p : v) 5 g : 100 mL, 10 g : 100 mL e 20 g : 100 mL, hidratados ao volume inicial. As densidades populacionais (DP) de confronto foram 10^7 , 10^6 e 10^5 UFCmL⁻¹, nos tempo de contato de oito e 24 horas. A proporção 10 g : 100 mL foi usada para confrontar as isoladas. Verificada a identidade fitoquímica detectou-se a presença de compostos fenólicos, taninos condensados e flavonas tanto no decocto quanto maceração hidroacóica, e de saponinas apenas no decocto. A triagem evidenciou que o decocto praticamente não promoveu redução das densidades populacionais frente as duas padrões, o mesmo ocorrendo frente às isoladas. Já o EH, na menor proporção p : v, inativou as cepas padrões na menor DP, e nas proporções 10 e 20 : 100 todas DP (exceção de 10^7 da *Salmonella*, apenas com redução). Frente as isoladas de *Salmonella* spp., inativou 5 % delas nas DP 10^6 e 10^5 UFCmL⁻¹, e frente as *Staphylococcus* coagulase positiva, 5 % na DP 10^7 , 40 % na 10^6 e 75 % na 10^5 UFCmL⁻¹. Concluiu-se que o decocto pouco apresentou atividade antibacteriana, enquanto que o EH promoveu ação de redução logarítmica das densidades populacionais ou mesmo de inativação total frente todas as bactérias. As evidências mostram que além da densidade populacional de confronto, características intrínsecas dos indivíduos isolados dos dois gêneros também interferiram no tempo necessário para que a ação fosse promovida.

Palavras-chave: *Jacaranda*, desinfetante, antibacteriano, *Salmonella*, *Staphylococcus*.

ABSTRACT

Reports of resistance of microorganisms to many conventional chemical-synthetic products, as well as the demand for appropriate organic / agroecological system technologies motivated the development of this research originated seeking antimicrobial solutions for extractions vegetables. The objective of this study was to assess disinfectant activity extractions *Jacaranda micrantha* Cham. (caroba), selected based on ethnographic research on native medicinal plants in southern Brazil. Standards strains *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 were compared, as well as isolates in foods of animal origin: *Salmonella* spp (N = 20) and *Staphylococcus* coagulase positive (N = 20). The method was to dilution by the quantitative suspension test for evaluating bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics. The forms were hydroethanolic extract (HE) and decoction, screening with standards strains, occurred in the proportions (p: v) 5 g: 100 mL, 10 g: 100 ml and 20 g: 100 ml, hydrated to the original volume. Population densities (PD) of confrontation were 10^7 , 10^6 and 10^5 UFCmL⁻¹, the contact time of 8 and 24 hours. The ratio 10 g: 100 mL was used to confront the isolates. Verified the identity phytochemical detected the presence of phenolic compounds, flavones and condensed tannins as hidroacolic both the decoction and saponins only decoction. The screening showed that the decoction hardly promoted reduction of population densities across the two standards, the same occurring against isolated. Have the HE, the lowest proportion p: v, inactivated strains patterns in lower PD, and in the proportions 10 and 20: 100 all PD (except for the 10^7 *Salmonella*, only reduction). Against isolates of *Salmonella* spp. 5% of inactivated at 10^6 and 10^5 UFCmL⁻¹ PD and against *Staphylococcus* coagulase positive in 5% PD 10^7 , 40% 10^6 and 75% at 10^5 UFCmL⁻¹. It was concluded that the decoction showed little antibacterial activity, while the hydroalcoholic extract promoted action log reduction in population density or total inactivation forward all bacteria. Evidence shows that in addition to population density of confrontation, intrinsic characteristics of isolated individuals of both genders also interfered in the time required for the action to be promoted.

Key words: *Jacaranda*, disinfectant, antibacterial, *Salmonella*, *Staphylococcus*.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO	8
1.1 Considerações iniciais	8
1.2 Problemas de pesquisa	10
1.3 Objetivos	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 – <i>Salmonella</i> spp.	11
2.2 - <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	12
2.3 Sanitizantes / Desinfetantes	14
2.4 Plantas Medicinais	15
2.4.1 Plantas medicinais no Brasil	15
2.5 Compostos bioativos e atividade antibacteriana/desinfetante de plantas medicinais	18
2.6 Pesquisa fitoquímica	18
2.6.1 Fenóis e heterosídeos fenólicos	19
2.6.1.1 Compostos fenólicos simples	19
2.6.1.2 Quinonas	20
2.6.1.3 Taninos	21
2.6.1.4 Flavonoides	22
2.6.2 Cumarinas	23
2.6.3 Alcaloides	24
2.6.4 Saponinas	25
2.7 Fatores que influenciam o conteúdo de metabólitos secundários	25
2.8 <i>Jacaranda micrantha</i> Cham.	27
2.9 Compostos fitoquímicos presentes na família Bignoniaceae	31
2.10 Compostos fitoquímicos presentes no gênero <i>Jacaranda</i>	31
2.11 Compostos fitoquímicos presentes na espécie <i>Jacaranda micrantha</i> Cham.	32

CAPÍTULO II

3 ARTIGO CIENTÍFICO	34
----------------------------------	----

Atividade antibacteriana/desinfetante de extrações galênicas de *Jacaranda micrantha* Cham. (caroba) sobre cepas de salmonela e estafilococos padrões e de isoladas em produtos de origem animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA	46
APÊNDICE A – Amostras bacterianas de <i>Salmonella</i> spp. e <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva e suas respectivas matrizes de origem	55

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações iniciais

A utilização de plantas medicinais no reestabelecimento da saúde vem sendo utilizada desde o primórdio dos tempos, através das formas mais simples de tratamento local, possivelmente utilizada pelo homem desde a pré-história, até os tempos atuais com utilização de tecnologias sofisticadas na indústria, utilizadas pelo homem moderno. Porém, apesar de grandes diferenças quanto ao uso das plantas, tanto o homem primitivo quanto o moderno, perceberam nas mesmas a presença de algo que, se administrado, por exemplo, na forma de chás, tinturas, comprimidos ou pomadas, provocavam reações no organismo que resultavam na recuperação da saúde (LORENZI; MATOS, 2002). As plantas são uma fonte de produtos biologicamente ativos, com uma grande diversidade de estruturas e de propriedades físico-químicas e biológicas. Desta forma, os compostos químicos produzidos por algumas plantas apresentam atividade antiglicemiante, outras também são utilizadas na medicina popular no tratamento de cálculos renais, infecções intestinais e hepatite. Alguns dos constituintes isolados destas plantas parecem ser os responsáveis pelas ações analgésica, anti-inflamatória, antiviral, entre outras (SIMÕES et al., 2002). Assim, o resgate de saberes e valores históricos para cura de doenças a partir do uso de plantas medicinais é importante pela diversidade de substâncias antimicrobianas encontradas a partir de extratos naturais.

A medicina veterinária preventiva objetiva evitar a ocorrência de doenças, porém se esta já estiver desencadeada, interromper sua evolução. Desta forma se faz necessário a intervenção, para prevenção da ocorrência de enfermidades, em ambientes de saúde e produção animal, assim como na indústria de alimentos, através dos processos de higienização. Os desinfetantes tem grande importância nos programas de biossegurança, sendo utilizados para evitar a multiplicação microbiana ou promover a eliminação de micro-organismos potencialmente patogênicos em ambientes de criação animal, nos matadouros e indústrias de alimentos. A manutenção dos procedimentos de higiene é essencial para a gestão de qualquer empresa, independentemente da espécie ou o sistema de agricultura (FAO; OIE, 2009).

A pesquisa por novos agentes antimicrobianos se faz necessária pela crescente resistência de micro-organismos a antibióticos e desinfetantes convencionais. Agentes

antimicrobianos são utilizados na veterinária como terapia (tratamento) e profilaxia (prevenção) de doenças. Também podem ser administrados para animais com manifestações clínicas e como promotor de crescimento. O uso generalizado destes agentes pode resultar no surgimento e difusão de organismos resistentes. A disseminação da resistência antimicrobiana pode ser transferida, por exemplo, do animal para o homem através de suprimentos de alimentos e água, bem como em contato direto com o animal e suas excretas (GUARDABASSI et al., 2010). A busca por novos agentes antimicrobianos a partir de extratos vegetais é de grande importância, pois existe a possibilidade de se encontrar uma substância que seja eficaz frente a estes micro-organismos resistentes e que encontram-se dispersos no ambiente.

A possibilidade de utilização de extratos vegetais como método complementar pode se tornar uma alternativa à agricultura familiar, não tornando esta completamente dependente dos insumos convencionais. Os antimicrobianos/desinfetantes complementares podem vir a se tornar um método sustentável para as propriedades, porém torna-se necessário o estabelecimento de estratégias de conservação e manejo para evitar que o extrativismo se torne insustentável, colocando a espécie na lista de extinção. Como um produto natural, possivelmente não causa danos ambientais, como os desinfetantes convencionais, podendo assim tornarem-se viáveis para produtores agroecológicos. Um sistema de produção animal agroecológico, para que tenha o produto classificado como orgânico, precisa seguir o que estabelece a Instrução Normativa nº 46/2011 do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), que informa em seu Anexo I o uso de extratos vegetais como sanitizante para instalações, equipamentos e produção animal, assim como no seu Anexo II a utilização de fitoterápicos e extratos vegetais na prevenção e tratamento de enfermidades dos animais (BRASIL, 2011).

O estudo da atividade antimicrobiana de plantas medicinais, condimentares e aromáticas vem se desenvolvendo no país como no trabalho apresentado por Avancini e Wiest (2008), que selecionaram 21 plantas com indicativo etnográfico medicinal nativas do sul do Brasil, com ênfase à etnomedicina veterinária, etnosotaxia e etnoterapêutica de doenças de pele. Na triagem para verificação da atividade bioativa antimicrobiana, onde entre as plantas apresentadas encontra-se a *Jacaranda micrantha*.

Jacaranda micrantha Cham. pertence à família Bignoniaceae, encontra-se distribuída em regiões tropicais como Paraguai, nordeste da Argentina e Brasil, de Minas Gerais ao Rio

Grande do Sul (SOBRAL; JARENKOW, 2013). É uma árvore de grande porte, podendo ser empregada na construção civil, além de ser utilizada como planta medicinal e para regeneração de áreas degradadas com a finalidade de preservação permanente (BACKES; IRGANG, 2002).

Pelo exposto, justifica-se avaliar a atividade antibacteriana de extratos do vegetal *J. micrantha* para verificar seu potencial uso como recurso/insumo sanitário frente à *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva isolados em produtos de origem animal.

1.2 Problemas de pesquisa

- As formas galênicas decocto e extrato hidroalcoólico (maceração hidroalcoólica desalcoolizada), em diferentes proporções planta : volume (p : v) das folhas da *Jacaranda micrantha*, possuem atividade antibacteriana?

- Qual o espectro de ação?

- A densidade populacional microbiana e o tempo de contato interferem na intensidade da redução bacteriana?

1.3 Objetivos

O objetivo geral foi descobrir novos antimicrobianos frente *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva, a partir de extrações vegetais, para possível utilização como prevenção e controle em ambientes de saúde, produção e nos de manipulação de produtos de origem animal.

Como objetivo específico, submeter às soluções decocto e extrato hidroalcoólico hidratado a protocolo padronizado para a verificação quantitativa da atividade desinfetante frente cepas bacterianas padronizadas e isoladas em alimentos de origem animal.

Também como objetivo específico, realizar *screening* fitoquímico de ambas soluções a fim de indicar grupos de metabólitos secundários relevantes presentes na espécie vegetal em estudo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – *Salmonella* spp.

As infecções causadas por bactérias do gênero *Salmonella* são consideradas, a nível mundial, como as causas mais importantes de doenças transmitidas por alimentos. A transmissão ocorre por um ciclo de infecção entre o homem e os animais pelas fezes, água e alimentos, especialmente pelos de origem animal (GERMANO; GERMANO, 2011).

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* (bactérias entéricas). São Gram-negativas, anaeróbias facultativas, não formam esporos e tem forma de bastonetes curtos. A maioria das espécies é móvel, com flagelos peritríquios, com exceção da *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*. As bactérias entéricas também são oxidase negativa, com exigências nutricionais relativamente simples e fermentam açúcares, originando uma variedade de produtos finais (MADIGAN et al., 2010).

Quase todos os membros do gênero *Salmonella* são potencialmente patogênicos. São habitantes comuns do trato intestinal de vários animais, principalmente aves, suínos e bovinos. As salmoneloses ocorrem mundialmente, com sorovares regionais, sendo reconhecidas universalmente como zoonoses. Em más condições sanitárias, podem contaminar alimentos. São geralmente patogênicas tanto para humanos quanto para outros animais de sangue quente. Em humanos, as doenças mais comuns causadas por salmonelas são a febre tifoide e as gastroenterites (TORTORA et al., 2003, GERMANO; GERMANO, 2011). Não são micro-organismos fastidiosos, podendo se multiplicar externamente aos seres vivos, como em água contaminada com restos de alimentos ou fezes (MADIGAN et al., 2010; GERMANO; GERMANO, 2011).

No Brasil, uma pesquisa laboratorial realizada em abatedouro avícola revelou que 26,1% das amostras de carcaça colhidas em diferentes etapas da linha de abate, apresentaram resultados positivos para presença de *Salmonella* spp. Este resultado sugere que as aves infectaram-se quer nas granjas de produção, quer em decorrência da contaminação cruzada ao longo do processo de abate (GERMANO; GERMANO, 2011).

As salmonelas caracterizam-se imunologicamente com base em três antígenos de superfície celular, o antígeno O, ou de parede celular (somático); o antígeno H, ou flagelar; e o antígeno Vi (camada polissacarídica externa) (MADIGAN et al., 2010).

A temperatura ótima de crescimento é de aproximadamente 38°C e a temperatura mínima para o crescimento é de cerca de 5 °C. Como não formam esporos, são relativamente termossensíveis, podendo ser destruídas a 60 °C por 15 a 20 minutos (FORSYTHE, 2002).

A atividade de água afeta diretamente o desenvolvimento da bactéria. Embora o limite mínimo seja de 0,94, salmonelas podem sobreviver por longo período de tempo em alimentos com baixa atividade de água. A faixa de pH para seu desenvolvimento é de 3,7 a 9,5, abaixo ou acima deste valor há diminuição da atividade de multiplicação do agente (GERMANO; GERMANO, 2011).

Uma grande variedade de alimentos contaminados está associada às salmoneloses, como carnes de: aves, bovinos e suínos e seus derivados, produtos lácteos: leite e queijos cremosos, ovos: pudins, gemadas, licores de ovos, maioneses, peixes, camarões, levedura de cerveja, coco, molhos e temperos de salada, mistura para bolos, sobremesas recheadas com cremes, gelatina em pó, manteiga de amendoim, cacau e chocolates (FORSYTHE, 2002; GERMANO; GERMANO, 2011).

A presença deste patógeno em produtos cárneos crus, incluindo os de frango, é resultado de ampla contaminação cruzada nas plantas industriais (GERMANO; GERMANO, 2011).

2.2 - *Staphylococcus coagulase positiva*

O gênero *Staphylococcus* compreende patógenos do homem e outros animais. São habitantes usuais da pele, membranas mucosas, do trato respiratório superior e do intestino do homem (GERMANO; GERMANO, 2011).

Os estafilococos são cocos Gram-positivos, não esporulantes, resistentes ao dessecação, sendo facilmente disseminados pelas partículas de poeira presentes no ar e nas superfícies. Duas espécies apresentam importância para o homem: *Staphylococcus epidermidis*, uma espécie não pigmentada, geralmente encontrada na pele ou nas membranas

mucosas, e *Staphylococcus aureus*, uma espécie que exibe pigmentação amarela. Ambas as espécies são patogênicas, porém *S. aureus* é mais frequentemente associado às doenças humanas (MADIGAN et al., 2010).

S. aureus é o maior causador de surtos de toxinfecção, em razão do importante papel desempenhado pelos manipuladores durante as diferentes etapas de processamento dos alimentos somado aos riscos de contaminação das matérias-primas deste de sua origem e das temperaturas inadequadas de conservação pós-cozimento (GERMANO; GERMANO, 2011).

O *S. aureus* é a mais resistente de todas as bactérias patogênicas não formadoras de esporos. É um organismo coagulase positivo, catalase positivo, oxidase negativo e anaeróbio facultativo. Multiplica-se entre 7 °C e 48 °C, sendo 37 °C a temperatura ótima para desenvolvimento (GERMANO; GERMANO, 2011). A espécie *S. aureus* produz toxinas que contribuem para a patogenicidade da bactéria, aumentando sua habilidade de invadir o corpo e danificar os tecidos (TORTORA et al., 2003).

As faixas de pH e atividade de água suportadas pelas bactérias são muito amplas. O pH situa-se entre 4 e 10, enquanto a atividade de água, entre 0,83 e 0,99 ou superior. *S. aureus* é tolerante ao sal, multiplicando-se com facilidade nos meios que contêm entre 5 e 7,5% de cloreto de sódio (GERMANO; GERMANO, 2011).

A coagulase, uma das substâncias produzidas por *S. aureus*, é uma enzima que provoca a coagulação da fibrina e formação de um coágulo. A produção de coagulase geralmente está associada à patogenicidade. A formação de coágulos induzida pela coagulase resulta no acúmulo de fibrina ao redor das células bacterianas, dificultando o acesso dos agentes de defesa produzidos pelo hospedeiro contra as bactérias, impedindo sua fagocitose (MADIGAN et al., 2010). Os estafilococos existem no ar, na poeira, no esgoto, na água, no leite, nos alimentos e equipamentos de processamento de alimentos, nas superfícies expostas aos ambientes, nos seres humanos e nos animais (FORSYTHE, 2002).

No Brasil, no Estado de Goiás, foram isoladas 419 linhagens de *S. aureus* a partir de amostras de queijo tipo mozzarella, colhidas em diferentes etapas do processamento industrial, entre as quais 62,1% eram de provável origem humana e 23,4% de origem bovina, ressaltando a importância do homem como fonte de contaminação do patógeno para os alimentos. Os alimentos mais envolvidos pela contaminação de *S. aureus* são aqueles com elevado teor de umidade e alta porcentagem de proteína, como carnes e produtos derivados de bovinos, suínos

e aves, além de ovos. Podem ser isolados ainda a partir de carcaças de frango *in natura* e resfriadas, bem como de peixes e frutos do mar. Outro grupo de alimentos importante é o de leite e derivados, como queijos cremosos e produtos de confeitaria. O treinamento de manipuladores é um dos procedimentos de maior relevância para a prevenção da contaminação de alimentos durante as diferentes fases de preparo, aí incluídas todas as medidas de higiene pessoal, utensílios e instalações (GERMANO; GERMANO, 2011).

2.3 Sanitizantes / Desinfetantes

Biocida, ou produtos biocidas, são moléculas químicas ativas utilizadas para controlar o crescimento ou matar bactérias. Neste grupo (SCENIHR, 2009b) estão incluídos, entre outros, os antissépticos, conservantes e os desinfetantes. Uma adequada limpeza e desinfecção desempenham um papel vital na proteção de animais destinados à alimentação, de doenças endêmicas e zoonóticas e, assim, protegendo indiretamente a saúde humana. Na criação destes animais os desinfetantes são essencialmente utilizados na desinfecção dos criatórios, particularmente entre os lotes de animais; como barreiras sanitárias (ex.: desinfecção de veículos e materiais durante surto de doença infecciosa); aplicação direta em superfícies corporais, como por exemplo, nos tetos e na preservação de produtos específicos como ovos e sêmen (SCENIHR, 2009a).

A desinfecção é a aplicação de agentes físicos ou químicos em uma superfície limpa, com o objetivo de reduzir a carga microbiana a um nível que não represente risco para a saúde. Utilizada também para o controle de micro-organismos, quanto à destruição de células vegetativas, porém não necessariamente de esporos (OLIVEIRA, 2001).

A regulamentação do uso de saneantes, no Brasil, está a cargo da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que atuam no registro e notificação desses produtos, antes de sua comercialização, observando critérios de qualidade para garantir eficácia e segurança desses produtos. A Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 14 de 28 de fevereiro de 2007, aprova o Regulamento Técnico para Produtos Saneantes com ação antimicrobiana destinados ao uso em objetos, sobre superfícies inanimadas e ambientes, em domicílios, em indústrias, em hospitais, estabelecimentos relacionados com o atendimento à saúde e em locais ou estabelecimentos públicos ou privados (BRASIL, 2007). O MAPA em sua Instrução

Normativa (IN) nº 26/2009, regulamenta a fabricação, o controle de qualidade e a comercialização de produtos antimicrobianos de uso veterinário (BRASIL, 2009).

A desinfecção é considerada como um passo crucial na obtenção de uma definição do estado de higiene desejado em ambientes de produção e processamento de alimentos, e em plantas de processamento de alimentos. A limpeza e sanitização, na indústria de carnes e seus derivados, é uma prática de grande importância no sentido de evitar contaminação dos mesmos, que levam à perda das suas qualidades organolépticas e nutricionais pela sua deterioração, ou que pode ocasionar enfermidades de maior ou menor gravidade ao homem (COLLA et al., 2012). Uma variedade de biocidas são comumente utilizadas para a desinfecção de equipamentos, contentores, superfícies ou condutos relacionados à produção, transporte e armazenamento de alimentos ou bebidas, incluindo água potável (SCENIHR, 2009a).

A suscetibilidade a desinfetantes pode variar muito entre os diferentes tipos de micro-organismos e também podem diferir entre as diferentes estirpes da mesma espécie, por exemplo, as bactérias, possuem diferentes graus de suscetibilidade a biocidas (MACHADO et al., 2010; MAILLARD, 2002; RUSSEL, 1998). Existem dois principais mecanismos de resistência a desinfetantes. O primeiro é a resistência intrínseca, que pode ser uma característica própria do micro-organismo, geralmente apresentada por bactérias Gram negativas, esporuladas, micobactérias e por vezes estafilococos. O segundo mecanismo é o da resistência adquirida, onde o micro-organismo adquire resistência por mutação mediada por plasmídios ou transposons, geralmente está associada aos compostos mercuriais e a outros sais metálicos e tem sido observada em estafilococos (BOROWSKY et al., 2006).

2.4 Plantas Medicinais

2.4.1 Plantas medicinais no Brasil

Os primeiros europeus que chegaram ao Brasil depararam-se com uma grande quantidade de plantas medicinais em uso pelas tribos indígenas que aqui viviam (LORENZI; MATOS, 2002). Existem relatos de que os primeiros médicos portugueses, que chegaram ao Brasil, muito cedo perceberam a importância dos remédios de origem vegetal utilizados pelos indígenas, pois não tinham acesso aos remédios que utilizavam na Europa (BRASIL, 2012).

No Brasil, diferentes tradições terapêuticas contribuíram para a formação da medicina popular. A partir do século XVI, o contato entre os povos ibéricos e indígenas de várias etnias, criou uma complexa combinação de elementos de medicamentos europeus e autóctones. Os escravos africanos trazidos para o Brasil para trabalhar na agricultura e mineração contribuíram, de maior forma, para moldar a medicina popular. Uma característica compartilhada por estas diferentes tradições terapêuticas é a utilização de plantas, pelo menos até certo ponto, para tratamento de doenças (AMOROSO, 2004).

Até o século XX, o Brasil era um país essencialmente rural, utilizando-se amplamente da flora medicinal, tanto a nativa quanto a introduzida. Com o início da industrialização e consequente urbanização do país, o conhecimento tradicional passou a ser posto em segundo plano. O acesso a medicamentos sintéticos e o pouco cuidado com a comprovação das propriedades farmacológicas das plantas tornou o conhecimento da flora medicinal sinônimo de atraso tecnológico e muitas vezes charlatanismo. As profundas alterações que tanto a sistemática vegetal quanto a medicina experimentaram, no final do século XIX e todo o século XX, também contribuíram para o afastamento do estudo das plantas medicinais. Este estudo mostrou uma resistência inicial a acompanhar as grandes revoluções científicas ocorridas neste período. Essa inadequação inicial manteve a fitoterapia em um período de obscurantismo (LORENZI; MATOS, 2002).

Atualmente, grande parte da população brasileira tem encontrado nas plantas medicinais, uma importante fonte de recursos terapêuticos. Isso se deve, entre outros fatores, a crise econômica e o alto custo dos medicamentos industrializados, assim como, ao difícil acesso da população à assistência médica. Aliada a esta situação, verifica-se uma tendência da população na utilização de “produtos naturais” (BALDAUF et al., 2009) e ainda ao fato de as pessoas se renderem à facilidade de se obter as plantas medicinais, que muitas vezes são cultivadas nos quintais de suas casas (PILLA et al., 2006).

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, com 15 a 20% das espécies do planeta, com destaque às plantas superiores, nas quais detém aproximadamente 24% da biodiversidade (BRASIL, 2006). Possui também em seu território a maior riqueza de espécies da flora, além dos maiores remanescentes de ecossistemas tropicais (LEITE; CORADIN, 2011). A magnitude desta biodiversidade não é conhecida com precisão, tal a sua complexidade, estimando-se mais de 2 milhões de espécies distintas de plantas, animais e micro-organismos (BRASIL, 2012).

Dentro deste contexto, as plantas são utilizadas como matéria-prima para fabricação de fitoterápicos e outros medicamentos. Além de seu uso como matéria prima, as plantas são também utilizadas em práticas populares e tradicionais como remédios caseiros e comunitários, processo conhecido com medicina tradicional. Além de um acervo fitogenético, o Brasil possui uma rica diversidade cultural e étnica, que resultou em um acúmulo de conhecimentos e tecnologias tradicionais, que foram transmitidas de geração para geração, onde se destaca o acervo de conhecimentos sobre manejo e uso de plantas medicinais (BRASIL, 2006). Apesar disso, o potencial de uso de plantas como fonte de novos medicamentos é ainda pouco explorado (BRASIL, 2012). No Brasil, com cerca de 55 mil espécies de plantas, há relatos de que somente 0,4% da flora possui investigações (GURIB-FAKIM, 2006).

Esta imensa biodiversidade possui uma alta taxa de endemismo biológico e está dispersa em biomas únicos. Esta diversidade biológica vem sendo estudada, ao longo de sessenta anos, sob vários aspectos, em pesquisas multidisciplinares. Uma variedade de metabólitos foi obtida, e várias substâncias apresentaram atividades biológicas e farmacológicas relevantes, apresentando assim, grande potencial para o desenvolvimento de protótipos de fármacos, cosméticos, agroquímicos e suplementos alimentares. No entanto, possuímos poucos exemplos de sucesso comercial de princípios ativos (JOLY et al., 2011).

A orientação da Organização Mundial da Saúde (OMS) é fazer uma conexão entre a medicina tradicional empírica e a medicina científica. Visto isso, a OMS e o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF), promoveram, a Conferência Internacional sobre Atenção Primária em Saúde em Alma-Ata (GENEBRA, 1978), pela necessidade de proteger e promover a saúde dos povos do mundo. Ao final da década de 70, a OMS criou o Programa de Medicina Tradicional, que recomenda aos estados-membros, o desenvolvimento de políticas públicas para promover a integração da medicina tradicional e da medicina complementar alternativa nos sistemas nacionais de atenção a saúde, promovendo também o uso racional desta integração (BRASIL, 2006). Segundo a OMS, 80% da população mundial utiliza principalmente plantas medicinais tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde, e 85% destas utilizam plantas ou preparações destas (ALMEIDA, 2011; BRASIL, 2006).

2.5 Compostos bioativos e atividade antibacteriana/desinfetante de plantas medicinais

A atividade biológica de plantas medicinais tem sido objeto de intensa investigação científica. Plantas superiores e aromáticas são amplamente utilizadas na medicina popular, uma vez que apresentam amplo espectro de atividade e inibição comprovada contra bactérias e fungos. A maioria dessas propriedades é conferida por produtos do metabolismo secundário, como terpenóides e compostos fenólicos, que também na forma pura exibem atividade. Extratos e óleos de várias espécies mostraram-se eficientes no controle de fungos relacionados a infecções da pele, sobre bactérias patogênicas bucais, e sobre uma variedade de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (DUARTE et al., 2004).

2.6 Pesquisa fitoquímica

O objetivo da pesquisa fitoquímica é conhecer os constituintes químicos de espécies vegetais ou avaliar sua presença. No caso de indisponibilidade de estudos químicos sobre a espécie de interesse, a análise fitoquímica preliminar pode indicar os grupos de metabólitos secundários relevantes na mesma (FALKENBERG et al., 2002).

Estes produtos químicos produzidos pelos vegetais podem ser classificados em dois grandes grupos. Os primeiros, os metabólitos primários ou macromoléculas, são essenciais a todos os seres vivos. Neste grupo estão incluídos os lipídios, protídeos e glicídios que possuem funções vitais bem definidas. Os produtos do metabolismo primário, através do dispêndio de energia, originam o segundo grupo de compostos químicos, os metabólitos secundários ou micromoléculas. Os metabólitos secundários apresentam, geralmente, estruturas complexas, baixo peso molecular, marcantes atividades biológicas e são encontrados em concentrações baixas em determinados grupos vegetais, ao contrário dos metabólitos primários. Antigamente, alguns autores relataram que os metabólitos secundários eram apenas subprodutos do metabolismo primário. Porém, o fato de o vegetal utilizar elaboradas vias biosintéticas e elevados gastos de energia, conduz ao pensamento de que os vegetais utilizam toda essa energia para elaboração de compostos que serão utilizados para sua sobrevivência e preservação, atuando primeiramente na defesa do vegetal, agindo como dissuasórios alimentares e como toxinas, ou também atraindo insetos, pássaros e morcegos, responsáveis pela polinização de muitas plantas (VON POSER; MENTZ, 2002).

Essas substâncias produzidas pelo metabolismo secundário da planta podem ser divididas, basicamente, em dois grupos: as fitoanticipinas, que estão presentes na forma constitutiva das plantas, e as fitoalexinas, cuja presença aumenta de forma considerável em resposta a invasão microbiana. Foram isolados em torno de 12000 compostos a partir de organismos vegetais e estima-se que representam apenas 10% dos metabólitos secundários. Uma porcentagem importante destes metabólitos possui certa atividade frente a micro-organismos. As plantas possuem uma enorme capacidade em sintetizar compostos, a maioria relacionada ao fenol e seus derivados. Os principais grupos de compostos gerados pelas plantas são: fenóis simples (ex.: timol, ácido antêmico, terpenóides, etc.); quinonas (ex.: hipericina); taninos; cumarinas; flavonoides (ex.: catequina, isoflavona, quercetina, etc.); alcaloides (ex.: coca, piperina, mescalina) e saponinas (DOMINGO; LÓPEZ-BREA, 2003).

2.6.1 - Fenóis e heterosídeos fenólicos

2.6.1.1 - Compostos fenólicos simples

Fenóis são compostos em que o elemento estrutural fundamental que os caracteriza é a presença de ao menos um anel aromático benzênico que contém um ou mais grupos hidroxila livre ou formando parte de outra função: éter, éster, heterosídeo (Figura 1). Estão largamente distribuídos em plantas, geralmente ligados a açúcares como glicosídeos. Alguns exemplos destes compostos são o catecol, pirogalol e os ácidos cinâmico, caféico, cumárico e ferúlico (D'AMELIO, 1998; DOMINGO; LÓPEZ-BREA, 2003; BRUNETON, 2001). Os locais e o número de grupos hidroxila (OH) no anel parecem ter relação direta com a toxicidade frente aos micro-organismos, de forma que um aumento na hidroxilação está ligado a um aumento na toxicidade (DOMINGO; LÓPEZ-BREA, 2003). Na natureza a síntese de um anel aromático é feito apenas pelas plantas e micro-organismos (BRUNETON, 2001).

Dentro deste grupo, podemos destacar algumas plantas produtoras destes compostos como a gayuba (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., Ericaceae), tradicionalmente utilizada no tratamento de infecções urinárias, cujos princípios ativos são heterosídeos fenólicos, representados pela arbutina (DOMINGO; LÓPEZ-BREA, 2003), também foi apontada atividade antibacteriana e antiviral de ésteres de ácido caféico, onde destaca-se o echinacosídeo, em diversas espécies de *Echinacea*, e o plantamajosídeo de *Plantago major* L. (CARVALHO et al., 2002). Estudos desenvolvidos por Falcão et al. (2002) detectaram a

presença de diversos compostos fenólicos na espécie de líquen *Heterodermia leucomela* (L.) Poelt, sendo a atranorina e a zeorina, os principais princípios ativos com ação antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*.

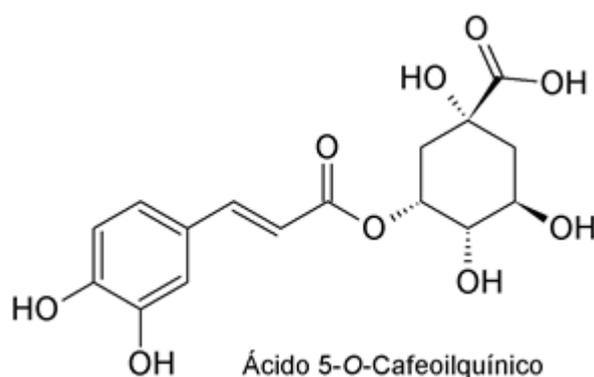


Figura 1 – Estrutura química do Ácido-5-O-Cafeoilquínico, um composto fenólico isolado de *Jacaranda caroba* (FERRERES et al, 2013).

2.6.1.2 - Quinonas

Quinonas são compostos oxigenados formados a partir da oxidação de fenóis (Figura 2). A principal característica é a presença de dois grupos carbonílicos que formam um sistema conjugado com pelo menos duas ligações duplas entre carbonos. Estão divididas em três grandes grupos: as benzoquinonas, as naftoquinonas e as antraquinonas. Dentre estes grupos, as naftoquinonas apresentam atividade antibacteriana e fungicida. Como exemplos de plantas que possuem este grupo químico estão *Drosera rotundifolia* L. e *Drosera peltata* Sm., cujo um dos princípios ativos é a plumbagina, um composto dotado de propriedades antibacterianas frente as estafilococos, estreptococos, pneumococos, assim como frente alguns Gram negativos, como salmonelas. Também possui certa atividade frente a certos fungos patogênicos e alguns protozoários parasitas (leishmanias) (BRUNETON, 2001).

Estudos envolvendo *Tabebuia avellanadae*, desenvolvidos por Machado et al. (2003), atribuíram atividade antimicrobiana do extrato frente *Staphylococcus aureus*. A responsabilidade pela atividade foi atribuída a naftoquinona α -xyloidone.

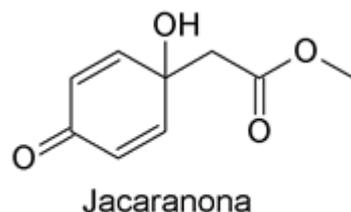


Figura 2 – Estrutura química da Jacaranona, uma quinona isolada de *Jacaranda* spp. (GACHET & SCHÜHLY, 2009).

2.6.1.3 - Taninos

Historicamente, a importância dos taninos está relacionada à suas propriedades de curtimento, ou a capacidade que possuem de transformar a pele fresca em um material imputrescível, o couro. Os taninos são substâncias quimicamente complexas, e se apresentam geralmente como uma mistura de polifenóis (Figura 3). Podem ser classificados como taninos hidrolisáveis e taninos condensados (D'AMELIO, 1998; BRUNETON, 2001). Os taninos condensados em geral estão amplamente distribuídos em plantas lenhosas, já os taninos hidrolisáveis ocorrem em dicotiledônias herbáceas e lenhosas, porém dentro de limites taxonômicos bem definidos (MELLO; SANTOS, 2002). A maioria das propriedades biológicas dos taninos se deve ao poder que possuem de formar complexos com macromoléculas (adstringência), especialmente de proteínas (enzimas digestivas, proteínas fúngicas ou virais). Seja qual for a via de administração, tópica ou uso interno, os taninos exercem um efeito antisséptico – antibacteriano e antifúngico, demonstrando ser moléculas de interesse (D'AMELIO, 1998; BRUNETON, 2001). Já foram descritos mais de 30 taninos que podem inibir fungos e bactérias. Um exemplo é o tanino existente no eucalipto (*Eucalyptus globulus*) (DOMINGO; LÓPEZ-BREA, 2003).

O efeito antimicrobiano do extrato da casca de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), foi atribuído por Audi et al. (2004), pelo alto teor de taninos. Torres et al. (2008) detectaram a presença de taninos condensados nos extratos hidrofílicos de *Leonotis nepetaefolia* e *Leucas martinicensis* (“cordão-de-frade”), podendo ser atribuída a estes compostos, a atividade antimicrobiana.

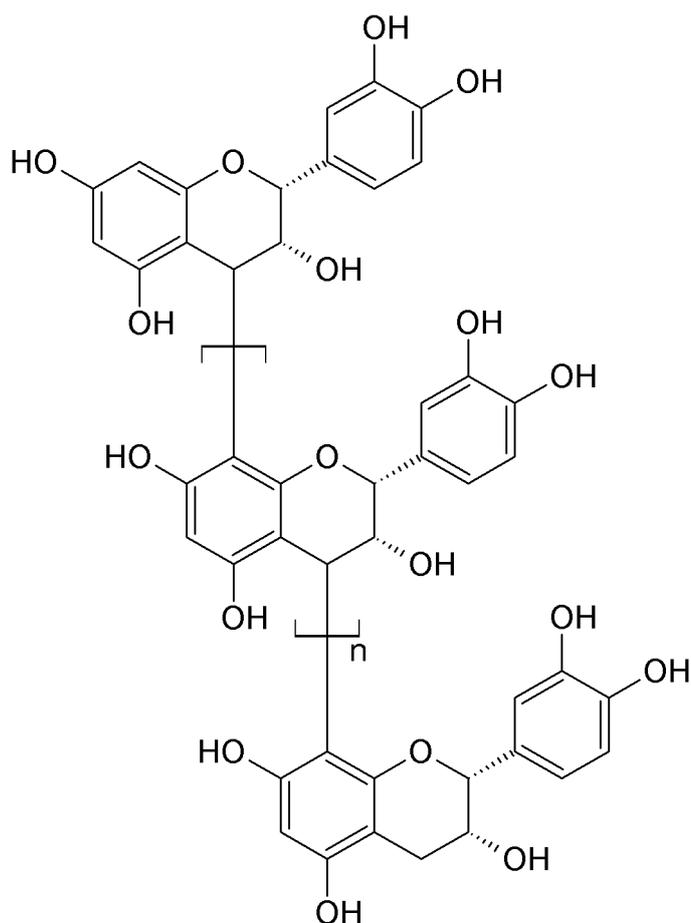


Figura 3 – Estrutura química geral de um tanino condensado (Da autora).

2.6.1.4 - Flavonoides

Os flavonoides são sintetizados pelas plantas e pertencem ao grupo dos compostos fenólicos. A estrutura dos flavonoides é baseada no núcleo que consiste de dois anéis fenólicos, e um anel que pode ser pirano heterocíclico (Figura 4), como no caso dos flavonóis (catequinas) e antocianidinas, ou pirona, como nos flavonóis, flavonas, isoflavonas e flavanonas (HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

Além da pigmentação de frutas, flores, sementes e folhas, os flavonoides também atuam na sinalização entre plantas e micróbios, na fertilidade de algumas espécies, na defesa como agentes antimicrobianos e na proteção a radiação ultravioleta (WINKEL-SHIRLEY, 2001).

Também são conhecidos por suas propriedades anti-inflamatórias, antialérgicos, hepatoprotetores, antiespasmódicos, hipocolesterolemiantes, diuréticos, antibacterianos e antivirais (BRUNETON, 2001).

No estudo sobre influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica da própolis no sudeste e nordeste do Brasil, Castro et al. (2007) verificaram que a sazonalidade influenciou a atividade antibacteriana das própolis devido, provavelmente, à alteração na concentração de compostos bioativos oriundos das fontes vegetais destas própolis. Verificaram que nos meses que em a própolis apresentou maior atividade antibacteriana, correspondeu a o período que apresentou maior concentração de compostos fenólicos e flavonoides, compostos já considerados substâncias biologicamente ativas.

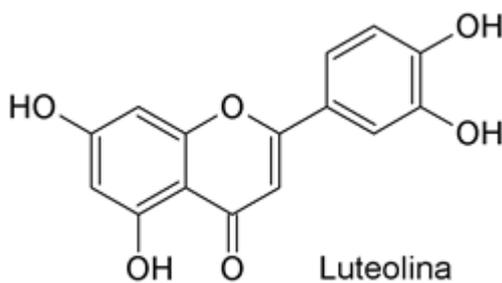


Figura 4 – Estrutura química da Luteolina, um flavonóide isolado de *Jacaranda* spp. (GACHET & SCHÜHLY, 2009).

2.6.2 - Cumarinas

São compostos derivados da benzo- α -pirona (Figura 5) como a cumarina, esculetina, umbeliferona e a escopoletina. Possuem compostos que são venotônicos e protetores vasculares, anti-inflamatórios, antitrombóticos e vasodilatadores (BRUNETON, 2001; DOMINGO; LÓPEZ-BREA, 2003). Além destas propriedades, também são atribuídos a esses compostos uma grande variedade de atividades biológicas, como a antimicrobiana, antiviral, antitumoral e antioxidante, as quais podem estar relacionadas com a inibição da atividade de enzimas (SASAKI, 2008).

Alguns estudos antigos com *Hieracium pilosella* L., planta utilizada para o tratamento da brucelose na medicina veterinária, atribuíam à umbeliferona, um de seus princípios ativos, atividade bacteriostática (BRUNETON, 2001; DOMINGO; LÓPEZ-BREA, 2003).

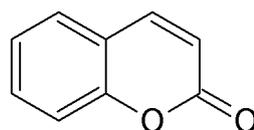


Figura 5 – Estrutura química geral de uma cumarina (Da autora).

2.6.3 - Alcaloides

São descritos como substâncias nitrogenadas heterocíclicas (Figura 6). Os alcaloides possuem uma estrutura complexa em que seu átomo de nitrogênio forma parte de um sistema heterocíclico e possuem uma atividade farmacológica significativa (BRUNETON, 2001). Pertencem a este grupo, entre outras substâncias importantes, a morfina, heroína e cocaína. Um exemplo são os derivados da casca de *Cinchona officinalis* utilizados no tratamento da malária. O mecanismo de ação dos alcaloides parece estar na interação entre a parede celular e o DNA do micro-organismo (DOMINGO; LÓPEZ-BREA, 2003).

Stefanello et al. (2009), realizaram o estudo fitoquímico e a avaliação da atividade antimicrobiana de *Talauma ovata* St. Hil. (Magnoliaceae), popularmente conhecida como baguaçú ou pinha-do-brejo. O estudo fitoquímico possibilitou o isolamento de alcaloides, entre eles, xilopina e liriodenina, conhecidos pela sua atividade antibacteriana, e que possivelmente contribuíram com a atividade inibitória frente a bactérias testadas e atividade antifúngica contra *Candida albicans*.

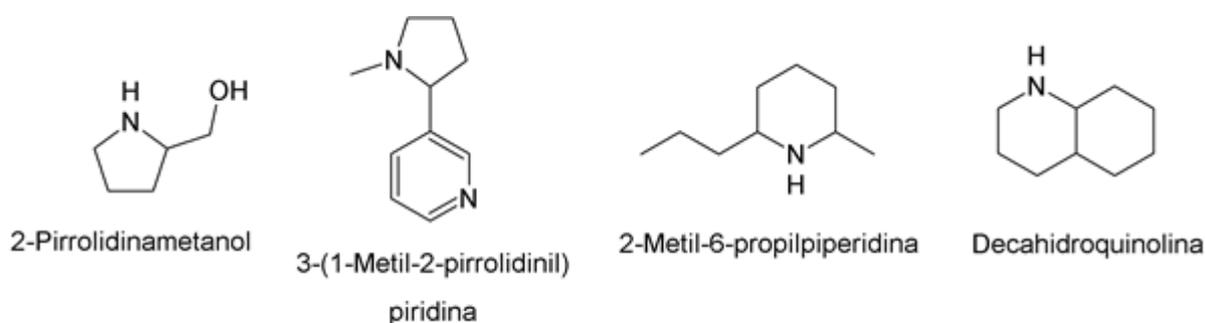


Figura 6 – Estrutura química de alguns alcaloides identificados de *Tecomella undulata* (Bignoniaceae) (LAGHARI et al, 2014).

2.6.4 - Saponinas

Saponinas são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos (Figura 7). É uma estrutura que possui uma parte com característica lipofílica (triterpeno ou esteroide) e outra parte hidrofílica (açúcares). Essa característica determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes e emulsificante (SCHENKEL et al., 2002). As saponinas são encontradas em tecidos que são mais vulneráveis ao ataque de fungos, bactérias e insetos (WINNA et al., 2005).

O comportamento anfifílico das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteroides, proteínas e fosfolipídios de membrana, determinam a variedade de propriedades biológicas destas substâncias, onde se destaca a ação sobre membranas celulares, alterando sua permeabilidade e causando sua destruição. Estudos utilizando a calêndula (*Calendula officinalis* L.), detectaram a presença de compostos do grupo das saponinas, sendo que, os extratos utilizados tiveram ações bactericida, fungicida, viruscida e tricomonocida (SCHENKEL et al., 2002).

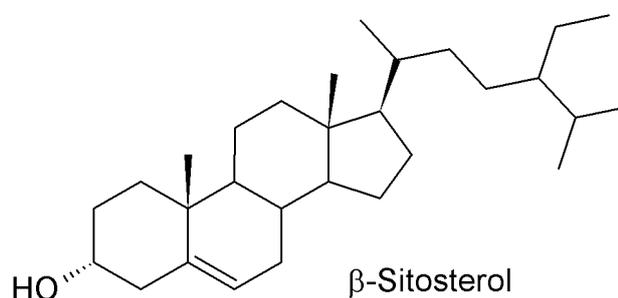


Figura 7 – Estrutura química do β-Sitosterol, uma saponina triterpênica isolada de *Jacaranda* spp. (GACHET & SCHÜHLY, 2009).

2.7 - Fatores que influenciam o conteúdo de metabólitos secundários

Entende-se por metabolismo o conjunto de reações químicas que ocorrem continuamente em cada célula. Presenças de enzimas específicas promovem certa direção a essas reações, o que chamamos de rotas metabólicas. Os compostos químicos formados, degradados ou transformados, são denominados de metabólitos. Primeiramente, estas reações visam ao aproveitamento de nutrientes para satisfazer as necessidades básicas da célula, como, por exemplo, energia (derivado do ATP), poder redutor (NADPH) e biossíntese das

substâncias essenciais à sobrevivência da mesma – macromolécula, sendo denominado de metabolismo primário. Entretanto, os vegetais apresentam um arsenal de enzimas, coenzimas e organelas capazes de produzir, transformar e acumular diversas substâncias não diretamente relacionadas à manutenção da vida do produtor. A produção e acumulação dessas substâncias são restritas a um número de organismos e são consideradas como elementos de diferenciação e especialização, garantem vantagens para a sobrevivência da espécie e sua perpetuação em um ecossistema. A este conjunto metabólico dá-se o nome de metabolismo secundário (SANTOS, 2002). Dentre os metabólitos secundários existem componentes que são responsáveis pela atividade antimicrobiana, e sua produção pode ser influenciada conforme fatores a seguir mencionados.

Em geral, as espécies vegetais apresentam épocas específicas em que contêm maior quantidade de princípio ativo no seu tecido, podendo esta variação ocorrer tanto no período de um dia como em épocas do ano. São relatadas variações sazonais no conteúdo de praticamente todas as classes de metabólitos secundários (REIS; MARIOT, 2002; GOBBO-NETO; LOPES, 2006). O conhecimento do momento correto de coleta do material desejado leva à obtenção de produtos de melhor qualidade. Geralmente, essa variação ocorre em função do estágio em que se encontra a planta, como na plena floração ou no período que antecede a floração (REIS; MARIOT, 2002). A idade, o estágio de desenvolvimento da planta, os diferentes órgãos vegetais, também são de grande importância e podem influenciar na produção de metabólitos e também nas proporções relativas dos componentes (BOWERS; STAMP, 1993). A temperatura de cultivo é outro fator importante. A faixa em que ocorrem as variações anuais, mensais e diárias na temperatura é um dos fatores que exerce maior influência no desenvolvimento da planta, afetando, portanto, a produção de metabólitos secundários. Além dos fatores já mencionados, outros como, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, utilização de macro e micronutrientes do solo, altitude, poluição atmosférica e a indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos, pode interferir na produção de metabólitos secundários (GOBBO-NETO; LOPES, 2006).

A utilização de ferramentas apropriadas é uma maneira adequada de se evitar danos às plantas. O instrumento de corte no momento da colheita deve ser afiado, para que a cicatrização ocorra o mais breve possível, pois as aberturas no tecido das plantas favorecem a contaminação por doenças e pragas. O recipiente de coleta do material colhido não deverá danificá-lo, pois o esmagamento das plantas acelera a degradação das mesmas. A incidência

de raios solares sobre o material colhido também acelera a degradação de substâncias das plantas. Por isso, o material colhido deve ser rapidamente levado ao local de secagem para impedir reações que destruam os princípios ativos das plantas. O local de secagem das plantas deve ser limpo, bem ventilado, protegido do ataque de insetos e de outros animais e ao abrigo de luz. A secagem das plantas deve ser individual, para não haver mistura de elementos voláteis. O período de armazenamento deve ser o menor possível, pois com o passar do tempo podem ocorrer perdas qualitativas e/ou quantitativas nas substâncias ativas das plantas (REIS; MARIOT, 2002).

2.8 - *Jacaranda micrantha* Cham.

A família *Bignoniaceae* é constituída por 113 gêneros e 800 espécies de plantas arbustivas, arbóreas e trepadeiras. As espécies deste táxon encontram-se distribuídas nas regiões tropicais de todo o mundo, sendo de ocorrência frequente no continente americano, cujos jacarandás (*Jacaranda brasiliana*) e Ipês amarelo e roxo (*Tabebuia alba* e *T. avellanadae*) são os exemplos mais representativos da família (CARVALHO et al., 2009).

A espécie *Jacaranda micrantha* Cham. (caroba), que pertence à família *Bignoniaceae*, é uma árvore de grande porte, de até 30 metros de altura, caducifólia, com longos fustes de até 60 cm de diâmetro (FIGURA 8). Casca acinzentada (FIGURA 9), folhas opostas, compostas, imparipenadas, com inflorescência do tipo tirso, terminal (FIGURA 10). As flores são tubulosas, roxas e hermafroditas (FIGURA 11). Seus frutos, do tipo síliqua, são arredondados, ondulados e lenhosos (FIGURA 12). A espécie é adequada para regeneração de áreas degradadas com a finalidade de preservação permanente. É utilizada, assim como outros representantes da família *Bignoniaceae*, na marcenaria, carpintaria, construção civil e construção de instrumentos musicais devido à natureza rígida da madeira. Além disso, no planejamento urbano é também utilizada como planta ornamental, devido as suas belas florações, sendo o Ipê o exemplo mais conhecido no paisagismo urbano. A casca é usada contra doenças de pele, reumatismo e problemas de garganta (BACKES; IRGANG, 2002; CARVALHO et al., 2009). *Jacaranda micrantha* Cham. encontra-se em regiões tropicais como Paraguai, nordeste da Argentina e Brasil, onde encontra-se distribuída de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul (SOBRAL; JARENKOW, 2013).



Figura 8 – Vista geral de uma espécime de *Jacaranda micrantha* (LOPES, 2012).



Figura 9 – Detalhe do tronco da espécie (LOPES, 2012).



Figura 10 – Detalhe das folhas frente e verso (SAUERRESSIG, 2012).



Figura 11 – Detalhe das flores (JULKOWSKI, 2012).



Figura 12 – Detalhe dos frutos tipo síliqua (KAMBAMI, 2013).

Em estudo realizado por Avancini e Wiest (2008), *J. micrantha* Cham., apresentou ação sobre *Salmonella Choleraesuis* utilizando soluções de decoto e maceração hidroalcoólica e também apresentou ação sobre *Staphylococcus aureus*, porém somente com a utilização de solução hoidroalcoólica.

Wiest et al. (2009), em seus estudos também testaram *J. micrantha* Cham., frente a *Salmonella* sp., obtendo resultados de ação sobre estas bactérias tanto no uso de decocto quanto de maceração hidroalcoólica.

2.9 Compostos (fito)químicos presentes na família Bignoniaceae

Estudos fitoquímicos de algumas espécies da família Bignoniaceae demonstraram a presença de diversas classes de substâncias químicas como ácidos graxos, açúcares, antocianinas glicosiladas, terpenos, alcalóides taninos, flavonóides, lignanas, compostos fenólicos e iridóides, e lapachol, um tipo de naftoquinona (MUNOZ-MINGARRO et al., 2003; GACHET; SCHÜHLY, 2009).

Em relação aos gêneros da família Bignoniaceae, estudo desenvolvido por Carvalho et al. (2009), detectaram a presença simultânea de taninos, flavonóides, heterosídeos cardiotônicos, saponinas, triterpenos e esteroides, nos extratos aquoso, etanólico e diclorometano de *Tynnanthus fasciculatus*, Miers (cipó-cravo). De Almeida Souza et al. (2011), através da análise fitoquímica dos extratos etanólicos da semente e folha e do extrato hexânico da folha de *Pithecoctenium crucigerum*, identificaram a presença de heterosídeos, flavonóides (flavonas, flavonóis e xantonas), alcalóides e derivados de cumarinas e saponinas espumídicas. A espécie *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers, conhecida popularmente por flor ou cipó-de-São-João, apresentou a presença de compostos fenólicos nos extratos metanol, hexano e acetato (SILVA et al., 2011).

2.10 - Compostos (fito)químicos presentes no gênero *Jacaranda*

Em relação ao gênero *Jacaranda*, estudos dos componentes químicos foram descritos para seis espécies: *Jacaranda acitufolia*, *Jacaranda caucana*, *Jacaranda copaia*, *Jacaranda decurrens*, *Jacaranda filicifolia* e *Jacaranda mimosifolia*. (GACHET; SCHÜHLY, 2009). As principais substâncias isoladas entre estas espécies foram: triterpenos, quinonas, flavonóides, ácidos graxos, acetosídeos e feniletanóides (ARRUDA et al., 2012). O fitoquinóide jacarona foi isolado a partir do extrato metanólico de folhas e gravetos de *Jacaranda caucana* (FARNSWORTH et al., 1977 apud MARTINS et al. 2008).

Segundo Higuchi et al. (2008), os principais terpenóides isolados dos extratos metanólicos das cascas e folhas de *Jacaranda cuspidifolia*, que inibiram o crescimento de *Micobacterium tuberculosis*, foram lupeol, ácido ursólico e ácido oleanólico. Estes dois últimos compostos químicos também foram isolados de outras espécies de *Jacaranda* (GACHET; SCHÜHLY, 2009). Já Braga et al. (2003), isolaram ácido ursólico, α -amirina e uma mistura de ácidos ursólico e oleanólico de *Jacaranda caroba*. Estes achados vão de encontro aos estudos de Varanda et al. (1992), que encontrou no extrato hidroalcoólico de folhas de *Jacaranda decurrens*, os triterpenos ácidos ursólico e oleanólico. A prospecção fitoquímica dos extratos vegetais de *Jacaranda cuspidifolia* detectou a presença de taninos, flavonóides, terpenos, cumarinas e esteroides, segundo estudo realizado por Arruda et al. (2012).

2.11 - Compostos fitoquímicos presentes na espécie *Jacaranda micrantha* Cham.

Pilatti (2012), realizou estudo fitoquímico da espécie utilizando o extrato bruto metanólico das folhas do vegetal, através do uso de cromatografia em camada delgada e para substâncias invisíveis para esta técnica foram utilizadas reações colorimétricas. Para a espécie *J. micrantha* foram identificadas substâncias do grupo dos terpenos (saponinas), alcaloides e compostos fenólicos (taninos condensados).

CAPÍTULO II

Atividade antibacteriana/desinfetante de extrações galênicas de *Jacaranda micrantha* Cham. (caroba) sobre cepas de salmonela e estafilococos padrões e de isoladas em produtos de origem animal.

DREBES, T.^{1*}; ETHUR, E. M.²; AVANCINI, C.A.M.³

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); ² Centro Universitário do Vale do Taquari (Univates). Rua Avelino Tallini, 171, sala 406 prédio 8. Lajeado, RS. *E-mail: tainadrebes@univates.br. ³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva/Faculdade de Veterinária/ UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 9.090. Bairro Agronomia, Porto Alegre, RS. CEP 91.540-000. *Correspondência: tainadrebes@univates.br

Resumo

Relatos sobre resistência de micro-organismos a inúmeros produtos químicos-sintéticos convencionais, bem como demanda por tecnologias adequadas ao sistema de produção orgânico/agroecológico motivaram o desenvolvimento dessa pesquisa buscando soluções antimicrobianas originadas de extrações de vegetais. O objetivo deste trabalho foi avaliar atividade desinfetante em extrações de *Jacaranda micrantha* Cham. (caroba), selecionada baseado em investigação etnográfica sobre plantas medicinais nativas no sul do Brasil. Foram confrontadas as cepas padrões *Salmonella* Choleraesuis ATCC 10708 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, bem como as isoladas em alimentos de origem animal *Salmonella* spp (N=20) e *Staphylococcus* coagulase positiva (N=20). O método foi o de diluição, pelo teste de suspensão quantitativa para avaliar atividade bactericida de desinfetantes e antissépticos químicos. As formas foram decocto e extrato hidroetanólico (EH). A triagem, com os organismos padrões, ocorreu nas proporções (p : v) 5 g : 100 mL, 10 g : 100 mL e 20 g : 100 mL, hidratados ao volume inicial. As densidades populacionais (DP) de confronto foram 10^7 , 10^6 e 10^5 UFCmL⁻¹, nos tempo de contato de oito e 24 horas. A proporção 10 g : 100 mL foi usada para confrontar as isoladas. Verificada a identidade fitoquímica detectou-se a presença de compostos fenólicos, taninos condensados e flavonas tanto no decocto quanto maceração hidroacólica, e de saponinas apenas no decocto. A triagem evidenciou que o decocto praticamente não promoveu redução das densidades populacionais frente aos dois padrões, o mesmo ocorrendo frente as isoladas. Já o EH, na menor proporção p : v, inativou as cepas padrões na menor DP, e nas proporções 10 e 20 : 100 todas DP (exceção de 10^7 da *Salmonella*, apenas com redução). Frente aos isolados de *Salmonella* spp., inativou 5 % delas nas DP 10^6 e 10^5 UFCmL⁻¹, e frente as *Staphylococcus* coagulase positiva, 5 % na DP 10^7 , 40 % na 10^6 e 75 % na 10^5 UFCmL⁻¹. Concluiu-se que o decocto pouco apresentou atividade antibacteriana, enquanto que o EH promoveu ação de redução logarítmica das densidades populacionais ou mesmo de inativação total frente todas as bactérias. As evidências mostram que, além da densidade populacional de confronto, características intrínsecas dos indivíduos isolados dos dois gêneros também interferiram no tempo necessário para que a ação fosse promovida.

Palavras-chave: *Jacaranda*, desinfetante, antibacteriano, *Salmonella*, *Staphylococcus*.

ABSTRACT: Antibacterial/disinfectant activity of galenical extractions of *Jacaranda micrantha* Cham. - Bignoniaceae - ("caroba") against *Salmonella* and *Staphylococcus* standard and isolates from animal products. Reports of resistance of microorganisms to many conventional chemical-synthetic products, as well as the demand for appropriate organic / agroecological system technologies motivated the development of this research originated seeking antimicrobial solutions for extractions vegetables. The objective of this study was to assess disinfectant activity extractions *Jacaranda micrantha* Cham. (caroba), selected based on ethnographic research on native medicinal plants in southern Brazil. Standards strains *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 were compared, as well as isolates in foods of animal origin: *Salmonella* spp (N = 20) and *Staphylococcus* coagulase positive (N = 20). The method was to dilution by the quantitative suspension test for evaluating bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics. The forms were hydroethanolic extract (HE) and decoction. The screening with standards strains, occurred in the proportions (p: v) 5 g: 100 mL, 10 g: 100 ml and 20 g: 100 ml, hydrated to the original volume. Population densities (PD) of confrontation were 10^7 , 10^6 and 10^5 UFCmL⁻¹, the contact time of 8 and 24 hours. The ratio 10 g: 100 mL was used to confront the isolates. Verified the identity phytochemical detected the presence of phenolic compounds, flavones and condensed tannins as hidroacolic both the decoction and saponins only decoction. The screening showed that the decoction hardly promoted reduction of population densities across the two standards, the same occurring against isolated. Have the HE, the lowest proportion p: v, inactivated strains patterns in lower PD, and in the proportions 10 and 20: 100 all PD (except for the 10^7 *Salmonella*, only reduction). Against isolates of *Salmonella* spp. 5% of inactivated at 10^6 and 10^5 UFCmL⁻¹ PD and against *Staphylococcus* coagulase positive in 5% PD 10^7 , 40% 10^6 and 75% at 10^5 UFCmL⁻¹. It was concluded that the decoction showed little antibacterial activity, while the hydroalcoholic extract promoted action log reduction in population density or total inactivation forward all bacteria. Evidence shows that in addition to population density of confrontation, intrinsic characteristics of isolated individuals of both genders also interfered in the time required for the action to be promoted.

Key words: *Jacaranda*, disinfectant, antibacterial, *Salmonella*, *Staphylococcus*.

INTRODUÇÃO

A salmonelose e a estafilococose são consideradas epidemiologicamente importantes zoonoses, ou enfermidades transmissíveis comuns entre animais e seres humanos, sendo que a transmissão geralmente acontece através do consumo de alimentos de origem animal contaminados, principalmente carnes, ovos e leite (ACHA; SZYFRES, 1989). Esses microorganismos possuem distribuição mundial e estão amplamente disseminados na natureza (SHINOHARA et al., 2008), constituindo problema para a saúde animal e humana (BOROWSKY et al., 2006). No Brasil os patógenos *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva estão entre os principais agentes identificados em doenças transmitidas por alimentos (DTAs) (SVS, 2011).

A medicina veterinária preventiva possui como princípios evitar a ocorrência de doenças ou, quando já desencadeadas, interromper a sua evolução, estando, além do uso de antibióticos, a desinfecção entre as principais medidas. O procedimento de desinfecção visa agir sobre o agente causal quando em vida-livre nas superfícies dos ambientes, seja de saúde ou de produção animal. Limitações no uso dos antimicrobianos convencionais podem ocorrer devido à resistência de micro-organismos, ou mesmo por sistemas tecnológicos de criação animal referenciados nos modelos agroecológico e orgânico que demandam insumos/recursos sanitários veterinários considerados sustentáveis, para que sejam usados em substituição ou em complementaridade aos produtos convencionais. Entre as alternativas para superar essas limitações tem sido proposta, entre outras, o uso de plantas medicinais e de fitoterápicos (AVANCINI; WIEST, 2008).

O estudo da atividade antimicrobiana de plantas medicinais, condimentares e aromáticas vem se desenvolvendo no país como no trabalho apresentado por Avancini e Wiest (op. cit.), que selecionaram 21 plantas com indicativo etnográfico medicinal nativas do sul do Brasil, com ênfase à etnomedicina veterinária, etnosotaxia e etnoterapêutica de doenças de pele. A triagem para verificação da atividade bioativa antimicrobiana das soluções de decocto e maceração hidroalcoólica incluiu a *Jacaranda micrantha*, tendo sido demonstrada a ação sobre *Salmonella Choleraesuis* e *Staphylococcus aureus* padrões.

O gênero botânico *Jacaranda* pertence à família Bignoniaceae, a qual é composta por 800 espécies, estando estas distribuídas mundialmente nas regiões tropicais, ocorrendo com grande frequência no continente americano (CARVALHO et al., 2009). *J. micrantha* Cham., conhecida popularmente como “caroba”, encontra-se distribuída desde o estado de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul (SOBRAL; JARENKOW, 2006). É uma árvore de grande porte, podendo ser empregada na construção civil, além de ser utilizada como planta medicinal e para regeneração de áreas degradadas com a finalidade de preservação permanente (BACKES; IRGANG, 2002).

Os objetivos deste trabalho foram realizar o *screening* fitoquímico das soluções decocto e extrato hidroalcoólico hidratados das folhas de *J. micrantha*, a fim de indicar grupos de metabólitos secundários presentes, bem como avaliar a atividade antibacteriana dessas formas galênicas, em diferentes proporções planta : volume do solvente (p:v), frente à *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva padrões e isoladas em produtos de origem animal.

MATERIAL E MÉTODO

Amostra vegetal

A amostra de *J. micrantha* Cham. foi um exemplar localizado no Município de Lajeado / RS (29° 26' 33.81'' S - 51° 57' 12.56'' O). A coleta foi realizada no mês de novembro de 2012. A planta foi identificada botanicamente, a partir de exsicata, pela Prof^a. Elisete Freitas, do Departamento de Botânica do Centro Universitário Univates, sendo encaminhada para registro e depósito junto ao Herbário do Instituto de Biociências/Departamento de Botânica da UFRGS, Porto Alegre/RS, Brasil, recebendo o número ICN 176815. A parte usada foram as folhas, secas a temperatura ambiente.

Extrações

Triagem inicial foi realizada com as proporções (p : v) 5 g : 100 mL, 10 g : 100 mL e 20 g : 100 mL. No confronto com os isolados, unicamente a segunda proporção.

O decocto foi preparado com água destilada estéril, levada à ebulição em fogo brando por 15 minutos, em frasco Erlenmeyer (com boca parcialmente coberta), e posterior reconstituição do volume inicial também com água destilada estéril. Foi preparado sempre no mesmo dia em que eram realizados os testes.

O preparo da maceração hidroalcoólica (tintura) foi com álcool etílico de cereais à 70 °GL. Após o período de 15 dias, o álcool foi retirado com auxílio de aparelho evaporador rotativo (Marca Fisatom®, modelo 802 D), temperatura de 60 °C, sob pressão reduzida (FARMACOPÉIA, 1959), com posterior reconstituição do volume inicial com água destilada estéril.

Para o controle de esterilidade dos extratos, uma alíquota de 0,1 mL de cada foi inoculada em placas contendo Ágar TSA (Tryptic Soy Agar, OXOID®), sendo espalhado sobre a superfície com auxílio de uma alça de Drigalski e posteriormente incubado a 36 °C ± 1 °C, por 24 horas.

Amostras bacterianas

As cepas padrões para triagem foram *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

As cepas isoladas *Salmonella* spp. (N 20) e *Staphylococcus* coagulase-positiva (N 20) foram coletadas entre maio de 2012 a setembro de 2013 a partir de amostras de alimentos provenientes do laboratório de Microbiologia de Alimentos – Unianálises/UNIVATES. Foram obtidas em diferentes tipos de produtos, (cortes de carnes, linguiça, farinha de carne, queijo, ovos...) coletadas em dias diferentes assim como de empresas distintas para se evitar a utilização de possíveis clones.

Das isoladas de *Salmonella* spp. 40% eram de origem suína, 35% avícola, 15% bovina e 10% de origem mista. Dos *Staphylococcus* coagulase positiva 60% eram de origem avícola, 15% de origem suína, 15% de origem mista e 10% bovina.

Foram mantidos congelados (-20 °C) em criotubos contendo caldo BHI (caldo de infusão cérebro e coração - OXOID[®]) e glicerol (Vetec[®]). Após a reativação bacteriana, para a padronização da densidade dos inóculos foi utilizada a escala padrão 0,5 de McFarland, resultando em aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL de micro-organismos. Nos testes foram utilizadas três densidades populacionais (DP) de confronto dos inóculos: 10^7 UFC/mL, 10^6 UFC/mL e 10^5 UFC/mL.

Método de Avaliação da Atividade Antimicrobiana

O método foi o de diluição, pelo Teste de Suspensão Quantitativa para Avaliar Atividade Bactericida de Desinfetantes e Antissépticos Químicos, conforme o protocolo do Comitê Europeu de Padronização (CEN) número EN 1040: 2005 (fase 1) (BS, 2006). Os tempos de contato foram de 8 h e 24 h.

Após cada tempo de contato de 1mL da suspensão de bactérias com 9 mL das soluções, 1mL foi retirado e acrescentado a 9 mL de solução neutralizadora (3% de polisorbato 80, 0,3% de lecitina e 0,1% de histidina) por um período de cinco minutos. Para cada tempo de contato foi retirada uma alíquota de 0,1 mL, em duplicata, e inoculada por espalhamento de superfície em placa de Petri com ágar TSA, incubando-se a 36 °C por 24 horas. Após o tempo de incubação procedeu-se a leitura das placas visando quantificar o crescimento de colônias.

Na contagem das colônias, para as placas que apresentaram crescimento maior que o intervalo de precisão do método (14 - 330 UFC/mL), o resultado foi expresso como sem atividade. As leituras das placas que não apresentaram colônias viáveis foram consideradas como inativação total do micro-organismo testado.

Screening fitoquímico

O *screening* fitoquímico foi realizado de acordo com adaptações a partir de Harborne (1998), Simões et al. (2002) e Farmacopeia Brasileira (1988). Para realização das técnicas de *screening*, foram utilizados diretamente os extratos vegetais no modo de uso dos utilizados no teste de suspensão quantitativa. A escolha dos grupos fitoquímicos fez-se a partir de registros bibliográficos da família Bignoniaceae, principalmente de espécies do gênero *Jacaranda*. Os principais grupos químicos foram selecionados para teste, sendo eles, os compostos fenólicos, taninos, flavonoides, cumarinas, quinonas, saponinas e alcaloides. O estudo foi realizado no Laboratório de Química do Centro Universitário UNIVATES.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados do teste da triagem inicial encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1. Redução logarítmica de cepas padrão *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, em diferentes densidades populacionais, tempos de contato e proporção planta : volume, quando confrontados com decocto e o extrato hidroalcoólico hidratado das folhas de *J. micrantha* Cham.

PROPORÇÃO	<i>Salmonella Choleraesuis</i> ATCC 10708				<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923				
	DP	TC (h)	D	EH	PROPORÇÃO	DP	TC (h)	D	EH
			RL	RL				RL	RL
5:100	10 ⁷	8	SR	1	5:100	10 ⁷	8	SR	2
		24	SR	3			24	SR	3
	10 ⁶	8	1	2		10 ⁶	8	SR	4
		24	SR	4			24	SR	5
	10 ⁵	8	1	2		10 ⁵	8	2	I
		24	SR	1			24	1	I
10:100	10 ⁷	8	SR	2	10:100	10 ⁷	8	SR	3
		24	SR	4			24	SR	I
	10 ⁶	8	SR	2		10 ⁶	8	SR	I
		24	SR	I			24	2	I
	10 ⁵	8	1	I		10 ⁵	8	2	I
		24	2	I			24	2	I
20:100	10 ⁷	8	SR	2	20:100	10 ⁷	8	SR	5
		24	SR	I			24	SR	I
	10 ⁶	8	SR	I		10 ⁶	8	SR	I
		24	2	I			24	SR	I
	10 ⁵	8	1	I		10 ⁵	8	2	I
		24	2	I			24	2	I

DP: densidade populacional (UFC/mL); TC: tempo de contato; RL: redução logarítmica; D: decocto; EH: extrato hidroalcoólico; SR: sem redução; I: inativação total.

Os resultados evidenciam que o decocto, em todas as proporções, praticamente não promoveu redução das densidades populacionais, agindo do mesmo modo frente às duas cepas padrão. Quanto ao extrato hidroalcoólico hidratado observou-se que em todas as proporções testadas, frente às duas cepas, quanto menor a densidade populacional (DP) e maior tempo de contato, maiores foram as reduções logarítmicas (RL) chegando mesmo a inativação (I), o que vai ao encontro do resultado obtido no estudo de Avancini & Wiest (2008).

Na confrontação do decocto com as cepas isoladas em alimentos observou-se que nas de salmonelas, na maior densidade populacional utilizada, não ocorreu RL em nenhum tempo de contato. Na DP de 10^6 UFC/mL, no tempo de contato de 8 h, observou-se que 45% das cepas não tiveram RL, 35% reduziram 1 log e 20% reduziram 2 log, e na menor DP testada, 10^5 UFC/mL, 90% das cepas reduziram 1 log e 10% 2 log. Já no tempo de 24h, na DP de 10^6 UFC/mL, observou-se que 85% das amostras não tiveram redução e as outras 15 % reduziram 2 log, e na densidade de 10^5 UFC/mL, 55% das amostras não tiveram redução, 40% reduziram 1 log e 5% reduziram 2 log.

Ainda o decocto, frente às cepas de estafilococos na DP de 10^7 UFC/mL, no tempo de contato de 8h, não apresentou RL das cepas testadas. Na DP de 10^6 UFC/mL, 80% das cepas não reduziram, 10% reduziram 1 log e 10% reduziram 2 log. Na menor DP, 75% das cepas reduziram 1 log e 25% 2 log. Nas 24 horas testadas, 95% das amostras não reduziram e 5% reduziram 3 log na maior DP. Na densidade de 10^6 , 85% não reduziram, 5% reduziram 1 log, 5% reduziram 2 log e 5% reduziram 4 log. Na menor DP, 20% não apresentaram redução, 55% reduziram 1 log, 15% reduziram 2 log e 10% reduziram 3 log.

Os resultados do confronto do extrato hidroalcoólico hidratado frente aos isolados de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva, encontram-se na Tabela 2.

TABELA 2. Frequências absoluta e relativa de isolados de *Salmonella* spp (N=20) e de *Staphylococcus* coagulase positiva (N=20) que sofreram redução logarítmica ou inativação total, em diferentes densidades populacionais e diferentes tempos de contato, quando confrontados com o extrato hidroalcoólico hidratado (EH) das folhas de *J. micrantha* Cham., na proporção de 10 g : 100 mL

Extrato hidroalcoólico hidratado (EH)										
<i>Salmonella</i> spp.						<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva				
DP	RL	8h		24h		RL	8h		24h	
		Fa	Fr	Fa	Fr		Fa	Fr	Fa	Fr
1,5 x 10⁷ UFC/mL	SR	20	100%	18	90 %	SR	13	65 %	6	30 %
	1	0	0 %	0	0 %	1	0	0 %	0	0 %
	2	0	0 %	0	0 %	2	0	0 %	0	0 %
	3	0	0 %	1	5 %	3	3	15 %	1	5 %
	4	0	0 %	1	5 %	4	3	15 %	10	50 %
	5	0	0 %	0	0 %	5	1	5 %	2	10 %
	6	0	0 %	0	0 %	6	0	0 %	0	0 %
	I	0	0 %	0	0 %	I	0	0 %	1	5 %
1,5 x 10⁶ UFC/mL	SR	16	80 %	0	0 %	SR	5	25 %	1	5 %
	1	2	10 %	1	5 %	1	0	0 %	0	0 %
	2	0	0 %	11	55 %	2	0	0 %	0	0 %
	3	2	10 %	6	30 %	3	4	20 %	2	10 %
	4	0	0 %	1	5 %	4	7	35 %	7	35 %
	5	0	0 %	0	0 %	5	1	5 %	2	10 %
	I	0	0 %	1	5 %	I	3	15 %	8	40 %
1,5 x 10⁵ UFC/mL	SR	0	0 %	0	0 %	SR	0	0 %	0	0 %
	1	18	90 %	3	15 %	1	0	0 %	0	0 %
	2	1	5 %	8	40 %	2	3	15 %	0	0 %
	3	1	5 %	8	40 %	3	4	20 %	4	20 %
	4	0	0 %	0	0 %	4	5	25 %	2	10 %
	I	0	0 %	1	5 %	I	8	40 %	15	75 %

DP= densidade populacional (UFC/mL); RL= redução logarítmica; SR= sem redução logarítmica; I= inativação; Fa= Frequência absoluta; Fr= Frequência relativa (% de N).

A atividade do extrato hidroetanólico frente às isoladas foi semelhante ao confronto com as cepas padrões: quanto menor a densidade da população e quanto maior o tempo de contato, maior foi a redução da DP, ou inativação. O maior percentual de redução e inativação foi observado frente à *Staphylococcus* coagulase positiva.

Comparando a atividade do EH sobre as cepas isoladas, com a exercida sobre a padrão, pode-se verificar que frente a *Salmonella* spp. em 10⁷ UFC/mL, nas 8 h de contato, enquanto que a padrão apresentou RL de 2 log, 100 % das isoladas sofreu nenhuma ação; nas 24 h, enquanto a padrão sofreu RL de 4 log, sobre 18 (90%) isoladas não promoveu ação e apenas sobre duas promoveu ação de RL semelhante. Em 10⁶ UFC/mL, nas 2 h de contato, a padrão apresentou RL de 2 log, o que ocorreu de modo semelhante em apenas 4 (20%) das isoladas; nas 24 h apenas uma (5%) sofreu I como a padrão, e 80% delas RL de 2-3 log. Em

10^5 UFC/mL, nas 8 h, nenhuma foi I como a padrão; nas 24 h apenas uma I como padrão e 80% delas apresentou RL de 2-3 log.

Na comparação da atividade do extrato frente padrão e isoladas de *Staphylococcus* coagulase positiva, em 10^7 UFC/mL, nas 8 h de contato, 35% das isoladas haviam sofrido a RL semelhante a padrão, ao passo que 65% sofreram nenhuma atividade; nas 24 h apenas uma sofreu I como a padrão, 65% apresentou RL entre 3-5 log e 30% nenhuma atividade. Em 10^6 UFC/mL, tanto nas 8 h quanto nas 24 h a padrão estava I. No entanto as isoladas, nas 8 h, 15% estavam nessa condição, 60% sofreram RL e 25% não sofreram atividade; nas 24 h, 40% estavam I, 55% apresentaram RL e apenas uma não sofreu atividade. Em 10^5 UFC/mL, nos dois tempos de contato, como na DP anterior, a padrão estava I; nas 8 h 40% I, e nas 24 h 75%. Nesta DP todas as cepas sofreram RL.

De modo descritivo, pode-se perceber que a maior parte das isoladas sofreu menor atividade do EH, comparado com a cepa padrão. E que houve diferenças entre as cepas com relação a atividade exercida pelo EH, exigindo esse fenômeno melhor estudo para tentar explicar que fatores relacionados às unidades experimentais podem ter determinado esse resultado.

A análise fitoquímica detectou a presença de compostos fenólicos, taninos condensados e flavonas tanto no decocto quanto maceração hidroalcoólica, e de saponinas apenas no decocto.

Pilatti (2012) realizou estudo fitoquímico utilizando o extrato bruto metanólico das folhas de *J. micrantha*. Foram identificadas substâncias do grupo dos terpenos (saponinas), alcaloides e compostos fenólicos (taninos condensados).

Estudos fitoquímicos de algumas espécies da família Bignoniaceae demonstraram a presença de diversas classes de substâncias químicas, entre elas, taninos, flavonoides e compostos fenólicos (MUNOZ-MINGARRO et al., 2003; GACHET; SCHÜHLY, 2009). Em relação ao gênero *Jacaranda*, estudos dos componentes químicos foram descritos para seis espécies: *Jacaranda acitufolia*, *Jacaranda caucana*, *Jacaranda copaia*, *Jacaranda decurrens*, *Jacaranda filicifolia* e *Jacaranda mimosifolia* (GACHET; SCHÜHLY, 2009). As principais substâncias isoladas entre estas espécies foram: triterpenos, quinonas, flavonóides, ácidos graxos, acetosídeos e feniletanóides (ARRUDA et al., 2012). A análise fitoquímica dos extratos vegetais de *Jacaranda cuspidifolia*, realizada por Arruda et al. (2012), detectou a presença de taninos, flavonóides, terpenos, cumarinas e esteroides.

Segundo SIMÕES et al., 2002, testes *in vitro* têm identificado diversas atividades biológicas para substâncias ricas em taninos, entre elas a atividade bactericida e fungicida.

Acredita-se que as atividades relacionadas a estes compostos devem-se a complexação com íons metálicos, atividade antioxidante e complexação com macromoléculas como, por exemplo, proteínas e polissacarídeos.

Flavonóides são compostos secundários amplamente encontrados nas espécies vegetais, e comumente associados à atividade antioxidante, porém em ensaios biológicos utilizando compostos isolados de flavonóides, revelou que o mesmo pode apresenta grandes efeitos sobre o sistema biológico, podendo-se citar a atividade antimicrobiana (PELZER et al., 1998).

CONCLUSÃO

As duas extrações apresentaram atividade antibacteriana tendo, no entanto, o decocto menor capacidade de redução logarítmica ou de inativação frente às cepas padrões e as isoladas se comparada como o extrato hidroalcoólico.

As evidências mostram que além da densidade populacional de confronto e tempo de contato, características intrínsecas das cepas isoladas dos gêneros *Salmonella* e *Staphylococcus* coagulase positiva também interferiram no tempo necessário para que a ação fosse promovida.

A análise fitoquímica identificou a presença de compostos fenólicos, taninos condensados e flavonas em ambos os extratos utilizados, e de saponinas apenas no decocto. A atividade antimicrobiana pode estar relacionada a presença dos compostos fenólicos, dentre eles os taninos e flavonóides.

REFERÊNCIAS

ACHA P.N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales. 2a. ed. Organizacion Mundial de la Salud/Organizacion Panamericana de la Salud. Publicación Científica No. 503, 1989.

ARRUDA, A. L. A. et al. Análise fitoquímica e atividade antimicobacteriana de extratos metanólicos de *Jacaranda cuspidifolia* Mart.(Bignoniaceae). **Revista brasileira de plantas medicinais**. v. 14, n. 2, p. 276-281, 2012.

AVANCINI, C.A.M. **Saneamento Aplicado em Saúde e Produção Animal: Etnografia, triagem da atividade antibacteriana de plantas nativas no sul do Brasil e testes de avaliação do decocto de *Hipericum caprifoliatum* Cham. e Schlecht- Hypericaceae (guttiferae) - (escadinha/ sinapismo) para uso como desinfetante e antisséptico.** Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

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**, Botucatu, v. 10, n. 1, p. 21-28, 2008.

BACKES, Paulo; IRGANG, Bruno. **Árvores do Sul. Guia de Identificação e Interesse Ecológico: As principais espécies nativas sul-brasileiras.** 1 ed. Instituto Souza Cruz, 2002.

BOROWSKY, L. M., BESSA, M. C., CARDOSO, M. I., AVANCINI, C. A. M. Sensibilidade e resistência de amostras de *Salmonella typhimurium* isoladas de suínos abatidos no Rio Grande do Sul/Brasil frente aos desinfetantes químicos quaternário de amônio e iodoform. **Ciência Rural**. v. 36, p. 1474-1479, 2006.

BRITISH STANDARD (BS). The European Standard EN 1040:2005. **Chemical disinfectants and antiseptics – quantitative - suspension test for the evaluation of basic bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics –Test method and requirements (phase 1)**, 2006.

CARVALHO, Camilo et al. Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers–Bignoniaceae): Estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 1, 2009.

Dados Epidemiológicos - DTA período de 2000 a 2011. Unidade Técnica de Doenças de Veiculação Hídrica e Alimentar – UHA, Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis – CGDT, Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS, 2011.

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

FARCACOPEIA BRASILEIRA. 4 ed. Atheneu Editora São Paulo Ltda. São Paulo, 1988.

GACHET, M.S.; SCHÜHLY, W. Jacaranda - An ethnopharmacological and phytochemical review. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 121, p. 14-27, 2009. Acesso em: 28 jul. 2012. doi: 10.1016/j.jep.2008.10.015.

HARBORNE, J. B. **Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis**. 3ed. Chapman and Hall Int. Ed., New York, 1998.

MUNOZ-MINGARRO, D. et al. Biological activity of extracts from *Catalpa bignonioides* Walt.(*Bignoniaceae*). **Journal of ethnopharmacology**, v. 87, n. 2, p. 163-167, 2003.

PELZER, E. L. et al. Acute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids. **II Farmaco**. v. 53, p. 421-424, 1998.

PILATTI, D. M. ECOFISIOLOGIA QUÍMICA DE ESPÉCIES NATIVAS DE DOIS BIOMAS DO ESTADO DO PARANÁ: Perfil químico de espécies nativas recomendadas para restauração vegetal, proveniente de duas formações florestais no Estado do Paraná. 2012. 112p. Dissertação (Mestrado – Conservação e Manejo de Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel.

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S.M.C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; FILHO, J. L. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência e saúde coletiva**. v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.

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**. 4. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. Da UFSC, 2002.

SOBRAL, M.; JARENKOW, J.A. **Flora arbórea e arborescente e do Rio Grande do Sul, Brasil**. Porto Alegre: Novo Horizonte; São Carlos, SP: Rima, 2006. 350 p.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRUDA, A. L. A. et al. Análise fitoquímica e atividade antimicobacteriana de extratos metanólicos de *Jacaranda cuspidifolia* Mart. (Bignoniaceae). **Revista brasileira de plantas medicinais**. v. 14, n. 2, p. 276-281, 2012.

AUDI, Elizabeth Aparecida et al. Biological activity and quality control of extract and stem bark from *Stryphnodendron adstringens*. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 23, p. 328-333, 2004.

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**. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v. 10, n. 1, p. 21-28, 2008.

ALMEIDA, Mara Zélia de. **Plantas medicinais**. 3. ed. - Salvador : EDUFBA, 2011. 221 p.

AMOROSO, M. C. M. Pluralistic medical settings and medicinal plant use in rural communities, Mato Grosso, Brazil. **Journal of Ethnobiology**, v. 24, n. 1, p. 139-61, 2004.

BACKES, Paulo; IRGANG, Bruno. **Árvores do Sul. Guia de Identificação e Interesse Ecológico: As principais espécies nativas sul-brasileiras**. 1 ed. Instituto Souza Cruz, 2002.

BALDAUF, C.; KUBO, R. R.; SILVA, F.; IRGANG, B. E. “Ferveu, queimou o ser da erva”: conhecimentos de especialistas locais sobre plantas medicinais na região Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Botucatu, v. 11, n. 3, p. 282-291, 2009.

BOROWSKY, L. M., BESSA, M. C., CARDOSO, M. I., AVANCINI, C. A. M. Sensibilidade e resistência de amostras de *Salmonella typhimurium* isoladas de suínos abatidos no Rio Grande do Sul/Brasil frente aos desinfetantes químicos quaternário de amônio e iodoform. **Ciência Rural**. v. 36, p. 1474-1479, 2006.

BOWERS, M. Deane; STAMP, Nancy E. Effects of plant age, genotype and herbivory on *Plantago* performance and chemistry. **Ecology**, p. 1778-1791, 1993.

BRAGA, F.C.; VALADARES, Y.M.; COSTA, M.A.; LOMBARDI, J.A.; OLIVEIRA, A.B. Estudo fitoquímico de *Erythraea centaurium*, *Jacaranda caroba*, *Remijia ferruginea* e *Solanum paniculatum* visando identificar marcadores químicos para o fitoterápico Ierobina®. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 13 supl. 2, p. 28-31, 2003. Acesso em: 26 set. 2012. doi: 10.1590/S0102-695X2003000400010.

BRASIL, Ministério da Saúde. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos/ Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologias e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60p. (Série B – Textos Básicos de Saúde).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007. **Aprovação dos Produtos Antimicrobianos**. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=25959&word=>>>. Acesso em: 29 dez. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Normativa nº 26 de 09 de jul. de 2009. **Regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário**. *Diário Oficial da União*, 10 out. 2009.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº 46**, de 6 de outubro de 2011 - Estabelecer o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal. DOU 7/10/2011, Seção 1.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde**. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2012. 156 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica ; n. 31).

BRUNETON, Jean. **Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales.** 2 ed. 1099 p. Editorial ACRIBIA, S. A. Zaragoza, Espanha, 2001.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos Fenólicos Simples e Heterosídicos. In: ____ **Farmacognosia da planta ao medicamento**/organizado por Cláudia Maria Oliveira Simões...[et al.]- 4 ed. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC. 2002. cap. 20, p. 443-459.

CARVALHO, Camilo et al. Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers–Bignoniaceae): Estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 1, 2009.

CASTRO, Myrella Lécio, et al. própolis do Sudeste e Nordeste do Brasil: Influência da Sazonalidade na Atividade Antibacteriana e Composição Fenólica. **Química Nova**. v. 30, n. 7, p. 1512-1516, 2007.

COLLA, F. L.; RODRIGUES, L. B.; DICKEL, E. L.; BORSOI, A.; NASCIMENTO, V. P. do; SANTOS, L. R. dos. Avaliação in vitro de clorexidina, amônia quaternária e ácido peracético frente a amostras de *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola em 2005 e 2009. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32, n. 4, p. 289-292, 2012.

D'AMELIO, F. S. **Botanicals. A Phytocosmetic Desk Reference.** CRC Press. 361 p., 1998.

DE ALMEIDA SOUSA, T. W.; SOUSA, I. G. A.; RAMOS, L. M.; COSTA, M. G. Análise fitoquímica e avaliação biológica de *Pithecoctenium crucigerum* (Bignoniaceae). In: IX Seminário de Iniciação Científica, VI Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação e Semana Nacional de Ciência e Tecnologia. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS. **Anais**. Goiás, 2011.

DOMINGO, D., LÓPEZ-BREA, M. Plantas com acción antimicrobiana. **Revista Española de Quimioterapia**. v. 16, n. 4, p. 385-393, 2003.

DUARTE, M.C.T.; FIGUEIRA, G.M.: Atividade antimicrobiana de extratos hidoalcólicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, supl. 01, p. 06-08, 2004.

FALCÃO, E. P. S.; SILVA, N. H.; GUSMÃO, N. B.; RIBEIRO, S. M.; HONDA, N. K.; PEREIRA, E. C. Atividade Antimicrobiana de Compostos Fenólicos do Líquen *Heterodermia leucomela* (L.) Poelt. **Acta Farmacéutica Bonaerense**. v. 21, n. 1, p. 43-9, 2002.

FALKENBERG, M. B., SANTOS, R. I. dos, SIMÕES, C.M.O. Introdução à Análise Fitoquímica. In:____ **Farmacognosia da planta ao medicamento**/organizado por Cláudia Maria Oliveira Simões...[et al.]- 4 ed. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 2002. cap. 10, p. 165-181.

FERRERES, F.; GROSSO, C.; GIL-IZQUIERDO, A.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B. Phenolic compounds from *Jacaranda caroba* (Vell.) A. DC.: Approaches to neurodegenerative disorders. **Food and Chemical Toxicology**. v.57, p. 91–98, 2013.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/ World Organization for Animal Health (OIE). **Guide to Good Farming Practices for Animal Production Food Safety**. Rome, 2009.

FORSYTHE, S. J., **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Arthmed, p. 13, p. 162-163, p. 171-173. 2002.

GACHET, M.S.; SCHÜHLY, W. Jacaranda - An ethnopharmacological and phytochemical review. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 121, p. 14-27, 2009. Acesso em: 28 jul. 2012. doi: 10.1016/j.jep.2008.10.015.

GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas; doenças transmitidas por alimentos; treinamento de recursos humanos**. 4. ed. Barueri, SP: Livraria Manole, 2011.

GOBBO-NETO, L. & LOPES, N. P. plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GUARDABASSI, L., JENSEN, L. R., KRUSE, H. **Antimicrobianos em Veterinária**. Ed. Artmed. 2010.

GURIB-FAKIM, Ameenah. Review Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Elsevier Ltd. **Molecular Aspects of Medicine**. n°. 27, 2006. p. 1–93.

HIGUCHI, C.T.; PAVAN, F.R.; LEITE, C.Q.F.; SANNOMIYA, M.; VILEGAS, W.; LEITE, S.R.A.; SACRAMENTO, L.V.S.; SATO, D. N. Triterpenes and antitubercular activity of *Byrsonima crassa*. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1719-21, 2008. Acesso em: 07 out. 2012. doi: 10.1590/S0100-40422008000700023.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-MAYA, D. B. FLAVONÓIS E FLAVONAS: Fontes Brasileiras e Fatores que influenciam a Composição em Alimentos. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara. v. 19, n. 1, p. 97-108, 2008.

JOLY, C. A.; HADDAD, C. F. B.; VERDADE, L. M.; OLIVEIRA, M. C. de; BOLSANI, V. S.; BERLINK, R. G. S. Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil. **Revista USP**, São Paulo, n.89, p. 114-133, março/maio 2011.

JULKOWSKI, E. In:_____ LOPES, G. L. Laboratório de Manejo Florestal. Herbário Online Gerson Luiz Lopes, 2012. Disponível em: <http://sites.unicentro.br/wp/manejoflorestal/8244-2/>. Acesso em: 09 ago. 2014.

KAMBAMI, C. **Planeta Vegetal**. On line. Publicado em 26 Abril de 2013. Disponível em: <http://planetavegetal.wordpress.com/2013/04/26/jacaranda-micrantha/>. Acesso em: 11 ago. 2014.

LAGHARI, A. Q.; MEMON, S.; NELOFAR, A.; LAGHARI, A. H. Structurally diverse alkaloids from *Tecomella undulate* G. Don flowers. **Journal of King Saud University – Science**. Article in press, 2014.

LEITE, L. L., CORADIN, L. In:_____ **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul** / Coradin, L.; Siminski, A.; Reis, A. – Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2011. 934p.

LOPES, G. L. Laboratório de Manejo Florestal. Herbário Online Gerson Luiz Lopes, 2012. Disponível em: <http://sites.unicentro.br/wp/manejoflorestal/8244-2/>. Acesso em: 09 ago. 2014.

LORENZI, H. & MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil, Nativas e Exóticas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA. São Paulo, 2002.

MACHADO, T. R. M.; MALHEIROS, P. S.; BRANDELLI, A.; TONDO, E. C. Avaliação da resistência de *Salmonella* à ação de desinfetantes ácido peracético, quaternário de amônio e hipoclorito de sódio. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. v. 69, n. 4, p. 475-81, 2010.

MACHADO, T. B.; PINTO, A.V.; PINTO, M. C. F. R.; LEAL, I. C. R.; SILVA, M. G.; AMARAL, A.C. F.; KUSTER, R. M.; NETTO-DOS SANTOS, K. R. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v. 21, p. 279-284, 2003.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D.P. **Microbiologia de Brock**. 12.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MAILLARD, J.Y. Bacterial target sites for biocide action. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, p. 16-27, 2002.

MARTINS, M.B.G.; CASTRO, A.A.; CAVALHEIRO, A.J. Caracterização anatômica e química de folhas de *Jacaranda puberula* (Bignoniaceae) presente na Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 18, n. 4, p. 600-607, 2008. Acesso em: 10 out. 2012. doi: 10.1590/S0102-695X2008000400018.

McDONNELL, G.; RUSSELL, A.D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 1, p. 147–179, 1999.

MELLO, J. C. P.; SANTOS, S. C. Taninos. In:____ **Farmacognosia da planta ao medicamento**/organizado por Cláudia Maria Oliveira Simões...[et al.].- 4 ed. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC. 2002. cap. 24, p. 527-554.

MUNOZ-MINGARRO, D. et al. Biological activity of extracts from *Catalpa bignonioides* Walt.(*Bignoniaceae*). **Journal of ethnopharmacology**, v. 87, n. 2, p. 163-167, 2003.

OLIVEIRA, C. A. F. de. In: **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas; doenças transmitidas por alimentos; treinamento de recursos humanos**. São Paulo: Livraria Varela, 2001.

PILLA, M. A. C.; AMOROZO, M. C. de Mello; FURLAN, A. Obtenção e uso das plantas medicinais no distrito de Martim Francisco, Município de Mogi-Mirim, SP, Brasil. **Acta Bot. Bras.** [online]. 2006, v. 20, n. 4, p. 789-802. ISSN 0102-3306.

PILATTI, D. M. ECOFISIOLOGIA QUÍMICA DE ESPÉCIES NATIVAS DE DOIS BIOMAS DO ESTADO DO PARANÁ: Perfil químico de espécies nativas recomendadas para restauração vegetal, proveniente de duas formações florestais no Estado do Paraná. 2012. 112p. **Dissertação (Mestrado – Conservação e Manejo de Recursos Naturais)** – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel.

REIS, M. S.; MARIOT, A. Diversidade Natural e Aspectos Agronômicos da Plantas Mediciniais. In:____ **Farmacognosia da planta ao medicamento**/organizado por Cláudia Maria Oliveira Simões...[et al.].- 4 ed. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC. 2002. cap. 3, p. 41-62.

RUSSELL, A. D. Bacterial resistance to disinfectants: present knowledge and future problems. **Journal of Hospital infection**. v.43 (Supplement): S57-S68, 1998.

SANTOS, Rosana I. Metabolismo Básico e Origem dos Metabólitos Secundários. In:____ **Farmacognosia da planta ao medicamento**/organizado por Cláudia Maria Oliveira Simões...[et al.].- 4 ed. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC. 2002. cap. 16, p. 333-364.

SASAKI, C. M. **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades alelopáticas e Antimicrobianas das partes aéreas de *Pterocaulon lorentzii* Malme (Asteraceae)**. 2008. 115 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

SCHENKEL,E.P.; GOSMANN,G.; ATHAYDE,M.L. Saponinas. In:_____ **Farmacognosia da planta ao medicamento**/organizado por Cláudia Maria Oliveira Simões...[et al.]- 4 ed. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC. 2002. cap. 27, p. 607-632.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON EMERGING AND NEWLY IDENTIFIED HEALTH RISKS (SCENIHR). 2009. **European Commission Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocides**. Disponível em: <http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihhr/docs/scenihhr_o_021.pdf>. Acesso em: 29 dez. 2013. a.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON EMERGING AND NEWLY IDENTIFIED HEALTH RISKS (SCENIHR). 2009. **Effects of Biocides on antibiotic resistance**. Disponível em: <<http://ec.europa.eu/health/opinions/en/biocides-antibiotic-resistance/biocides-antibiotic-resistance-greenfacts-level2.pdf>>. Acesso em: 29 dez. 2013 .b.

SILVA, P. B. et al. Avaliação do potencial alelopático, atividade antimicrobiana e antioxidante dos extratos orgânicos das folhas de *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais (Impresso)**, v. 13, p. 447-455, 2011.

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**. 4. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. Da UFSC, 2002.

STEFANELLO, Maria ÉA et al. Estudo Fitoquímico e Avaliação da Atividade Antimicrobiana de *Talauma ovata* (Magnoliaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 2, p. 270-4, 2009.

TORRES, E. C.; RIBEIRO, A.; SOARES, M. A. Abordagem Fitoquímica e prospecção do potencial antimicrobiano in vitro das partes aéreas de três espécies vegetais pertencentes à família Lamiaceae. **Curitiba: Dia-a-dia Educação, Portal Educacional do Estado do Paraná**, 2008.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2003.

VARANDA, E.M.; ZUNIGA, G.E.; SALATINO, A.; ROQUE, N.F.; CORCUERA, L.J. Effect of ursolic acid from epicular waxes of *Jacaranda decurrens* on *Schizaphis graminum*. **Journal of Natural Products** , v. 55. n. 6. p. 800-803, 1992. Acesso em: 29 out. 2012. doi: 10.1021/np50084a015.

VON POSER, G. L., MENTZ, L. A. Diversidade Biológica e Sistemas de Classificação. In: ____ **Farmacognosia da planta ao medicamento**/organizado por Cláudia Maria Oliveira Simões...[et al.]- 4 ed. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 2002.

WIEST, J. M., CARVALHO, H.H.C., AVANCINI, C. A. M., GOLÇALVES, A. R. Inibição e inativação *in vitro* de *Salmonella* spp. com extratos de plantas com indicativo etnográfico medicinal ou condimentar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.1, p.119-127, 2009 (a).

WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. **Plant Physiology**. v.126, p. 485-493, 2001.

WINNA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The Impact of Saponins or Saponin-Containing Plant Materials on Ruminant Productions-A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, p. 8093-8105, 2005.

APÊNDICE A – Amostras bacterianas de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase-positiva e suas respectivas matrizes de origem.

<i>Salmonella</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> coagulase-positivo
Matrizes	
Farinha de carne e ossos bovino	Corte de frango – filé
Ovos vermelhos	Corte de frango – coxa
Frango	Corte de frango – asa
Linguiça de carne suína defumada	Corte de frango – asa
Farinha de vísceras de frango	Corte de frango – filé
Carne mecanicamente separada congelada de suíno	Corte de frango – asa
Banha	Carne suína
Swab de superfície – indústria de farinha de origem animal	Queijo ralado
Frango resfriado sem miúdos	Queijo ralado
Linguiça suína defumada	Corte de frango – coxa
Linguiça de lombo resfriada	Resíduos da desossadora de coxa
Frango resfriado sem miúdos	Carne de frango moída, temperada, envolta em pele de frango
Coração de suíno quente	Linguiça tipo calabresa cozida
Frango resfriado sem miúdos	Linguiça tipo colonial
Pele resfriada de suíno	Carne mecanicamente separada de frango
Frango	Carne mecanicamente separada de frango
Linguiça churrasco	Carcaça de frango
Lombo temperado	Linguiça de carne suína
Linguiça churrasco	Linguiça mista – salsichão
Swab carcaça (bovino)	Linguiça toscana resfriada