

ESTABILIDADE DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO DE *Pluchea sagittalis* (LAM.) CABRERA FRENTE A MICRORGANISMOS CAUSADORES DA MASTITE BOVINA

Gabriela Berguenmaier de Olanda¹
 Gilberto Antônio Peripolli Bevilaqua²
 Luiz Filipi Damé Schuch³
 Luciana Souza Prestes⁴
 Ricardo Batista Job¹

OLANDA, G. B. de; BEVILAQUA, G. A.P.; SCHUCH, L. F.D.; PRESTES, L. S.; JOB, R. B. Estabilidade da atividade antibacteriana do extrato de *Pluchea sagittalis* (LAM.) Cabrera frente a microrganismos causadores da mastite bovina. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 22, n. 1, p. 21-25, jan./mar. 2019.

RESUMO: O uso das plantas medicinais na prevenção e tratamento da mastite bovina vem apresentando resultados promissores no que tange os sistemas de produção agroecológicos. Nesse contexto, a planta *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera evidencia-se como importante espécie devido aos seus efeitos antimicrobianos. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar extratos da espécie *P. sagittalis*, elaborados em diferentes anos, frente a 10 microrganismos causadores da mastite bovina. A avaliação antimicrobiana foi por meio da técnica da microdiluição em caldo, em microplacas de 96 orifícios em triplicata, para a determinação da Concentração Bactericida Mínima (%). Nas microplacas, foram colocados os extratos de *P. sagittalis* e os inóculos das bactérias, além do controle de crescimento das bactérias e dos extratos, que foram incubadas por 72 horas a 37°C em estufa. Após esse período, alíquotas de 5µL de cada orifício foram transferidas para placas contendo meio ágar sangue desfibrinado de equino à 5% e mantidos em incubação por 24 horas, na mesma temperatura anterior. Com isso, foram realizadas as leituras do crescimento para a determinação da CBM (%). Para análise dos dados, utilizou-se o Teste de *Kruskal-Wallis*, método de *Simes-Hochberg*, ao nível de 5% de significância. Como resultados, o extrato de *P. sagittalis* manteve a estabilidade de seus compostos por pelo menos um ano de armazenamento. Os extratos preparados em diferentes anos apresentaram a mesma ação farmacológica e ação bactericida sobre *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* e *S. agalactiae*, nas condições de teste deste trabalho.

PALAVRAS-CHAVE: Produção agroecológica. Quitoco. Tempo de armazenamento.

STABILITY OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Pluchea sagittalis* (LAM.) CABRERA EXTRACTS AGAINST BOVINE MASTITIS MICROORGANISMS

ABSTRACT: The use of herbs in the prevention and treatment of bovine mastitis has shown promising results regarding agroecological production systems. Within this context, the *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera plant is considered an important species due to its antimicrobial effects. Thus, the objective of this study was to assess extracts of the *P. sagittalis* species, developed in different years, against 10 microorganisms that promote bovine mastitis. The antimicrobial assessment was performed by means of the microdilution technique in syrup, using 96-well microplates in triplicate, for the determination of Minimal Bactericidal Concentration (%). In the microplates, extracts of *P. sagittalis* and the bacteria inoculum were placed, in addition to the growth control for both the bacteria and the extracts. They were then incubated for 72 hours at 37°C in a kiln. After this period, 5µL aliquots were collected from each well and were transferred to plates containing 5% equine defibrinated blood agar and maintained in incubation for 24 hours at the same previous temperature. Then, the growth readings for the determination of MBC (%) were performed. For data analysis, the *Kruskal-Wallis* test, *Simes-Hochberg* method was used at a 5% level of significance. As a result, *P. sagittalis* extract maintained the stability of its compounds for at least one year of storage. The extracts prepared in different years presented the same pharmacological and bactericidal action on *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* and *S. agalactiae*, under the test conditions of this work.

KEY WORDS: Agroecological production. Cabrera wingstem camphorweed. Storage time.

ESTABILIDAD DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE *Pluchea sagittalis* (LAM.) CABRERA FRENTE A MICRORGANISMOS CAUSADORES DE LA MASTITIS BOVINA

RESUMEN: El uso de las plantas medicinales en la prevención y tratamiento de la mastitis bovina viene presentando resultados prometedores en lo que se refiere a los sistemas de producción agroecológicos. En este contexto, la planta *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera se evidencia como una importante especie debido a sus efectos antimicrobianos. De esa forma, el objetivo

DOI: 10.25110/arqvet.v22i1.2019.6483

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar da Universidade Federal de Pelotas. Capão do Leão - RS. gabiolanda@hotmail.com

²Pesquisador da Embrapa clima Temperado. Capão do Leão - RS. gilberto.bevilaqua@cpact.embrapa.br

³Professor da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas. Capão do Leão - RS. lfdschuch@gmail.com

⁴Médica Veterinária. Prefeitura Municipal de Pelotas. Pelotas, RS. lprestes.mv@hotmail.com

del trabajo ha sido evaluar extractos de la especie *P. sagittalis*, elaborados en diferentes años, frente a 10 microorganismos causantes de la mastitis bovina. La evaluación antimicrobiana se dio por medio de la técnica de la microdilución en caldo, en microplacas de 96 orificios en triplicada, para la determinación de la Concentración Bactericida Mínima (%). En las microplacas, se han puesto los extractos de *P. sagittalis* y los inóculos de las bacterias, además del control de crecimiento de las bacterias y de los extractos, que fueron incubadas por 72 horas a 37°C en estufa. Después de ese período, alícuotas de 5µL de cada orificio se transfirieron a placas que contenían medio agar de sangre desfibrinado de equino al 5% y se mantuvieron en incubación durante 24 horas, en la misma temperatura anterior. Con ello, se realizaron las lecturas del crecimiento para la determinación de la CBM (%). Para el análisis de los datos, se utilizó el Test de *Kruskal-Wallis*, método de *Simes-Hochberg*, al nivel de 5% de significancia. Como resultados, el extracto de *P. sagittalis* mantuvo la estabilidad de sus compuestos por al menos un año de almacenamiento. Los extractos preparados en diferentes años presentaron la misma acción farmacológica y acción bactericida sobre *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* y *S. agalactiae*, en las condiciones de prueba de este trabajo.

PALABRAS CLAVE: Producción agroecológica. Quitoco. Tiempo de almacenamiento.

Introdução

O uso das plantas medicinais tem acompanhado o homem ao longo da história, com prioridade na alimentação e cura de males. No Brasil, a riqueza desse conhecimento está atrelada a sua diversidade étnica e cultural. Sendo que, o uso dessas plantas na produção animal tem se mostrado exitoso no tratamento de várias enfermidades, principalmente pelo resgate de saberes (SANTANA *et al.*, 2015).

Uma das principais doenças infecciosas da produção leiteira é a mastite bovina, ocasionada por agentes bacterianos e leveduras, os quais vêm tornando-se resistentes a inúmeros fármacos e desinfetantes convencionais (CAMPOS; VALENTE; AVANCINI, 2014). Dessa forma, no âmbito das questões sanitárias da produção leiteira agroecológica, o uso das plantas medicinais evidencia-se com potencial, em que o seu uso vem sendo realizado por agricultores e veterinários, por meio de soluções ou pomadas à base de ervas para uso tópico ou via oral com plantas verdes e secas (SCHUCH *et al.*, 2008).

Nesse contexto, a espécie *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera, conhecida como quitoco, madregravo, erva-lucera e tabacarana, pertencente à família das Asteraceae, com origem no Continente Americano, mostra-se frequente nas regiões sul e sudeste do Brasil. É um subarbusto anual ou perene, conforme as condições do ambiente, aromático, ereto, com caule herbáceo, flores liláceas em capítulos oblongos, reunidos em panículas corimbiformes terminais e frutos do tipo aquênio (LORENZI; MATOS, 2008). Apresenta ação antioxidante, antiviral, antibacteriana, antimicrobiana e a sua composição fitoquímica possui alcaloides, flavonoides e taninos (AHEMD; KAMEL, 2013).

Essa ação das plantas medicinais se dá pelos princípios ativos provenientes dos compostos secundários, que são produzidos por todas as plantas, mas variam em qualidade e quantidade dependendo da espécie, em quantidade dependendo do local de ocorrência ou de um ciclo de cultivo para outro, devido a fatores externos, aos quais as plantas estão expostas (FERREIRA; ÁQUILA, 2000). Entre esses fatores externos, são elencadas temperaturas, geada, salinidade, disponibilidade hídrica, radiação solar, fatores químicos e mecânicos (RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011).

No que tange à qualidade de armazenamento dos extratos vegetais, esses devem preservar seus compostos ativos, a fim de garantir a ação farmacológica específica de cada espécie de planta, sendo a temperatura um dos fatores relevantes para a preservação dos ingredientes ativos, uma

vez que o calor favorece a perda desses e consequentemente mudanças no extrato (MOTA, 2014). Ademais, segundo essa autora, poucos são os estudos que avaliam a estabilidade de tais produtos associados a atividade antibacteriana.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar extratos da espécie *P. sagittalis*, elaborados em diferentes anos, frente a 10 microorganismos causadores da mastite bovina.

Materiais e Métodos

Local de realização do experimento

O experimento foi realizado no mês de abril de 2009, nas dependências do Laboratório de Doenças Infecciosas da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão-RS/Brasil.

Material vegetal

As partes aéreas das plantas de *P. sagittalis* foram coletadas em pleno florescimento, pelo período da manhã, após dias sucessivos sem chuva. O local de coleta foi na área da Estação Experimental Terras Baixas, EMBRAPA Clima Temperado, em Capão do Leão-RS/Brasil, nas coordenadas 31°48'58"S e 52°28'1"O, nos meses de abril de 2008 e fevereiro de 2009.

Após a coleta, os materiais foram secos em temperatura ambiente, até que se mostraram quebradiços a pressão exercida pelos dedos e mantidos em local protegido até o momento da elaboração dos extratos.

Preparo dos extratos

O preparo do extrato proveniente das plantas coletadas no ano de 2008 foi no mês de abril de 2008 e o armazenamento ocorreu até abril de 2009. Já, o extrato das plantas coletadas em 2009 teve seu preparo realizado em abril de 2009. Os extratos hidroalcoólicos foram preparados na proporção 1:10, ou seja, 100 g de planta seca triturada para 1L de álcool de cereais 70° GL. O material permaneceu imerso no álcool por um período de 15 dias, em vidro âmbar, com duas agitações diárias. Após, procedeu-se a coagem e armazenamento no escuro, em temperatura ambiente, até o momento do uso no experimento. Neste momento, extraiu-se o solvente com auxílio de evaporador rotativo, com 30 RPM, 50°C e pressão negativa de 600 mm/Hg e por fim completou-se o volume inicial da solução com água destilada estéril. As diluições utilizadas no experimento foram de 50%, 25%, 12,5% e 6,25% (CLSI, 2018).

Microrganismos testados

Os microrganismos testados foram *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus intermedius* e *Streptococcus uberis*, provenientes de armazenamento do Laboratório de Doenças Infecciosas da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas.

Ensaio microbiológico

A técnica utilizada para a avaliação antimicrobiana foi a microdiluição em caldo, em microplacas de 96 orifícios em triplicata, a fim de ser determinada a concentração bactericida mínima (CBM). Os inóculos das bactérias, foram preparados na concentração 10^5 UFC.mL⁻¹ em meio contendo solução salina e caldo BHI 2x (Brain Heart Infusion). Nas microplacas, foram colocados os extratos de *P. sagittalis* 2008/2009 e os inóculos das bactérias, além do controle de crescimento das bactérias e o controle dos extratos, que foram incubadas por 72 horas a 37°C em estufa. Após esse período, alíquotas de 5µL de cada orifício foram transferidas

para placas contendo meio ágar sangue desfibrinado de equino à 5% e mantidos em incubação por 24 horas, na mesma temperatura anterior, para realizar-se as leituras dos crescimentos dos microrganismos, que se deu pela observação visual dos microrganismos sobre o meio de cultura.

Análise dos dados

A partir das leituras dos crescimentos obtiveram os resultados das Concentrações Bactericidas Mínimas (%), que se referem a menor concentração de extrato da planta capaz de inibir o crescimento bacteriano (MOTA *et al.*, 2013; OYARZABAL *et al.*, 2011; PRESTES *et al.*, 2008). Para análise dos dados, devido à sua anormalidade, utilizou-se o Teste de *Kruskal-Wallis*, método de *Simes-Hochberg*, ao nível de 5% de significância.

Resultados e Discussão

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) do extrato de *P. sagittalis* mostrou diferenças significativas quanto aos microrganismos, mas não para o ano de coleta e preparo dos extratos, conforme o teste de hipótese (X^2) apresentado na tabela 1.

Tabela 1: Teste de hipótese (X^2) para a Concentração Bactericida Mínima (%) dos extratos de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera, preparados nos anos de 2008 e 2009, para os microrganismos *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus intermedius* e *Streptococcus uberis*.

Microrganismos			Ano de coleta e preparo dos extratos		
X^2	GL	$p(<0,05)$	X^2	GL	$p(<0,05)$
45,9184	9	0,0000*	0,0048	1	0,9445 ^{ns}

*Diferenças significativas pelo teste de *Kruskal-Wallis*, método de *Simes-Hochberg* ($p<0,05$).

^{ns}Não significativo

O extrato de *P. sagittalis*, proveniente da coleta e preparo do ano de 2008, manteve a estabilidade de seus compostos durante o período de um ano de armazenamento, visto que sua ação frente aos microrganismos testados se mostrou igual à do extrato preparado pouco tempo antes dos testes, proveniente de coleta e elaboração no ano de 2009. Ao encontro desse resultado, Mota (2014) também não encontrou diferenças no resultado de diferentes formas de extratos de *Schinus terebinthifolius* Raddi, armazenados por um período

de seis meses, frente a *S. aureus* (ATCC 12600), *Staphylococcus coagulasa* positiva, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* e *S. uberis*.

O mesmo efeito farmacológico apresentado pelos extratos, também infere na estabilidade dos compostos quanto a sazonalidade que se realizou a coleta, evidenciada entre os meses de fevereiro e abril, muito embora em anos diferentes e com suas características abióticas específicas, conforme dados da Tabela 2.

Tabela 2: Dados climatológicos dos dois períodos de coleta de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera.

	Abril/2008	Fevereiro/2009
Temperatura média (°C)	18	23,3
Precipitação pluviométrica (mm)	31,2	238,0
Umidade relativa (%)	77,4	80
Radiação solar (cal.cm ⁻² .dia ⁻¹)	322,5	421,9

Fonte: Estação Agroclimatológica de Pelotas-RS/Brasil.

A variação química de compostos vegetais é influenciada por fatores climáticos, como fotoperíodo, temperatura, umidade, precipitação e intensidade de radiação solar, que podem determinar a melhor época de colheita, na qual pode-se obter maiores quantidades do princípio ativo de interesse (MACEDO *et al.*, 2013; PAULUS *et al.*, 2013; TAVEIRA *et al.*, 2003). Dessa forma, a estabilidade da ação farmacológica dos extratos sobre os microrganismos, encontrada neste trabalho, não necessariamente indica que os compostos presentes nos extratos estavam na mesma proporção ao longo do período, mas sim, que mesmo com tal variação,

a eficiência bactericida manteve-se, o que na prática, mostra-se de grande valia, no que tange o preparo e uso do extrato a nível de propriedade familiar agroecológica.

Os extratos de *P. sagittalis* apresentaram eficiência para 70% dos microrganismos relacionados com a mastite bovina testados no trabalho, sendo que para as cepas de *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* e *S. intermedius* foram necessárias as menores concentrações, seguido de *S. uberis*, com concentrações intermediárias e as duas cepas de *S. aureus* e *S. hyicus*, nas maiores (Tabela 3).

Tabela 3: Concentração Bactericida Mínima (%) para os microrganismos testados com extratos de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera formulados nos anos de 2008 e 2009.

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	50,00% B*
<i>Staphylococcus aureus</i>	50,00% B
<i>Streptococcus intermedius</i>	15,62% CD
<i>Staphylococcus hyicus</i>	50,00% B
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	100,00% A**
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	100,00% A**
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	100,00% A**
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	9,37% CD
<i>Streptococcus uberis</i>	28,12% C
<i>Streptococcus agalactiae</i>	6,25% D

*Letras maiúsculas diferem na coluna pelo Teste de *Kruskal-Wallis*, método de *Simes-Hochberg* ($p < 0,05$).

**100%: resistente.

Os microrganismos *E. coli* ATCC 8739, *S. typhimurium* ATCC 14028 e *P. aeruginosa* ATCC 10145, mostraram-se resistentes aos extratos de *P. sagittalis* em todas as concentrações utilizadas (Tabela 3). Souza *et al.* (2004) ao avaliarem o extrato metanólico de *P. sagittalis*, também obtiveram resistência frente a *E. coli*, além de outros microrganismos como *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* e *S. aureus*, mas pequena ação sobre *Micrococcus luteus*. De encontro a esses autores, o extrato de *P. sagittalis* na concentração de 50%, testada neste trabalho, promoveu inibição em ambas as cepas de *S. aureus* (Tabela 3). Nesse contexto, Grandini (2017) ao testar o óleo essencial de *P. sagittalis* frente a *S. aureus*, obteve ação pelo método qualitativo bioautografia, mas nenhum efeito inibitório sobre o crescimento ao avaliar a concentração inibitória mínima até a concentração de 450 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Ademais, corroborando com os resultados deste trabalho, o autor anteriormente citado, também obteve resistência de *E. coli* ao óleo essencial de *P. sagittalis*.

Por fim, o uso das plantas medicinais para o manejo na produção leiteira evidencia-se como uma possibilidade real e viável, que deve ser utilizada de forma complementar a outros elementos, os quais venham a auxiliar na saúde animal (OLANDA *et al.*, 2016).

Conclusão

O extrato de *P. sagittalis* manteve a estabilidade de seus compostos por pelo menos um ano de armazenamento. Os extratos preparados em diferentes anos apresentaram a mesma ação farmacológica e ação bactericida sobre *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* e *S.*

agalactiae, nas condições de teste deste trabalho.

Referências

AHEMD, S. A.; KAMEL, E. M. Phenolic constituents and biological activity of the genus *Pluchea*. **Der Pharma Chemica**, Coden, v. 5, n. 5, p.109-114, 2013.

CAMPOS, F. L.; VALENTE, P.; AVANCINI, C. A. M. Higiene em saúde e produção animal na agroecologia: avaliação da atividade de extrações de plantas consideradas medicinais no sul do Brasil para uso como desinfetante e antisséptico frente agentes causais transmissíveis em mastite micótica bovina. **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 2, p. 1-2, 2014.

CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. 11 ed. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018. 112p.

ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DE PELOTAS – EAPEL. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/agromet/estacao/index.html>. Acesso em: 06 de out. de 2017.

FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 12, n. especial, p. 175-204, 2000.

GRANDINI, C. P. **Obtenção de extratos voláteis e não voláteis de *Pluchea sagittalis* (Lam.) Cabrera (quitoco): processos e análises**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) - Pontificia

Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. 2 ed. Nova Odessa, SP. Instituto Plantarum, 2008. 544p.

MACEDO, J. M. *et al.* Variação sazonal nos teores de flavonoides, taninos e atividade antioxidante de *Davilla rugosa* Poir. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 34, n. 4, p. 585-590, 2013.

MOTA, F. V. *et al.* Actividad antibacteriana de los extractos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (jambolán) frente a los microorganismos asociados a la mastitis bovina. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, Habana, v. 18, p. 495-501, 2013.

MOTA, F. V. **Estabilidade da atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi sob diferentes condições de armazenamento**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

OLANDA, G. B. *et al.* Extrato hidroalcoólico de *Erythrina crista-galli* L. frente a microorganismos causadores da mastite bovina. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 13, n. 24, p. 538-544, 2016.

OYARZABAL, M. E. B. *et al.* Actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. ante bacterias aisladas en leche de bovino. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, Habana, v. 16, 2011.

PAULUS, D. *et al.* Teor e composição química do óleo essencial e crescimento vegetativo de *Aloysia triphylla* em diferentes espaçamentos e épocas de colheita. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 3, p. 372-379, 2013.

PRESTES, L. S. *et al.* Actividad de extractos de orégano y tomillo frente a microorganismos asociados con otitis externa. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, Habana, v. 13, n. 4, 2008.

SANTANA, D. C. *et al.* Uso de plantas medicinais na criação animal. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 22, p. 226-241, 2015.

SCHUCH, L. F. D. *et al.* Cinética da atividade antibacteriana *in vitro* de extratos naturais frente a microrganismos relacionados à mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 1, p.161-169, 2008.

SOUZA, G. C. *et al.* Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, Pretória, v. 90, n. 1, p. 135-143, 2004.

Recebido em: 29.11.2017

Aceito em: 24.03.2019