

UNILEÃO  
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ALINE LOBO SANTOS TAVEIRA

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DO DECOCTO DAS FLORES DE  
*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Macela) EM TESTES DE  
IMUNOAGLUTINAÇÃO**

Juazeiro do Norte – CE  
2018

ALINE LOBO SANTOS TAVEIRA

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DO DECOCTO DAS FLORES DE  
*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Macela) EM TESTES DE  
IMUNOAGLUTINAÇÃO**

Artigo científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

**Orientador:** Prof. Esp. Wenderson Pinheiro de Lima

ALINE LOBO SANTOS TAVEIRA

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DO DECOCTO DAS FLORES DE  
*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Macela) EM TESTES DE  
IMUNOAGLUTINAÇÃO**

Artigo científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

**Orientador:** Prof. Esp. Wenderson Pinheiro de Lima

**Data de aprovação:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Esp.: Wenderson Pinheiro de Lima**  
**Orientador**

---

**Prof. Dr.: Aracélio Viana Colares**  
**Examinador 1**

---

**Prof. Esp.: Cicero Roberto Nascimento Saraiva**  
**Examinador 2**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, primeiramente, pelo dom da vida. Agradeço a minha família por todo apoio e incentivo, ao meu orientador, que não mediu esforços para me ajudar, apoiar e incentivar. Agradeço, principalmente a minha mãe, mulher guerreira e forte, trabalhou a vida toda para me oferecer o melhor, me guiando e me levando sempre para o caminho do bem. Com um amor imensurável, lutou todos os dias para me fazer feliz. Hoje ela é uma estrela que me guia e me protege lá do céu.

Agradeço a todos os meus amigos que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação, em especial, a Andressa Bezerra da Silva, Vanessa Dantas Leite, Ana Leticia Vidal Madeiros de Lucema, Manoela de Sousa Pereira Medeiros, Amanda Gonçalves de Oliveira e Lívia Maria Batista de Lima, por toda ajuda e colaboração que fizeram pelo meu trabalho, além da força e da grande paciência que tiveram comigo.

## AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DO DECOCTO DAS FLORES DE *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Macela) EM TESTES DE IMUNOAGLUTINAÇÃO

Aline Lobo Santos Taveira<sup>11</sup>, Wenderson Pinheiro de Lima<sup>22</sup>

### RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a interferência *in vitro* do extrato aquoso das flores de *Achyrocline satureioides* em testes de imunoaglutinação, por meio da técnica de Proteína C reativa (PCR) em lâmina. A planta foi coletada abrangendo caule, folhas, flores e sementes, na cidade de Caririaçu-Ce. Foi preparado um chá das inflorescências da Marcela, posteriormente, o mesmo foi congelado e liofilizado para a obtenção do decocto. Foram adicionadas quantidades crescentes (5 mg/dL, 10mg/dL e 40 mg/dL) do material botânico nas amostras de soro, e as mesmas foram analisadas imediatamente após o contato com decocto, quatro e vinte e quatro horas após o contato com o material botânico seguindo as instruções da técnica de PCR em lâmina. Durante esse tempo as amostras foram armazenadas em temperatura ambiente e desprotegidas da luz. Os resultados ocorreram de forma positiva e negativa. As alterações positivas aconteceram pontualmente, ao passo que as negativas ocorreram em todos os tempos e em todas as concentrações do extrato. Essa interferência deve ter ocorrido devido à grande quantidade de flavonoides presente no material botânico, principal constituinte da marcela, e seus metabolitos secundários, quercetina e luteolina. Com isso pode-se concluir que o extrato aquoso das flores de *Achyrocline satureioides* interferiu negativamente no ensaio de PCR em lâmina, podendo assim, ter alterado a formação do imunocomplexo.

**Palavras-chave:** *Achyrocline satureioides*. Flavonoides. Proteína C reativa.

### ABSTRACT

The objective this work was to evaluate the interference *in vitro* of the aqueous extract of flowers of *Achyrocline satureioides* in tests of immuno agglutination, by means of C-reactive protein (PCR) technique in glass slide. The tree was collected including the stalk, leaves, flowers and seeds, in the Caririaçu-Ce city, it was prepared a exsicates and deposited in herbarium. Was prepared a macela inflorescences tea, posteriorly, it was frozen and freeze-dried for the getting decoction. Were addicted increasing amounts (5 mg/dL, 10mg/dL e 40 mg/dL) of the botanical material in the serum samples, it were analyzed immediately after contact with the decoction. Four and twenty four hours after the contact with botanical material following the instructions of the C-reactive protein technique in glass slide. During this time the samples were stored in climate temperature and unprotected of the light. The results happen in a negative and positive way. The positives changes happen punctually, while the negatives happen in the all the time and all the extract concentrations. This interference may happened because of big amount of flavonoids present in the botanical material, principal formative of Macela and yours secondary metabolites, Quercetin e Luteolin. Can conclude that the aqueous extract of the flowers *Achyrocline satureioides* interferd negatively in the test PCR in glass slide, can have change the formation of the immunocomplex.

**Key words:** *Achyrocline satureioides*. Flavonoids. C-reactive protein.

<sup>11</sup> Discente em Biomedicina, [aline.lst@hotmail.com](mailto:aline.lst@hotmail.com), Centro Universitário Leão Sampaio-UNILEÃO

<sup>22</sup> Docente especialista, [wenderson@leaosampaio.edu.br](mailto:wenderson@leaosampaio.edu.br), Centro Universitário Leão Sampaio-UNILEÃO

## 1 INTRODUÇÃO

As reações de aglutinação tem como princípio a formação de imunocomplexos através da ligação de anticorpos e antígenos sensibilizados com partículas de látex. As reações podem ser vistas a olho nu e semi-quantificadas. A aglutinação pelo látex pode ser usada para a identificação de vários analitos, tais como algumas proteínas plasmáticas: Proteína C Reativa (PCR); e anticorpos como Antiestreptolisina-O e Fator Reumatoide (VAZ; TAKEI; BUENO, 2007).

A PCR é uma proteína sintetizada pelo fígado sendo característica de fase aguda. A sua detecção é empregada como marcador de processos inflamatórios e infecciosos, podendo ser avaliada e semi-quantificada através de ensaios de imunoaglutinação em látex. Nesse caso, o teste reagente é indicado pela evidente aglutinação das partículas de látex quando em contato com a proteína presente no soro do paciente (VEIGA et al., 2009).

O processo inflamatório envolve diversos mecanismos que possuem como objetivo eliminar o patógeno causador da agressão, sendo esses, a resposta inata e a resposta específica (anticorpos). É relatada ainda a existência de substâncias naturais, de origem vegetal, que possuem grande atividade anti-inflamatória. Destacando-se entre elas os flavonoides, pela sua grande capacidade de atuar, também, em processos infecciosos (COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009).

*Achyrocline satureioides*, popularmente conhecida como “marcela”, é uma planta que possui, em seus constituintes, substâncias flavonoídicas (BIDONE et al., 2014) e por isso é usada, na medicina popular brasileira, na forma de chás, para tratar doenças inflamatórias do Trato Gastro Intestinal (BOLSON et al., 2015).

Visto que o chá da espécie (*Achyrocline satureioides*) é bastante utilizado para fins medicinais e que produtos naturais podem interferir em exames laboratoriais, sendo os ensaios de imunoaglutinação uma possibilidade para tal interferência, é razoável supor que o extrato aquoso de *Achyrocline satureioides* pode interferir nos ensaios de imunoaglutinação.

Com isso é de suma importância pesquisar e discutir se há ou não interação do chá da marcela com a formação de imunocomplexos e se este pode vir a interferir nos resultados dos testes de imunoaglutinação. Baseado nisso, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a interferência *in vitro* do extrato aquoso das flores de *Achyrocline satureioides* no teste de imunoaglutinação PCR.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo qualitativo, quantitativo e longitudinal (FONTELES et al., 2009).

### 2.2 OBTENÇÃO E PREPARO DO MATERIAL BOTÂNICO

A espécie (*Achyrocline satureioides*) foi coletada na cidade de Caririaçu-Ce.

As flores foram utilizadas para a preparação de um chá, posteriormente, o mesmo foi congelado em freezer, a uma temperatura que variou entre -14°C e -17°C. Após a sua refrigeração, ocorreu à liofilização do chá e obteve-se o produto final, o Decocto.

### 2.3 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

As amostras biológicas foram fornecidas pelo Laboratório Escola do Centro Universitário Leão Sampaio. Para a realização da pesquisa foram necessárias 30 amostras de soro, 15 reagentes e 15 não reagentes.

### 2.4 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi submetido e aprovado à avaliação do Comitê de Ética em pesquisa de acordo com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde pela Plataforma Brasil. Número do parecer: 2.635.314. Os preceitos éticos foram respeitados no que se refere a zelar pela privacidade e sigilo das informações (BRASIL, 2012).

### 2.5 AVALIAÇÕES LABORATORIAIS

Para as avaliações laboratoriais foi empregado o método de Martinelo; Silva (2003) com pequenas modificações: as modificações foram nas horas de determinação do analito, onde foram realizadas em 0 hora (primeiro instante à adição do material botânico) e após 4 e 24 horas e nas diluições nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:4.

As amostras de soro foram analisadas antes da interferência botânica nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:4. Após essa análise foram adicionados nas amostras quantidades crescentes do material botânico, nas concentrações de 5, 10 e 40 mg/dL. As determinações do analito foram realizadas no primeiro instante à adição do material botânico na amostra de soro e após 4 e 24 horas e seguiram as instruções da técnica de imunoaglutinação, PCR. Durante esse período de tempo as amostras foram armazenadas em temperatura ambiente e desprotegidas da luz. Para as amostras não reagentes e reagentes foram realizadas três diluições nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:4. As análises laboratoriais foram feitas no laboratório de microscopia do Centro universitário Leão Sampaio.

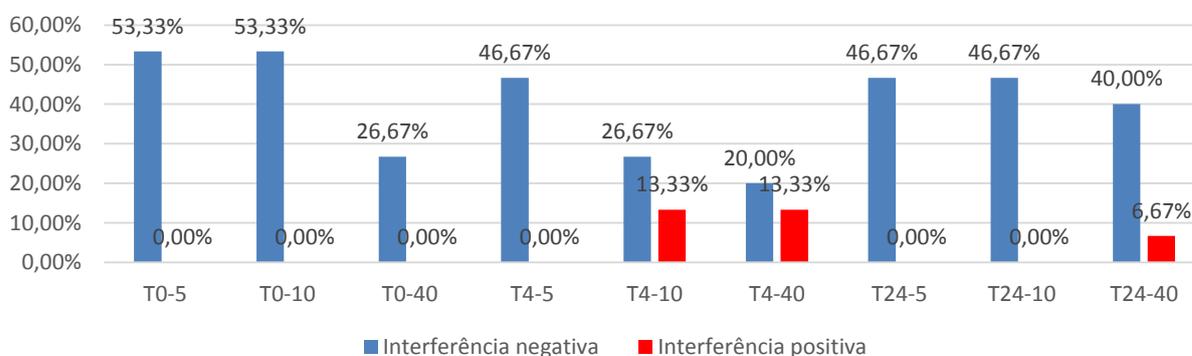
## 2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados das análises laboratoriais foram tabulados de forma numérica, utilizando o programa *Microsoft Excel*. Foram realizadas análises descritivas que estão expostas em gráficos e tabelas.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas amostras não reagentes avaliadas, não foi verificada nenhuma interferência positiva ou negativa, já nas amostras reagentes foram verificadas interferência positiva e negativa, que são mostradas no gráfico 1.

**Gráfico 1-** Interferência *in vitro* de *Achyrocline satureioides* em função do tempo e da concentração do extrato.



**Fonte:** autor próprio.

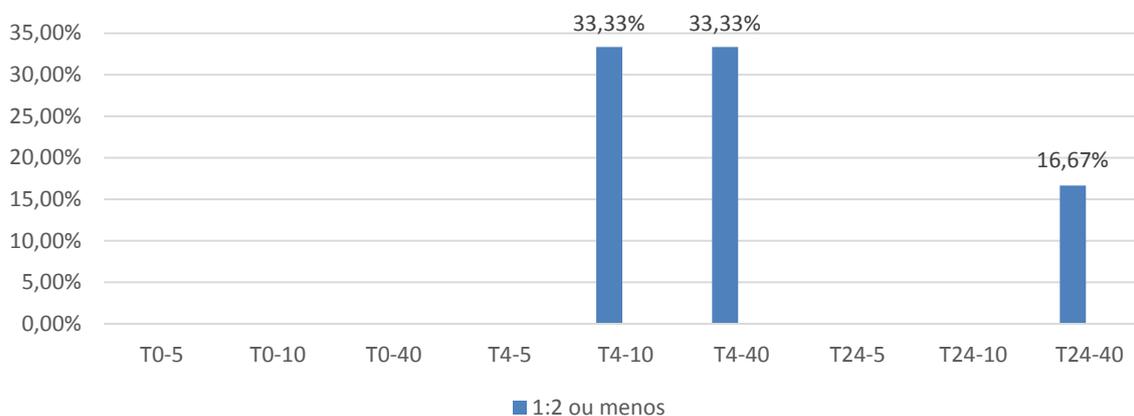
Os termos T0-5, T0-10 e T024 representam o tempo, zero hora, em que foi realizado a análise das amostras, nas diferentes concentrações do extrato, 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL. T4-5, T4-10 e T4-24 representam o tempo, quatro horas após a interferência botânica, em que foi realizado a análise das amostras, nas diferentes

concentrações do extrato, 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL. T24-5, T24-10 e T24-40 representam o tempo, vinte e quatro horas após a interferência botânica, em que foram analisado as amostras, nas diferentes concentrações do extrato, 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL.

Segundo Passos et al. (2009) e Ferreira et al. (2013) o uso excessivo de plantas medicinais podem interferir em teste laboratoriais, podendo ser de forma positiva ou negativa. As interferências ocorreram de maneira positiva e negativa, no entanto, as interferências positivas aconteceram de forma bem pontuais, já as interferências negativas ocorreram em todos os tempos e em todas as concentrações, o que nos leva a acreditar que de fato o extrato da planta interfere negativamente na formação do imunocomplexo. Por outro lado, as características pontuais, como: coleta mal executada, armazenamento e transporte da amostra, uso de medicamentos ou drogas, além das características biológicas do soro do paciente; que fizeram aumentar as concentrações podem ter sido em decorrência da amostra, ver apêndice A.

O gráfico 2 mostra a interferência positiva ocorrida em função dos títulos, do tempo e das concentrações do extrato.

**Gráfico 2-** Interferência positiva *in vitro* de *Achyrocline satureioides* em função do título, do tempo e das concentrações do extrato.

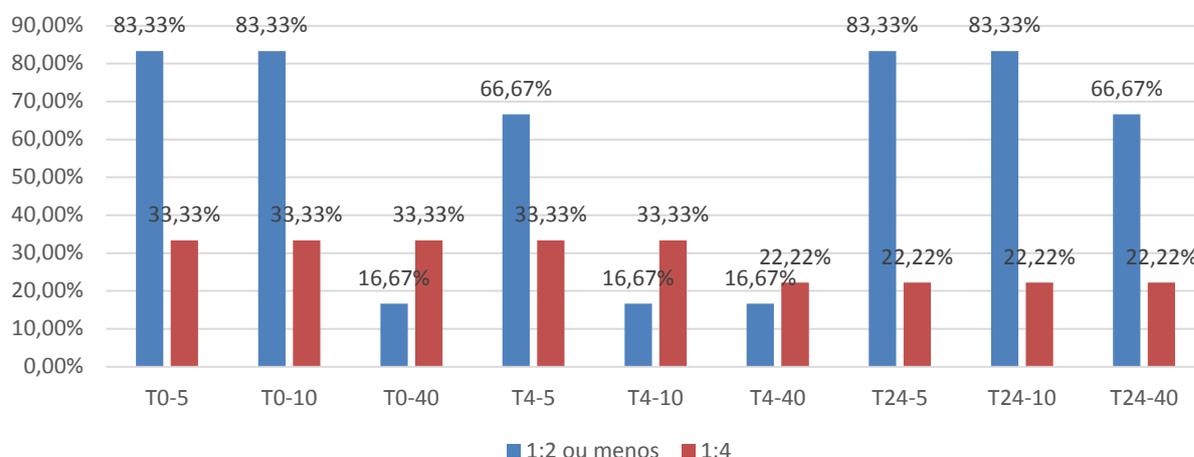


**Fonte:** autor próprio.

Os termos T0-5, T0-10 e T0-24 representam o tempo, zero hora, em que foi realizado a análise das amostras, nas diferentes concentrações do extrato, 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL. T4-5, T4-10 e T4-24 representam o tempo, quatro horas após a interferência botânica, em que foi realizado a análise das amostras, nas diferentes concentrações do extrato, 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL. T24-5, T24-10 e T24-40 representam o tempo, vinte e quatro horas após a interferência botânica, em que foram analisado as amostras, nas diferentes concentrações do extrato, 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL.

O gráfico 3 mostra as alterações negativas ocorridas em função dos títulos, do tempo, e das concentrações do extrato.

**Gráfico 3-** Interferência negativa *in vitro* de *Achyrocline satureioides* em função do tempo, dos títulos e da concentração do extrato.



**Fonte:** autor próprio.

Os termos T0-5, T0-10 e T024 representam o tempo, zero hora, em que foi realizado a análise das amostras, nas diferentes concentrações do extrato, 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL. T4-5, T4-10 e T4-24 representam o tempo, quatro horas após a interferência botânica, em que foi realizado a análise das amostras, nas diferentes concentrações do extrato, 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL. T24-5, T24-10 e T24-40 representam o tempo, vinte e quatro horas após a interferência botânica, em que foram analisado as amostras, nas diferentes concentrações do extrato, 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL.

O gráfico mostra que as alterações negativas foram significativas, interferindo assim na formação do imunocomplexo, essa interferência pode ter ocorrido devido aos Flavonóides (principal constituinte da macela) e seus metabolitos secundários. Segundo, Bidone et al. (2014) *Achyrocline satureioides* possui como principais compostos as substâncias flavonoidicas: quercetina, luteolina e 3-O-metil-quercetina. Tais substâncias podem interferir no teste de PCR, uma vez que o mesmo reage em pacientes que estejam passando por algum processo infeccioso ou inflamatório. Chen et al. (2007) e Lee et al. (2016) relatam em seus estudos a grande capacidade dessas substancias (luteolina e quercitina) atuarem em processos inflamatórios.

Além da atividade anti-inflamatória dos flavonoides, os mesmo ainda apresentam propriedades antioxidantes, que possuem grande relevância para a prevenção de doenças, como: doenças cardiovasculares, câncer e inflamações crônicas (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002).

A quercetina possui muitas propriedades terapêuticos, além de sua interação com o sistema imune, destacando-se pelo seu grande potencial Anticarcinogênico, antioxidante, anti-inflamatório, proteção do sistema renal, hepático e cardiovascular, a mesma ainda reforça o sistema imunológico contra diversas alergias (BEHLING, 2004).

Pesquisas sobre esses compostos mostram que os mesmos possuem propriedades nutracêuticas de grande valor clínico, que trazem benefícios para a saúde. Porém, ainda se faz necessário pesquisas sobre sua biodisponibilidade, mecanismo de ação, absorção e metabolismo em humanos, além de possíveis sinergismo com outros alimentos ou proteínas plasmáticas. Pois há uma grande carência nas informações e nos dados sobre tais substâncias (BEHLING, 2004).

## CONCLUSÃO

De acordo com os dados obtidos com a pesquisa, pôde-se observar que o extrato aquoso de *Achyrocline satureioides* apresentou uma considerável interferência negativa *in vitro*, no teste de PCR em lâmina, já a interferência positiva que ocorreu nos testes foram por características pontuais da amostra. Observou-se também que, a interferência negativa ocorreu em todos os tempos e em todas as concentrações do extrato, tal interferência pode ter ocorrido devido a grande quantidade de flavonoides existentes na planta e seus metabolitos secundários, quercetina e luteolina. No entanto, é necessário mais pesquisas sobre o tema e sobre as possíveis interferências que podem ocorrer nos testes de aglutinação.

## REFERÊNCIAS

- BARIONE, E. D. et al. *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Hydroalcoholic Extract Inhibits Neutrophil Functions Related to Innate Host Defense. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, n. 1, p. 1-12, 2013.
- BEHLING, E. S. et al. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e Ações biológicas. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.
- BIDONE, J. et al. Simultaneous quantification of flavonoids from *Achyrocline satureioides* by a polar-reversed phase LC method — application to skin permeation/retention studies. **International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 69, n. 1, p. 5-9, 2014.
- BOLSON, M. et al. Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.161, n. 1, p. 1-10, 2015.
- BRASIL. Resolução 466, de 12 de Dezembro de 2012. **Resolução que trata sobre pesquisa com seres humanos**. Brasília, 2012.

CHEN, C. Y. et al. Luteolin suppresses inflammation-associated gene expression by blocking NF- $\kappa$ B and AP-1 activation pathway in mouse alveolar macrophages. **Life Sciences**, v. 81, n. 1, p. 1602-1613, 2007.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

FERREIRA, A. L. et al. Alterações hematológicas induzidas por medicamentos convencionais e alternativos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.94, n.2, p.94-101, 2013.

FONTELES, M. J. et al. Metodologia da pesquisa científica: diretrizes para a elaboração de pesquisa. **Revista Paraense de medicina**, v. 23, n. 3, p. 1-8, 2009.

HEIM, K.E.; TAGLIAFERRO, A.R.; BOBILYA, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **J. Nutr. Biochem.**, v.13, p. 572-584, 2002.

LEE, S. G. et al. Quercetin 3,7-O-dimethyl ether from *Siegesbeckia pubescens* suppress the production of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-induced macrophages and colon epithelial cells. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 80, n. 1, p. 1-7, 2016.

MARTINELLO, F.; SILVA, E. L. Interferência do ácido ascórbico nas determinações de parâmetros bioquímicos séricos: estudo *in vivo* e *in vitro*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 4, p. 323-334, 2003.

PASSOS, A. M. et al. Potenciais interferências nos resultados de exames laboratoriais causadas pelo uso de plantas medicinais por pacientes HIV+ e/ou com AIDS. **Latin American Journal of Pharmacy**. v.8, n.1, p.196-202, 2009.

SANTOS, A. G. et al. Immunomodulatory effect of *Achyrocline satureioides* LAM. D. C. aqueous extracts. **Phytotherapy Research**, v. 13, n. 1, p. 65-66, 1999.

VAZ, A. J.; TAKEI, K.; BUENO, E. C. **Imunoensaios: fundamentos e aplicações**, 1ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

VEIGA, A. P. M. et al. Utilização de técnica rápida de aglutinação em látex para determinação semiquantitativa dos níveis séricos de proteína C reativa em cães. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 37, n. 2, p. 151-155, 2009.

**APÊNDICE A**

## APÊNDICE A

**Tabela 1-** Resultados individuais de cada amostra, em cada tempo e em cada concentração.

Amostra	Resultado original	T0-5	T0-10	T0-40	T4-5	T4-10	T4-40	T24-5	T24-10	T24-40
10	1:1	Menos	Menos	Menos	Menos	Mais	Mais	Menos	Menos	Menos
12	1:1	Menos	Menos	Não	Menos	Mais	Mais	Menos	Menos	Menos
11	1:1	Menos	Menos	Não	Menos	Menos	Menos	Menos	Menos	Menos
9	1:1	Não	Não							
8	1:2	Menos	Menos	Não	Não	Não	Não	Menos	Menos	Mais
4	1:2	Menos	Menos	Não	Menos	Não	Não	Menos	Menos	Menos
13	1:4	Menos	Menos							
14	1:4	Menos	Menos							
1	1:4	Menos	Menos	Menos	Menos	Não	Não	Não	Não	Não
2	1:4	Não	Não							
3	1:4	Não	Não							
5	1:4	Não	Não							
6	1:4	Não	Não							
7	1:4	Não	Não							
15	1:4	Não	Não							

**Fonte:** autor próprio.

Os termos T0-5, T0-10 e T0-40 representam o tempo, zero hora, em que foi realizado a análise das amostras, nas diferentes concentrações do extrato, 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL. T4-5, T4-10 e T4-40 representam o tempo, quatro horas após a interferência botânica, em que foi realizado a análise das amostras, nas diferentes concentrações do extrato, 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL. T24-5, T24-10 e T24-40 representam o tempo, vinte e quatro horas após a interferência botânica, em que foram analisado as amostras, nas diferentes concentrações do extrato, 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL. O termo Menos representa as alterações negativas. O termo Mais representa as alterações positivas. O termo Não foi aquelas em que não houve alterações.

**ANEXO A**







**ANEXO B**





**ANEXO C**