



ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE ERVA-MATE (*ILEX PARAGUARIENSIS* ST. HIL.).

Roseli Aparecida de Mello¹; Ricarla Strychalski Câmara²; Guilherme Henrique Sakakibara³

RESUMO: O emprego de plantas medicinais como recursos naturais no tratamento de doenças vêm aumentando nos últimos anos no Brasil. Estudos indicam que a erva-mate tem diversos componentes químicos com propriedades terapêuticas e farmacológicas. Em vista disso, este estudo avaliou a existência da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) frente a microrganismos gram negativos e gram positivos, realizado através da concentração mínima inibitória (CMI) pelo método de (Kirby-Bauer) difusão em discos contendo diferentes concentrações do extrato. Os resultados encontrados neste estudo demonstraram que o extrato hidroalcoólico testado apresenta atividade antimicrobiana frente às bactérias gram positivas.

PALAVRAS-CHAVE: atividade antimicrobiana; erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.); extrato hidroalcoólico; plantas medicinais.

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 80% da população mundial utilizam plantas medicinais como principal recurso no atendimento básico de saúde. Incluem-se aí populações que as usam *in natura* (por opção ou por ser a única alternativa disponível) e os sistemas de medicina que empregam plantas processadas em formulações medicamentosas, como a medicina chinesa. A OMS tem incentivado o estudo de plantas conhecidas como medicinais, com o objetivo de avaliar cientificamente os benefícios da utilização de medicamentos fitoterápicos e de conhecer os riscos de seu uso indevido (LOGERCIO et al., 2005).

A erva mate (*Ilex paraguariensis* St Hill) tem sua origem na América do Sul e é no Brasil que ela se distribui por vários estados sendo a região sul a maior produtora (ESMELINDRO et al., 2000). Em inúmeras aplicações emprega-se a erva-mate, decorrente da composição química de suas folhas podendo ser consumida na forma de chimarrão e de chá (MAZUCHOWSHI et al., 2000). O mate é uma bebida estimulante, elimina a fadiga, estimula a atividade física e mental, atuando sobre os nervos e músculos. Atua também sobre o tubo digestivo ativando os movimentos peristálticos, facilitando na digestão. É externamente usada sob a forma de cataplasma, no tratamento caseiro de feridas e úlceras.

¹ Docente e Pesquisadora da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba – PR . roseli.mello@utp.br.

² Acadêmica do curso de Biologia –PUCPR.

³ Bolsista de Iniciação Científica UTP, 2006-2007.

Com as diversas aplicações de uso alternativo da erva mate, torna-se necessárias pesquisas para determinar princípios bioativos com aplicação comercial e terapêutica, pois o uso de plantas medicinais no Brasil contribui significativamente para os cuidados básicos com a saúde e para o tratamento de infecções comuns, onde muitas plantas são utilizadas sem nenhuma evidência científica de sua eficácia.

Com este intuito o presente trabalho visa determinar a ação antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de *Ilex paraguariensis* frente a cocos gram positivos, como M.R.S.A *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 e *Streptococcus pyogenes* e contra bacilos gram negativos, como *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos relatados neste trabalho foram desenvolvidos no Laboratório de Microbiologia na FACBS da Universidade Tuiuti do Paraná.

Para o preparo dos extratos hidroalcoólicos seguiu-se à orientação do processo A da Farmacopéia Brasileira (DIAS DA SILVA, 1929), adaptado por YOUNES et al. (2000), onde a secagem do material vegetal foi inicialmente realizada à temperatura ambiente e completada em estufa a 50°C até obter-se um teor-padrão de umidade de 20%. O material resultante foi misturado com solução hidroalcoólica (álcool etílico 70%), na proporção de 10%. Estocou-se essa solução à temperatura ambiente, protegida da luz, por um período de 25 dias, procedendo-se em seguida a filtragem do material. A partir da solução filtrada, produziu-se o extrato, com auxílio de rota-evaporador a 50°C retirando-se todo o solvente. O evaporado final recebeu o nome de "extrato hidroalcoólico de erva-mate" a 10% e foi testado.

As bactérias foram cultivadas em Ágar Muller Hinton, a 37°C, durante um período de 24 a 48 horas, dependendo do gênero bacteriano. Os cultivos foram suspensos em solução salina estéril até ajuste da turvação à escala 1 de McFarland ($3,0 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias/ mL). Para a avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico foi empregado o método da difusão em Ágar, baseado na técnica descrita por BAUER et al.(1966), utilizando discos de papel de filtro estéreis com 6 mm de diâmetro. Foram semeados 100µl de cada inóculo bacteriano em Ágar Mueller Hinton e colocados discos de papel estéril, com as respectivas concentrações de extrato diluído em água estéril: 1000 mg/ml a 100 mg/ml, onde 10µl de cada concentração foram dispensados em cada disco.

Os testes com o extrato hidroalcoólico de erva-mate foram realizados em duplicata e os resultados expressos em milímetro pela média do diâmetro dos halos de inibição formados ao redor dos discos nas duas repetições. O teste controle negativo foi realizado com disco embebido de álcool 70% e o teste controle positivo com o disco contendo 0,5µg do antibiótico ciprofloxacina. Após este procedimento, as placas foram incubadas a 35°C durante 24h. Depois com auxílio de um paquímetro, foi realizada a leitura dos halos de inibição do crescimento. A determinação da Concentração Mínima Inibitória (MIC) corresponde à menor concentração do extrato que inibiu os microrganismos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados expressos na tabela 1 indicam que o extrato hidroalcoólico de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), nas concentrações entre 300 a 1000mg/ml, apresentou efeito antimicrobiano em seis bactérias gram positivas.

Tabela 1. Média dos halos em mm do extrato de erva-mate em diferentes concentrações e dos testes de controle positivo e negativo.

Concentrações (mg/ml)	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	C	CIP
Microrganismo												
<i>E.coli</i> ATCC 25922	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	*31
<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M.R.S. A	0	0	*14	*19	*20,5	*24	*25,5	*25	*25	*26	0	*32
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	*25
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	0	0	*8	*13	*18	*18	*19	*19	*19	*19	0	*20
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	0	0	*14	*16	*19	*21	*23,5	*24	*25	*25	0	*32
<i>S.aureus</i> ATCC 29213	0	0	*14	*15	*15,5	*17,5	*17,5	*19,5	*19,5	*19,5	0	*21
<i>S.saprophyticus</i>	0	0	0	0	*5,5	*17,5	*18	*18,5	*19,5	*19,5	0	*25
<i>S.pyogenes</i>	0	0	0	*12	*22	*23	*23	*23	*24	*24	0	*31

C= disco controle (embebido com etanol 70%); CIP= ciprofloxacina (5µg); 0= não apresentou halo de inibição; * apresentou halo de inibição em mm.

O MIC, que corresponde a menor concentração do extrato na qual ocorreu crescimento bacteriano, foi observado que em M.R.S.A., *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 apresentaram a partir de 300mg/ml da concentração do extrato. No experimento com *Staphylococcus saprophyticus* foi observado inibição a partir 500mg/ml e em *Streptococcus pyogenes* o extrato inibiu sua atividade apresentando um MIC a partir de 400mg/ml.

Já nas avaliações feita com *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, o extrato hidroalcoólico de erva-mate não exerceu atividade inibidora sobre essas.

Todos os microrganismos testados não apresentaram halo de inibição no disco controle negativo embebido com álcool 70%(tabela1) e no teste controle positivo os microrganismos tanto gram positivos, apenas *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 foi resistente, como gram negativos apresentaram sensibilidade ao antibiótico ciprofloxacina (tabela1).

A atividade antimicrobiana demonstrada pelo extrato hidroalcoólico de erva-mate (*Ilex paraguariensis*), levando a uma inibição do crescimento de M.R.S.A., *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus saprophyticus* nas concentrações entre 300mg/ml a 1000mg/ml, pode ser atribuída à composição química da planta que é composta por alcalóides, como a cafeína, teobromina e teofilina, taninos, flavonóides e várias saponinas.

Um estudo realizado por Hongpattarakere; Jonhson (1999) indica que os metabólicos secundários da erva-mate, como cafeína, triterpenos, derivados do ácido clorogênico e entre outros, apresentaram atividade antimicrobiana tanto para bactérias gram positivas como gram negativas contrapondo-se aos resultados obtidos na tabela1 para os microrganismos gram negativos que não apresentaram nenhuma inibição neste estudo. Já Gottshall et al. (1949) realizou um experimento com extrato etanólico de erva-

mate (*Ilex paraguariensis*) e obteve uma evidente resistência da bactéria *Staphylococcus aureus* ao extrato e para Gonçalves et al. (2005) o microrganismo *Streptococcus pyogenes* mostrou-se resistente ao extrato hidroalcoólico de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) na concentração de 100ml, o que não foi observado no presente estudo.

Dentre os patógenos estudados *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 todos não apresentaram halo nas diferentes concentrações do extrato de erva-mate. Este mesmo efeito foi verificado para *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* por Gonçalves et al. (2005) na concentração de 100ml do extrato e por Gottshall et al. (1949) para *Escherichia coli*, concordando com os resultados nesse estudo. Já para Hongpattarakere (1998) que utilizou extrato hidro-metanólico da mesma planta, apresentou atividade contra *Escherichia coli*, sugere-se que este resultado foi obtido através da utilização do metanol no preparo do extrato.

Comparando os resultados de gram positivas e negativas, segundo Srinivasan et al. (2001) existe uma relação entre o teor de algumas substâncias ativas presentes na planta e a atividade contra bactérias gram positivas, que não apresentam uma membrana celular externa, parede celular quimicamente menos complexa e menor teor de lipídio do que as gram negativas. De acordo com os resultados do presente estudo os gêneros bacterianos gram positivos demonstraram um bom desempenho, pois entre os microrganismos testados apresentaram halo de inibição acima deste padrão segundo as Normas de Desempenho para testes de sensibilidade Antimicrobiana (NCCLS – the Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005).

4 CONCLUSÃO

Conforme os resultados obtidos neste estudo preliminar, permitem sugerir que o extrato hidroalcoólico de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) constitui uma perspectiva para a obtenção de antibiótico natural por apresentar uma evidente atividade antimicrobiana em diferentes concentrações contra microrganismo, como M.R.S., *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus saprophyticus*. Entretanto, são necessários estudos para melhor caracterização das substâncias ativas encontradas na planta, visando um uso racional não apenas como recurso terapêutico, mas também como fonte de recurso econômico.

REFERÊNCIAS

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-496, 1966.

Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement**. CLSI/NCCLS document M100-S15[ISBN 1-56238-556-9]. USA, 2005.

DIAS DA SILVA, R.A. **Pharmacopéia dos Estados Unidos do Brasil**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, p. 634, 1929.

ESMELINDRO, M.C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D.de. Caracterização físico-química da erva mate: Influência das etapas do processamento

industrial. **Ciência Tecnologia de Alimento**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 193-204, Maio/Agosto, 2002.

GONÇALVES, A.L.; FILHO, A.A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. *Arquivos do Instituto de Biologia*, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.

GOTTSHALL, R.Y., LUCAS, E.H.; LICKFELDT, A.; ROBERTS, J.M. **The occurrence of antibacterial substances active against mycobacterium tuberculosis in seed plants.** Second National Symposium on Recent Advances in Antibiotics Research, Washington, D.C., April 11-12, 1949.

HONGPATTARAKERE, T.; JOHNSON, E.A. Natural antimicrobial components isolated from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*). **Food Research Institute**, v. 11, n. 3, 1999.

LOGUERCIO, A.P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A.C.de; HENZEL, A.; WITT, N.M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcóolico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 371-376, Março/Abril, 2005.

MAZUCHOWSKI, J.Z.; JUNIOR, A.M.; BRACHT, M.J. **Normativos Legais e as propriedades para Pesquisa Tecnológicas na Cadeia Produtiva da Erva-Mate.** Curitiba, 2000.

SRINISAVASAN, D.; NATHAN, S.; SURESH, T.; PERUMALSAMY, P.L. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, n. 3, p. 217-220, 2001.

YOUNES, R.N.; VARELLA, A.D.; SUFFREDINI, I.B. Extração e rastreamento de novas drogas em plantas brasileiras. **Acta Oncológica Brasileira**, v.20, p. 15-19, 2000.