

## Atividade antibacteriana de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.)

GIROLOMETTO, G.<sup>1</sup>; AVANCINI, C.A.M.<sup>1</sup>; CARVALHO, H.H.C.<sup>2</sup>; WIEST, J.M.<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias;

<sup>2</sup>Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos ICTA/UFRGS. Correspondência: José M. Wiest - ICTA/UFRGS, Campus do Vale, Av. Bento Gonçalves 9500, Caixa Postal 15090, CEP 91505-970, Porto Alegre, RS / Brasil; \*jmwiest@ufrgs.br

**RESUMO:** Através de testes de diluição, em sistema de tubos múltiplos, determinou-se a intensidade de atividade de inibição bacteriana (IINIB) e intensidade de atividade de inativação bacteriana (IINAB) de extratos hídricos (decocto), etanólicos (alcooolatura e hidroalcooolatura) de cambitos e de folhas de *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.(Aquifoliaceae) sobre as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19.433), *Salmonella enteritidis* (ATCC 11.076) e *Escherichia coli* (ATCC 11.229). Todas as formas de extração apresentaram capacidade de inativação e/ou inibição seletivas sobre as bactérias avaliadas, porém os extratos originados por destilação etanólica apresentaram os melhores resultados. *Salmonella enteritidis* demonstrou maior sensibilidade, seguida por *Enterococcus faecalis*. Posteriormente, estes dois agentes foram submetidos a testes de suspensão, no mesmo sistema, na presença e ausência de matéria orgânica (soro bovino), sob controle do fator tempo. A presença de matéria orgânica diminuiu, enquanto o tempo de exposição aumentou a sensibilidade de *Salmonella enteritidis* e de *Enterococcus faecalis* aos diferentes extratos de *Ilex* testados.

**Palavras chave:** *Ilex paraguariensis*, atividade antibacteriana, plantas medicinais, erva mate

**ABSTRACT:** Antibacterial activity of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) extracts.

Dilution tests in multiple tube system were employed to evaluate the intensity of bacterial inhibition activity (IINIB) and bacterial inactivation activity (IINAB) of aqueous extracts (decoctions) and ethanolic extracts (alcoholic and hydroalcoholic extracts) from "cambitos" of *Ilex paraguariensis* St. Hil. (Aquifoliaceae) leaf on the bacteria *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19.433), *Salmonella enteritidis* (ATCC 11.076), and *Escherichia coli* (ATCC 11.229). All extraction procedures presented selective inactivation and/or inhibition capacity on the evaluated bacteria; however, extracts from ethanolic distillation yielded the best results. *Salmonella enteritidis* had the highest sensitivity, followed by *Enterococcus faecalis*. Later, such agents were subjected to suspension tests, in the same system, in absence or presence of organic matter (bovine serum), under controlled time. *Salmonella enteritidis* and *Enterococcus faecalis* sensitivity to the different tested *Ilex* extracts decreased in the presence of organic matter and increased with exposure time.

**Key words:** *Ilex paraguariensis*, antibacterial activity, medicinal plants, yerba mate

### INTRODUÇÃO

O gênero botânico *Ilex* pertence à família Aquifoliaceae, que é cosmopolita e compreende cerca de 500 espécies, sendo a maior parte de origem asiática (Alikaridis, 1987).

*Ilex paraguariensis* A.St.-Hill recebe popularmente vários nomes como mate, erva-mate, erveira, congonha e outros, sendo uma planta que

tem distribuição desde o estado de Mato Grosso do Sul, passando por São Paulo até Rio Grande do Sul, com mais freqüência na mata dos pinhais dos três estados sulinos do Brasil (Lorenzi, 2000).

A distribuição natural da erva mate no continente sul-americano abrange aproximadamente 540.000 Km<sup>2</sup>, compreendendo o território do Brasil,

Recebido para publicação em 06/12/2007

Aceito para publicação em 22/04/2008

Argentina e Paraguai, situados entre as latitudes de 21° e 30° S e longitudes de 48°30' W e 56°10' W, com altitudes variáveis entre 500 e 1000 metros (Pasinato, 2003).

O grande interesse comercial por *Ilex paraguariensis*, além de seus aspectos culturais e gastronômicos, se deve à presença de bases xânticas: cafeína e teobromina, princípios farmacológicos estimulantes cardio-circulatórios que também são encontrados em outras espécies vegetais como no café, no cacau e no guaraná, segundo Rico et al. (1995). A planta ainda apresenta em sua constituição química vitaminas, aminoácidos e saponinas triterpênicas, de interesse nutricional (Rates, 2004).

A pesquisa da atividade antimicrobiana em plantas com indicativo medicinal, condimentar ou alimentar, dentro do princípio da triagem com droga crua, vem merecendo ênfase, tais como os trabalhos desenvolvidos por: Lemos et al. (2000) pesquisando especificamente a atividade bactericida de macela (*Achyrocline satureoides*); Avancini (2002) avaliando 36 plantas com indicativo etnográfico medicinal da Mata Atlântica residual em Porto Alegre, com ênfase à escadinha ou sinapismo (*Hypericum caprifoliatum*); Carvalho et al. (2005) envolvendo bacteriostasia e bactericida de 32 plantas com indicativo condimentar; Sousa & Wiest (2007) pesquisando especificamente bacteriostasia e bactericida de garupá (*Aloysia gratissima*); Santos et al. (2007) investigando a atividade antimicrobiana do látex da mangabeira (*Hancornia speciosa*). Carvalho et al. (2006), além de avaliar a atividade antibacteriana do extrato aquoso de estragão (*Artemisia dracuncululus* var. *inodora*), demonstraram a influência da bacteriostasia / inibição bacteriana deste extrato, na preditividade diagnóstica dos resultados negativos de uma técnica oficial de isolamento de *Salmonella* sp.

Kubo et al. (1993) comprovaram a atividade antimicrobiana de *Ilex paraguariensis* frente a bactérias e fungos patogênicos. Dentre as bactérias que sofreram inibição total encontram-se *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium ammoniagenes*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*.

A poda da erva-mate gera uma quantidade de resíduos muito significativos, representada pelos galhos que não são aproveitados na indústria, os denominados cambitos, que permanecem abandonados na lavoura, oportunizando riscos ocupacionais por acidentes perfuro-cortantes durante as colheitas subseqüentes. O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* a atividade de inibição e de inativação bacterianas de diferentes extratos de *Ilex paraguariensis*, buscando fundamentar a agregação de valor e de renda a resíduos de sua cadeia produtiva como potenciais insumos anti-sépticos ou

desinfetantes aplicáveis em questões de saúde e produção em sistemas de agricultura familiar.

## MATERIAL E MÉTODO

A amostra de *Ilex paraguariensis* estudada, constituiu-se de uma mistura de folhas e de cambitos ou galhos de diferentes exemplares cultivados em propriedade ervateira familiar convencional no Município de Ilópolis / RS (28° 55' 28.24" S - 52° 07' 56.20" O), localizado a 195 Km de Porto Alegre, a 730m acima do nível do mar, no Vale do Taquari, região Central do Rio Grande do Sul. A coleta foi intermediada pela Entidade de Organização e Assistência Social São Brás (EMOBRAS), sediada no município e efetivou-se em novembro de 2004. A planta foi caracterizada e identificada botanicamente, a partir de exsiccatas, segundo Ming (1996), pelo Prof. Rinaldo Pires dos Santos, do Departamento de Botânica da UFRGS, sendo estas posteriormente encaminhadas para registro e depósito junto ao Herbário do Instituto de Biociências/Departamento de Botânica da UFRGS, Porto Alegre/RS, Brasil, recebendo o número de registro 142.448.

Os diferentes extratos da planta foram obtidos a partir de folhas e de cambitos segundo Farmacopéia (1959), constituindo-se de decoctos (cambitos secos e folhas secas na proporção de 100 g de planta para 1000 mL de água destilada estéril, em aquecedor de refluxo com reconstituição do volume evaporado), de hidroalcoólaturas (100 g de cambitos secos em 1000 mL de etanol à 70°GL) e de alcoólaturas (400 g de folhas verdes em 1000 mL de etanol à 96°GL). Estes extratos etanólicos foram submetidos à destilação à vácuo, por aparelho rota-vapor, sob pressão reduzida, para extração total da fase alcoólica, com posterior reconstituição com água destilada estéril. Fez-se controle de esterilidade de todos os extratos estudados, retirando-se alíquota de 5 mL, semeada em tubos de Caldo BHI (Brain Heart Infusion, OXOID), incubados à 37°C, por até 48 horas, confirmando-se os resultados por plaqueamento em Ágar-Nutriente (Nutrient Agar, OXOID).

Nas confrontações com os extratos vegetais, foram utilizados isolados bacterianos padrões de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25.923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19.433), *Salmonella enteritidis* (ATCC 11.076) e *Escherichia coli* (ATCC 11.299), mantidas em bacterioteca e reativadas em infusão de cérebro e coração (BHI, OXOID) à 37°C, por 18 a 24 horas de incubação aeróbia, atingindo no mínimo 1,0 x 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>, através de diluições seriais logarítmicas, constituindo concentrações bacterianas controladas.

A avaliação da atividade antibacteriana dos extratos vegetais, expressa em IINIB (intensidade de inativação bacteriana/bacteriostasia) e em IINAB

(intensidade de inativação bacteriana/bactericida) realizou-se pelo teste de diluição (DVG, 1981) modificado por Avancini (1995; 2002), através da técnica de tubos múltiplos, acrescidos ou não dos desinibidores bacterianos, quais sejam, Tween 80 à 2% e por lecitina à 1%, segundo Andrade & Macedo (1996). Estes desinibidores foram complementados por histidina à 0,1%, segundo Reybrouck (1979, 1998), sendo acrescidos ao BHI antes do extrato vegetal e do inóculo bacteriano. Após 72 horas de confrontação aeróbia, à 37°C no sistema, verificou-se a presença ou ausência de bactérias viáveis nestes diferentes substratos, pela transferência de alíquotas, através de alça bacteriológica calibrada (0,05 mL), de todos os tubos múltiplos como sem desinibidores, a placas de Petri com ágar nutriente (NA, ACUMEDIA) avaliando-se este crescimento 24 horas após nova incubação aeróbia, à 37°C.

Em um segundo momento, aplicou-se o teste de suspensão simples, bem como o teste de suspensão com matéria Orgânica, esta representada por soro sanguíneo bovino, inativado e esterilizado (DVG, 1981; Avancini, 1995; Avancini, 2002), confrontando *Salmonella enteritidis* (ATCC 11.076) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 19.433) com os extratos de origem etanólica de folhas verdes e de cambitos secos, quais sejam, os inóculos bacterianos e as categorias de extratos que se destacaram dentre os Testes de Diluição preliminares.

Os resultados foram representados por variáveis ordinais arbitrárias, que assumiram valores de oito (8) a zero (0), indicando as diferentes intensidades da atividade antibacteriana, tanto para IINIB (inibições) e IINAB (inativações), sendo o valor

8 indicativo de atividade antibacteriana máxima e o valor zero indicativo de ausência de atividade antibacteriana.

A avaliação dos resultados obtidos fez-se através de análise de variância (ANOVA) e comparação das médias pelo Teste de Tukey.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

A Tabela 1 evidencia os resultados do confronto das quatro bactérias com o extrato de cambitos secos, demonstra que *Salmonella enteritidis* foi o agente mais sensível à este extrato observando-se inibição (valor arbitrário máximo 8) e inativação (valor 6,67), seguido por *Enterococcus faecalis* (inibição 5,33 embora apresentando inativação valor zero). Estas duas bactérias apresentaram diferença significativa entre si, bem como em relação ao *Staphylococcus* e *Escherichia* ( $p < 0,05$ ). Estas duas últimas bactérias, por sua vez, apresentaram-se menos sensíveis ao extrato, não diferindo significativamente entre si ( $p > 0,05$ ). Especificamente às quatro bactérias testadas frente a este extrato, constataram-se diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) quanto à presença e ausência dos desinibidores bacterianos em todas elas.

A Tabela 2, relativa ao confronto das quatro bactérias com o extrato de folhas verdes de *Ilex*, demonstrou total sensibilidade de *Salmonella enteritidis* (valor arbitrário 8) ao extrato em estudo, tanto na presença como na ausência de desinibidores. Estes resultados apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao *Enterococcus faecalis*, enquanto *Staphylococcus*

**TABELA 1.** Intensidade da atividade de inibição bacteriana (IINIB) e intensidade da atividade de inativação bacteriana (IINAB), produzidas pelo extrato de cambitos secos (por hidroalcolatura\*) de *Ilex paraguariensis* na concentração de 50%, média de três repetições independentes, sobre diferentes inóculos bacterianos, em 72 horas de incubação aeróbia, a 37°C.

Extrato de cambitos secos	Microrganismos (inibição/inativação)							
	SE		EF		SA		EC	
	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB
Média três repetições independentes	8,0a	6,67b	5,33a	0,0b	2,33a	1,67b	1,0a	0,0b
Média por bactéria independente de IINIB/IINAB	4,08 A		2,88 B		1,25 C		1,21 C	

\* - etanol evaporado em rota vapor com reconstituição hídrica, sob assepsia.

SE = *Salmonella enteritidis*; SA = *Staphylococcus aureus*; EF = *Enterococcus faecalis*; EC = *Escherichia coli*; IINIB (sem desinibidor / bacteriostasia); IINAB (com desinibidor / bactericida). Letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) quanto a presença ou ausência de desinibidores, quando analisadas em relação à cada bactéria. Letras maiúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as bactérias, independente da presença ou da ausência de desinibidores

**TABELA 2.** Intensidade da atividade de inibição bacteriana (IINIB) e intensidade da atividade de inativação bacteriana (IINAB) produzidas pelo extrato de folhas verdes (por alcoolatura \*) de *Ilex paraguariensis* na concentração de 50%, média de três repetições independentes, sobre diferentes inóculos bacterianos, em 72 horas de incubação aeróbia, a 37°C.

Extrato de folhas verdes	Microrganismos (inibição/inativação)							
	SE		EF		SA		EC	
	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB
Média de três repetições independentes	8,0a	8,0a	8,0a	5,0b	3a	2a	3,33a	3a
Média por bactéria independente de IINIB/IINAB	8,0A		6,5B		2,5C		3,16C	

\* -etanol evaporado em rota-vapor, com reconstituição hídrica, sob assepsia.

SE = *Salmonella enteritidis*; SA = *Staphylococcus aureus*; EF = *Enterococcus faecalis*; EC = *Escherichia coli*;

IINIB (sem desinibidor / bacteriostasia); IINAB (com desinibidor / bactericidia). Letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) quanto a presença ou ausência de desinibidores, quando analisadas em relação à cada bactéria. Letras maiúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as bactérias, independente da presença ou da ausência de desinibidores.

*aureus* e *Escherichia coli* apresentaram-se menos sensíveis ao extrato, não diferindo significativamente entre si ( $r > 0,05$ ). *Enterococcus faecalis* apresentou diferença significativa ( $r < 0,05$ ) entre valores de inativação e de inibição, detectada pela presença dos desinibidores, caracterizando a relevância destes na preditividade da determinação de eficácia *in vitro* de antibacterianos. Valores coincidentes de inibição (IINIB) e inativação (IINAB) do extrato de folhas verdes de *Ilex* sobre *Salmonella enteritidis* (valor 8), indicando não só inibição máxima como inativação máxima, possuem preditividade assegurada pela presença/ausência dos desinibidores nos testes.

As Tabelas 3 e 4, apresentadas a seguir, demonstram a baixa sensibilidade das diferentes

bactérias testadas, confrontadas com os decoctos de cambitos secos, bem como de folhas secas de erva mate.

A análise da Tabela 5 demonstrou diferença significativa ( $p < 0,01$ ) entre os três métodos utilizados para a extração dos princípios ativos, quais sejam: por alcoolatura, por hidroalcoolatura e por decoctos. Independente da bactéria testada, a forma de extração que apresentou melhor ação antibacteriana foi a alcoolatura de folhas verdes, apresentando diferença significativa ( $p < 0,05$ ) quando comparada com hidroalcoolatura de cambitos secos, bem como com os decoctos de folhas verdes e de cambitos secos, estes últimos sem diferença significativa entre suas atuações.

**TABELA 3.** Intensidade da atividade de inibição bacteriana (IINIB) e intensidade da atividade de inativação bacteriana (IINAB) produzidas pelo extrato de decocto\* de cambitos secos de *Ilex paraguariensis* na concentração de 50%, média de três repetições independentes, sobre diferentes inóculos bacterianos, em 72 horas de incubação aeróbia, a 37°C.

Decocto de cambitos secos	Microrganismos (inibição/inativação)							
	SE		EF		SA		EC	
	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB
Média de três repetições independentes	1a	0a	1a	0a	0a	0a	1a	0a
Média por bactéria independente de IINIB/IINAB	0,5A		0,5A		0,0A		0,5A	

\* - com reconstituição hídrica, sob assepsia.

SE = *Salmonella enteritidis*; SA = *Staphylococcus aureus*; EF = *Enterococcus faecalis*; EC = *Escherichia coli*; IINIB (sem desinibidor / bacteriostasia); IINAB (com desinibidor / bactericidia). Letras minúsculas iguais, na mesma linha, indicam não haver diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quanto a presença ou ausência de desinibidores, quando analisadas em relação à cada bactéria. Letras maiúsculas iguais, na mesma linha, indicam não haver diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as bactérias, independente da presença ou da ausência de desinibidores.

**TABELA 4.** Intensidade da atividade de inibição bacteriana (IINIB) e intensidade da atividade de inativação bacteriana (IINAB) produzidas pelo decocto\* de folhas secas de *Ilex paraguariensis* na concentração de 50%, média de três repetições independentes, sobre diferentes inóculos bacterianos, em 72 horas de incubação aeróbia, a 37°C.

Decocto de folhas secas	Microrganismos (inibição/inativação)							
	SE		EF		SA		EC	
	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB
Média de três repetições independentes	1,0a	0,0a	2,33a	1,33a	1,0a	0,0a	1,0a	1,0a
Média por bactéria independente de IINIB/IINAB	0,5A		1,83A		0,5A		1,0A	

\* - com reconstituição hídrica, sob assepsia.

SE = *Salmonella enteritidis*; SA = *Staphylococcus aureus*; EF = *Enterococcus faecalis*; EC = *Escherichia coli*; IINIB (sem desinibidor / bacteriostasia); IINAB (com desinibidor / bactericidia). Letras minúsculas iguais, na mesma linha, indicam não haver diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quanto a presença ou ausência de desinibidores, quando analisadas em relação à cada bactéria; Letras maiúsculas iguais, na mesma linha, indicam não haver diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as bactérias, independente da presença ou da ausência de desinibidores.

**TABELA 5.** Avaliação da atividade antibacteriana de diferentes tipos de extração de *Ilex paraguariensis*, em concentração constante de 50%, independente da espécie bacteriana e da presença ou ausência de desinibidores.

Tipos de Extração	Atividade antibacteriana
Alcoolatura de folhas (verdes)	5,04 <b>A</b>
Hidroalcoolatura de cambitos (secos)	3,00 <b>B</b>
Decocto folhas (verdes)	0,96 <b>C</b>
Decocto de cambitos (secos)	0,36 <b>C</b>

Letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferença significativa ( $p < 0,01$ ) entre os tipos de extração, independente do tipo de bactéria confrontada e da presença ou da ausência de desinibidores.

Esta diferença quanto à atividade antibacteriana entre as diferentes formas de extração pode fundamentar-se na hipótese da presença de compostos fitoquímicos voláteis na erva-mate, perdidos durante a decoção, os quais, possivelmente, sejam responsáveis pela atividade antibacteriana demonstrada em relação aos extratos etanólicos, provavelmente mais estáveis.

Uma vez confirmado que os extratos alcoólicos de folhas verdes e hidroalcoólicos de cambitos secos apresentaram os melhores resultados frente à *Salmonella enteritidis* e *Enterococcus faecalis*, confrontaram-se, novamente, estas bactérias com estes extratos, através do teste de suspensão, em sistema de tubos múltiplos, com presença e ausência de 20% de matéria orgânica (soro bovino inativado, estéril), observando-se, todavia, diferentes tempos de confrontação no teste.

Na Tabela 6 pode-se avaliar que os diferentes tempos de exposição da bactéria *Enterococcus faecalis* frente aos extratos apresentaram diferença significativa ( $r < 0,01$ ), assinalando que o aumento do tempo de exposição deixa a bactéria mais sensível. Nota-se também a diferença significativa entre os tempos de exposição 5 e 15 minutos e os tempos 30 e 60 minutos ( $p < 0,05$ ). A análise de variância

confirmou também, a diferença significativa da diminuição da sensibilidade em relação a presença de matéria orgânica (soro bovino) nos extratos ( $r = 0,99$ ), sugerindo a diminuição da eficácia do extrato. Em relação a *Salmonella enteritidis*, quanto aos diferentes tempos de exposição, através da análise de variância, é possível demonstrar uma diferença significativa entre eles ( $r < 0,01$ ). O teste de Tukey subsequente demonstrou não haver diferença entre os tempos 30 e 60 minutos ( $p > 0,05$ ), mas que há diferença entre as atuações de 15 minutos e de 5 minutos ( $p < 0,05$ ).

Especificamente em relação à atividade antibacteriana de erva mate, os resultados aqui apresentados confirmam aqueles de Kubo et al. (1993) especificamente em relação ao *Staphylococcus aureus*. Quanto ao *Streptococcus mutans*, embora não testado neste trabalho, este possui características biológicas bastante semelhantes ao *Enterococcus faecalis*, ex- *Streptococcus faecalis*. Santos et al. (2007), embora valendo-se da técnica de difusão em discos para a triagem de atividade antibacteriana em extratos vegetais, utilizaram os mesmos padrões internacionais de *Streptococcus sp.*

A técnica de tubos múltiplos, pelos testes de diluição e de suspensão, conforme já assinalaram

**TABELA 6.** Bactericidia resultante da confrontação de *Enterococcus faecalis* e *Salmonella enteritidis* com dois diferentes extratos de *Ilex paraguariensis* na concentração de 50% (Alcoolatura de folhas verdes e hidroalcoolatura de cambitos secos), média de duas repetições independentes, segundo diferentes tempos de exposição, na presença e ausência de matéria orgânica.

Tempo / mat.org.	Inóculos/ Extratos	5 min.		15 min.		30 min.		60 min.	
		A	P	A	P	A	P	A	P
<i>Enterococcus faecalis</i>	AF	6a	2b	6a	2b	6a	4b	6a	4b
	*	4,0A		4,0A		4,0A		4,0A	
	HC	2a	2a	2a	2a	4a	4a	4a	4a
	*	2,0A		2,0A		2,0A		2,0A	
<i>Salmonella enteritidis</i>	AF	2a	2a	2a	4b	4a	6b	4a	6b
	*	2,0A		3,0B		5,0C		5,0C	
	HC	2a	2a	2a	4b	2a	6b	4a	6b
	*	2,0A		3,0B		4,0C		5,0D	

AF = Alcoolatura de folhas verdes; HC = Hidroalcoolatura de cambitos secos; A = ausência de matéria orgânica; P = Presença de matéria orgânica; \* Média de atividade bactericida, independente da presença ou ausência de matéria orgânica, segundo tempos específicos de atuação. Letras maiúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tempos de confrontação, independente da presença ou ausência de matéria orgânica, segundo a bactéria testada. Letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a presença ou a ausência de matéria orgânica, quando analisada em relação a cada tempo de atuação, segundo a bactéria testada.

Avancini (2002), Carvalho et al. (2005; 2006), bem como Souza & Wiest (2007), demonstraram ser satisfatória para a avaliação dos diferentes extratos, permitindo quantificar concentrações e tipos de ação (bacteriostasia/inibição e bactericidia/inativação) dos inóculos, fundamentando também a avaliação da preditividade dos resultados positivos e negativos observados. Atécnica permitiu, outrossim, à nível de triagem *in vitro*, no princípio de estudo com droga crua de *Ilex paraguariensis*, indicar *Salmonella* Enteritidis como o agente bacteriano mais sensível dentre os testados, a alcoolatura (etanol absoluto sobre planta verde) como a forma de extração mais eficaz e as folhas como parte da planta que apresentou melhor controle *in vitro* sobre as bactérias confrontadas. Os resultados permitem concluir, outrossim, que os resíduos na cadeia produtiva da erva mate, representados por folhas e cambitos, apresentam potencial como insumos antissépticos ou desinfetantes, aplicáveis na atenção básica à saúde e à produção em sistemas de agricultura familiar ou de pequeno porte, com ênfase à prevenção e ao controle específico de salmonelose, uma vez atendidos os aspectos de demanda tecnológica mínima e da sustentabilidade destas ações e cuidados básicos em saúde.

#### AGRADECIMENTO

A Eleutério Orsolin, Virginio Chiesa e Maria Baldissera, pelo acesso e fornecimento do material de pesquisa. Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

#### REFERÊNCIA

- ANDRADE, N.J.; MACÊDO, J.A.B. **Higienização na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela, 1996.182p.
- ALIKARIDIS, F. Natural constituents of *Ilex* species. **Journal of Ethnopharmacology**, v.20, n. 2, p.121-41, 1987.
- AVANCINI, C.A.M. **Desinfecção em saúde e produção animal: bacteriostasia e bactericidia de *Bacharis trimera* (Less) DC. - Compositae - (carqueja) frente a microrganismos entéricos e cutâneos**. 1995. 102p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.
- AVANCINI, C.A.M. **Saneamento aplicado em saúde e produção animal: etnografia, triagem da atividade antibacteriana de plantas nativas do Sul do Brasil e teses de avaliação do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham e Schlecht - Hipericaceae (Guttiferae) - ("escadinha"/"sinapismo") para uso como desinfetante e antisséptico**. 2002. 309p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.
- CARVALHO, H.H.C.; CRUZ, F.T.; WIEST, J.M. Atividade antibacteriana de plantas com indicativo etnográfico condimentar em Porto Alegre, RS/Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.7, n.3, p.25-32, 2005.
- CARVALHO, H.H.C.; WIEST, J.M.; GRECO, D.P. Atividade antibacteriana e a preditividade do condimento *Artemisia dracuncululus* Linn. (Asteraceae), variedade *inodora* - estragão - frente a *Salmonella* sp. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.1, p.75-79, 2006.
- DVG-Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Sociedade Alemã de Medicina Veterinária. Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die

- Veterinärmedizin. Normas para a testagem de desinfetantes químicos para a medicina veterinária. In: SCHLISSER, T.; STAUCH, D. **Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft**. Stuttgart: Enke Verlag, 1981. p.47-55.
- FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 2.ed. São Paulo: Siqueira, 1959.
- KUBO, I. et al. Antibacterial activity against *Streptococcus mutans* of mate tea flavor components. **Journal Agricultural Food Chemicals**, v.41, n.1, p.107-11, 1993.
- LEMOS, G.C.S. et al. Bacterial activity of macela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.) against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.3, n.1, p.67-72, 2000.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 352p.
- MING, L.C. Coleta de plantas medicinais. In: DI STASI, L.C. **Plantas medicinais arte e ciência: um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP, 1996. p.69-86.
- PASINATO, R. **Aspectos etnoentomológicos, socioeconômicos e ecológicos relacionados à cultura na erva mate (*Ilex paraguariensis*) no município de Salto do Lontra, Paraná, Brasil**. 2003. 125p. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agrossistemas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, São Paulo.
- RATES, S.M.K. Metilxantinas. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: Editora Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004. cap.34, p.885-901.
- REYBROUCK, G. Efficacy of inactivators against 14 disinfectant substances. **Bakteriologie und Hygiene: Abteilung Originale Reihe B**, v.69, p.480-92, 1979.
- REYBROUCK, G. The testing of disinfectants. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.41, p.269-72, 1998.
- RICO, R.A. et al. Estudio comparativo de flavonoides en especies austrosudamericanas del genero *Ilex*. In Winge, H. et al. **Erva-mate: biologia e cultura no cone sul**. Porto Alegre: Editora Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. cap.22, p.243-9.
- SANTOS, P.O. et al. Investigação da atividade antimicrobiana do látex da mangabeira (*Harcomia speciosa* GOMES). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.2, p.108-11, 2007.
- SOUZA, A.A.; WIEST, J.M. Atividade antibacteriana de *Aloysia gratissima* (Gill et Hook) Tronc. (garupá, erva-santa) usada na medicina tradicional no Rio Grande do Sul – Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.3, p.23-9, 2007.