

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS DE *Ilex*
paraguariensis A. St. Hill. (“erva-mate”) FRENTE A BACTÉRIAS
ZONÓTICAS EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Giovani Girolometto

Porto Alegre

2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS DE *Ilex*
paraguariensis A. St. Hill. (“erva-mate”) FRENTE A BACTÉRIAS
ZONÓTICAS EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL**

Giovani Girolometto

Dissertação apresentada como requisito
parcial para obtenção de grau de Mestre
em Ciências Veterinárias na sub-área de
Medicina Veterinária preventiva

Orientador: Prof. **José Maria Wiest**

Porto Alegre

2005

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. César Augusto M. Avancini, pelos seus conselhos e sugestões.

Ao Médico Veterinário Ydérzio Vianna Filho, pelo empenho de contribuir com seu conhecimento na análise estatística do experimento.

À Professora Helga Winge pelo auxílio com os temas da erva-mate.

Ao Professor Rinaldo Pires do Santos pelo auxílio na identificação da erva-mate

Ao casal de Agricultores, Virginio Chiesa e Maria Baldisséra, que permitiram a realização de coleta do material de sua propriedade e nos acolheram com tanto carinho.

Ao Padre Eleotério Orsolin, que nos acolheu e fez a ponte entre nós e os agricultores

Aos colegas de Mestrado e Doutorado que contribuíram com suas experiências de vida, carinho e compreensão.

Aos bolsistas e amigos da equipe do Prof. Wiest, por todo apoio logístico, mas principalmente por terem deixado mais alegre e motivado o trabalho de laboratório.

A todos os meus amigos de longa data e os novos que fiz pelo apoio e estímulo nas horas de incerteza.

Ao Prof. Dr. José Maria Wiest, meu orientador, amigo e companheiro, que soube com seu carinho, atenção e serenidade compartilhar de seus conhecimentos.

Aos meus pais, Laura Girolometto e Severino Girolometto, meus irmãos Daniel e Ricardo e minhas irmãs Luciane e Anelise.

À minha Companheira, Naiani, que eu amo tanto e acompanhou os momentos melhores e piores da realização deste trabalho.

“... Alfabetizar-se ecologicamente é reconectar-se com a teia da vida e significa construir, nutrir e educar comunidades sustentáveis, nas quais podemos satisfazer nossas necessidades sem diminuir as chances das gerações futuras....

Uma comunidade humana sustentável está ciente das múltiplas relações entre seus membros. Nutrir a comunidade significa, essas relações...

A teia da Vida é uma rede flexível e sempre flutuante. Quanto mais variáveis forem mantidas flutuando, mais dinâmico será o sistema, maior será a flexibilidade e maior será sua capacidade para se adaptar a condições mutáveis...”

Fritjof Capra (A teia da vida).

RESUMO

Motivado pelo cultivo de erva mate no Rio Grande do Sul, basicamente dentro de unidades de produção familiar, bem como pelo considerável volume de biomassa descartada, resultante do corte dos ervais, procurou-se identificar possível atividade antibacteriana em cambitos e folhas de *Ilex paraguariensis* St. Hill, com ênfase a zoonoses de interesse em saúde e produção animal, bem como em saúde coletiva. Definiu-se a verificação da Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) de extratos hídricos (decocto), alcoólicos (alcoholatura) e hidroalcoólicos (tintura) sobre inóculos padronizados de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076) e *Escherichia coli* (ATCC 11229). Os extratos vegetais alcoólicos foram preparados com folhas frescas, os hidroalcoólicos com os talos desidratados (cambitos) e os decoctos, tanto de folhas como de talos, com material desidratado. Todas as quatro formas de extração apresentaram capacidade de inativação e/ou inibição seletivas sobre os inóculos bacterianos, porém os extratos à base de álcool de cereais foram os que apresentaram os melhores resultados. Dentre as bactérias, a *Salmonella* Enteritidis demonstrou maior sensibilidade, seguida por *Enterococcus faecalis*. Posteriormente, estas duas amostras foram submetidas a testes sob tempo de exposição de 5, 15, 30 e 60 minutos, na ausência e na presença de matéria orgânica (soro bovino inativado), confrontando-as com alcoholatura de folhas e hidroalcoholatura de cambitos, por estes terem obtido maior ação antibacteriana sobre os agentes testados nos testes iniciais de IINIB e IINAB. Os decoctos de cambitos não corresponderam às expectativas iniciais, sendo que as alcoholaturas, tanto de folhas quanto de cambitos, apresentaram resultados eficazes. Tanto o tempo de exposição como a presença de matéria orgânica interferiram na sensibilidade apresentada por *Salmonella* Enteritidis e *Enterococcus faecalis*, positiva e negativamente, respectivamente.

Palavras-chave: *Ilex paraguariensis*, agricultura familiar, atividade antibacteriana, antibacterianos em zoonoses, plantas medicinais.

ABSTRACT

Motivated by the mate herb cultivation in Rio Grande do Sul, basically inside of units of family production, as well as for the considerable volume of discarded biomass resulting from the cut of the mate herb fields (*ervais*), was tried to identify possible antibacterial activity in stalks and leaves of *Ilex paraguariensis* St. Hill, with emphasis in the zoonoses, of interest in health and animal production as well as in collective health. It was defined to verify the Intensity of Activity of Bacterial Inhibition (IINIB) and Intensity of Activity of Bacterial Inactivation (IINAB) of hydro extracts (decoctions), alcoholic and hydro alcoholic (dye) on standardized inoculums of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Salmonella Enteritidis* (ATCC 11076) and *Escherichia coli* (ATCC 11229). The vegetable alcoholic extracts were prepared with fresh leaves, the hydro alcohols with dehydrated stalks (*cambitos*), and the decoctions with leaves and stalks of dehydrated material. All the four extraction forms presented inactivation capacity and/or selective inhibition on the bacterial inoculums; however the extracts in base of cereal alcohol were the ones that presented the best results. Among the bacteria, *Salmonella Enteritidis* demonstrated larger sensibility followed by the *Enterococcus faecalis*. Later these two samples were submitted to tests under time of exhibition of 5, 15, 30 and 60 minutes, in the absence and in the presence of organic matter (inactivated bovine serum), confronting them with the leaves alcoholic extract and with the stalk hydro alcoholic extract, as they had larger antibacterial action on the agents tested in the initial tests of IINIB and IINAB. The stalk decoction didn't correspond the initial expectations, and the alcoholic extracts as much of leaves as of stalks presented effective results. The time of exhibition and the presence of organic matter interfered in the in the sensibility presented by *Salmonella Enteritidis* and *Enterococcus faecalis*, positive and negatively, respectively.

Key words: *Ilex paraguariensis*, family agriculture, antibacterial activity, antibacterial in zoonoses, medicinal plants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Produção de erva mate no RS 2001 a 2003.....	31
----------	--	-----------

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Resultados de IINIB e IINAB representados por variáveis ordinais arbitrárias.....	37
Tabela 2 -	Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB), produzidas pelo extrato hidroalcoólico de cambitos de <i>Ilex paraguariensis</i> , em três repetições independentes, sobre diferentes inóculos bacterianos, em 72 horas de incubação a 37°C.....	40
Tabela 3 -	Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) produzidas pelo extrato alcoólico de folhas de <i>Ilex paraguariensis</i> , em três repetições independentes, sobre diferentes inóculos bacterianos, em 72 horas de incubação a 37°C.....	41
Tabela 4 -	Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) produzidas pelo decocto de cambitos de <i>Ilex paraguariensis</i> , em três repetições independentes, sobre diferentes inóculos bacterianos, em 72 horas de incubação a 37°C.....	42
Tabela 5 -	Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) produzidas pelo decocto de folhas de <i>Ilex paraguariensis</i> , em três repetições independentes, sobre diferentes inóculos bacterianos, em 72 horas de incubação a 37°C.....	42
Tabela 6 -	Comparação de resultados entre os métodos de extração (alcoholatura de folhas e hidroalcoholatura de cambitos) com diferentes tempos de exposição, na presença e ausência de matéria orgânica para <i>Enterococcus faecalis</i>	44
Tabela 7 -	Comparação de resultados entre os métodos de extração (alcoholatura de folhas e hidroalcoholatura de cambitos) com diferentes tempos de exposição, na presença e ausência de matéria orgânica para <i>Salmonella</i> Enteritidis.....	45

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	Considerações Iniciais.....	13
1.2	Problema.....	14
1.3	Hipóteses	14
1.4	Justificativa.....	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1	AGRICULTURA FAMILIAR E TRANSIÇÃO DO PARADIGMA TECNOLÓGICO.....	15
2.1.1	Processo de desenvolvimento na agricultura.....	15
2.1.2	A visão da sustentabilidade.....	17
2.1.3	Perspectivas para criação animal.....	18
2.1.4	Plantas medicinais.....	19
2.2	O estudo de plantas medicinais.....	19
2.2.1	Atividade antibacteriana de algumas plantas medicinais.....	20
2.2.2	Saúde e Produção Animal: importância dos desinfetantes..	22
2.2.3	Bactérias Zoonóticas: Suas Influências na Produção Animal e o Risco na Segurança Alimentar.....	23
2.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.3.1	<i>Enterococcus faecalis</i>	25
2.3.2	<i>Salmonella</i> Enteritidis.....	26.
2.4	<i>Escherichia coli</i>	26
2.5	<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hill “erva-mate”	27
2.5.1	Histórico da cultura da erva-mate.....	27
2.5.2	Características da planta.....	30
2.5.3	Produção de erva-mate no Rio Grande do Sul.....	30
2.5.4	Características fitoquímicas.....	31

CAPÍTULO II

3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
----------	---------------------------------	-----------

3.1	Amostras Vegetais Local de Coleta.....	34
3.2	Preparo dos Extratos Vegetais.....	34
3.3.	Inóculos Bacterianos, Preparação e Diluição.....	35
3.4	Linha de Diluição de Inoculo.....	35
3.5.	Técnicas.....	36
3.5.1	Sistema de tubos múltiplos (Com e Sem desinibidores) para triagem inicial de atividade antibacteriana.....	36
3.5.2.	Teste de Suspensão Simples para avaliação do tempo de atuação de desinfetantes e anti-sépticos.....	37
3.5.3	Teste de Suspensão com presença do Fator Matéria Orgânica e tempo de atuação de desinfetantes e anti-sépticos.....	37
3.6	Análise Estatística.....	38

CAPÍTULO III

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1	Triagem Inicial de Atividade Antibacteriana pelo Sistema de Tubos Múltiplos (Com e Sem Desinibidores).....	40
4.2	Os Fatores Tempo de Exposição e Matéria Orgânica.....	43
	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	47
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

ANEXOS

ANEXO A	Tabela de Aplicação de Tempo de Exposição no Teste de Suspensão.....	57
ANEXO B	Comparação de resultados entre os métodos de extração e bactérias, na presença e ausência de desinibidor.....	59
ANEXO C	Análise de Variância.....	60
ANEXO D	Teste de Tukey para Bactérias.....	61
ANEXO E	Teste de Tukey para Métodos de Extração.....	62
ANEXO F	Análise de Variância - <i>Salmonella</i> Enteritidis.....	63
ANEXO G	Teste de Tukey - <i>Salmonella</i> Enteritidis.....	64

ANEXO H	Análise de Variância – <i>Enteorcoccus faecalis</i>	65
ANEXO I	Teste de Tukey - <i>Enteorcoccus faecalis</i>	66
ANEXO J	Trabalho apresentado No III CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA E III SEMINÁRIO ESTADUAL DE AGROECOLOGIA.....	67

Capítulo I

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Iniciais

O uso de erva-mate tem sua origem junto aos povos indígenas que estabeleceram-se no sul da América do Sul. Essa relação de uso da erva pelo indígena tem um alicerce profundo em suas crenças espirituais e visão de ecossistemas. Desde as primeiras investidas que os colonizadores europeus realizaram no Continente, foi crescente o interesse comercial pela planta por seus efeitos revigorante e estimulante, criando-se formas de sua exploração.

Os cultivos de ervais chegam a nossa época com uma forma racionalizada de produção, com muitas técnicas para aumentar a produtividade e qualificar e transformar a erva em produtos. No Sul do Brasil a produção de erva está distribuída, na sua maioria, em pequenas propriedades rurais que a exploram como uma forma complementar de renda na sua área produtiva, com possibilidades de comercialização desta produção vinculada quase que exclusivamente à venda de produtos para empresas que beneficiam a erva.

Desde o processo de desenvolvimento da agricultura moderna, criado nas décadas de 50, 60 e 70, ficou claro uma forte mudança na maneira de relação do homem do campo com a natureza, tornando cada vez mais necessário o consumo de insumos externos do ambiente em que se vive para atender padrões da produção, voltada exclusivamente ao mercado. Isso ocasionou o êxodo rural e uma grande escassez de recursos naturais. Atualmente, porém, são muitos os movimentos sociais, entidades organizadas e Organizações Não Governamentais (ONGs) que trabalham para formular outra possibilidade de desenvolvimento, que seja de uma agricultura sustentável, onde as tecnologias devem primar pela questão social e ambiental.

O campo científico tem contribuído com a pesquisa de tecnologias que valorizem a natureza junto com o conhecimento da população sobre estes ambientes. Neste contexto, o Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, contribuiu com diferentes teses e dissertações, embasada no desenvolvimento e no resgate popular criando-se a possibilidade de compartilhar diferentes resultados de pesquisa e mesmo de visões de mundo.

1.2 Problema

Como questão de pesquisa questionou-se qual seria a atividade antibacteriana de *Ilex paraguariensis* St. Hill. (“erva-mate”) frente a agentes zoonóticos, simulando, “*in vitro*”, situações problemas em ambientes de saúde e produção animal na agricultura familiar.

1.3 Hipóteses

Como hipótese de pesquisa estabeleceu-se:

- diversos extratos de diferentes partes de *Ilex paraguariensis* St. Hill. (“erva mate”), sob forma de droga crua, apresentariam atividade antimicrobiana seletiva sobre distintas bactérias zoonóticas;
- essa atividade poderia ser expressa através de CIMs (Concentrações Inibitórias Mínimas), IINIBs (Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana), CBMs (Concentrações Bactericidas Mínimas) IINABs (Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana);
- essa atividade poderia interferir na preditividade diagnóstica destas zoonoses, simulando resultados falsos negativos, por inibição dos agentes bacterianos;
- seria possível agregar valor a subprodutos e resíduos da erva mate, como insumos para a profilaxia de zoonoses em condições de agricultura familiar.

1.4 Justificativa

A produção da erva-mate gera uma quantidade de resíduos não aproveitados (cambitos, galhos, tocos e folhas), desprezados por vezes de forma inadequada, facilitando, por exemplo, riscos de acidentes ocupacionais por agentes perfuro-cortantes. Por ser um volume de resíduo abundante e não aproveitado, propõe-se uma reutilização como fonte de possíveis antimicrobianos no controle de zoonoses bacterianas em sistemas de saúde e produção animal, por exemplo, sob forma de camas em avicultura. Esse subproduto, por sua vez, poderia ser um substitutivo de insumos, bem como uma complementação de renda para pequenas propriedades.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.2 AGRICULTURA FAMILIAR E TRANSIÇÃO DO PARADIGMA TECNOLÓGICO.

2.2.1 Processo de desenvolvimento na agricultura

No último século, a idéia de desenvolvimento ganha força nos países não industrializados, através de teorias e princípios econômicos que vêm, no Estado, um impulsionador da modernização, garantindo um importante desenvolvimento econômico e técnico (ALMEIDA; NAVARRO, 1997).

No pós-guerra identificaram-se altas taxas de crescimento mundial, geradoras de uma expansão econômica que perdurou até meados dos anos 70. Durante as décadas de 50 e 60 desenvolveu-se a idéia de que a agricultura deveria assumir um caráter empresarial e moderno, que participasse do crescimento econômico nacional. Com isso rotulou-se, ideologicamente, o modo de produção agrícola tradicional como sendo “atrasado” ou “arcaico”, para que esse pudesse ser superado por uma nova e melhor agricultura (ALMEIDA; NAVARRO, *op. cit.*). No Brasil essa tendência desenvolvimentista se aprofunda na década de 60 com a introdução do modelo tecnológico Norte Americano para a produção agrícola e pecuária, investindo-se massivamente em três áreas da ciência (mecânica, química e biologia), esse processo recebeu denominação de “Revolução Verde” (Görge, 2004). Silva (1999) ressalta ainda que a posição da ciência no programa de desenvolvimento tecnológica deve ser compreendida estando inserido e vinculado à questão de classe da sociedade capitalista e que o problema fundamental não seria o caráter científico do conhecimento em si, mas sim o seu aspecto político ideológico (para quem serve a tecnologia a ser utilizada).

Para adequar seu modelo de produção agrícola, o Brasil teve de modernizar a base técnica dessa produção, promovendo a substituição de produtos internos por outros externos (máquinas e insumos químicos). Essa relação de crescimento de consumo intermediário causou a dependência da compra de insumos. Também caracteriza esse período, o processo de industrialização da agricultura, fazendo com que grupos econômicos, através de fusões, constituíssem grupos financeiros que passam a ter poder

especulativo no mercado e começam a adquirir grande quantidade de terras, ficando muitas delas na mão de multinacionais (SILVA, *op. cit.*).

Para implementação do pacote tecnológico foi necessária a formação de técnicos em universidades e escolas agrícolas que pudessem reproduzir os conceitos desta nova tecnologia (Görger, *op. cit.*). formou-se uma estrutura para a Extensão rural no Brasil atrelada a tendência de desenvolvimento urbano-industrial, criando assim uma necessidade de educar o homem do campo de forma que esse pudesse se adaptar ao processo das forças produtivas e relações de produção inerentes ao modo de produção predominante (Caporal e Costabeber, 2004).

As medidas adotadas na produção agrícola pelos países em desenvolvimento nos últimos vinte e cinco anos, trouxeram sérias conseqüências. O aumento dos problemas manifestou-se tanto no aspecto econômico (com o empobrecimento dos agricultores) como no aspecto ambiental, com a extensa exploração dos recursos renováveis e não renováveis e a contaminação excessiva devido ao elevado uso de produtos químicos para agricultura. (ALMEIDA; NAVARRO, *op. cit.*).

2.2.2 A visão da sustentabilidade e agroecologia

Vários fatores foram relevantes para o crescimento do debate sobre desenvolvimento sustentável e a disseminação de alternativas tecnológicas. Existem diversas iniciativas de entidades, não governamentais e governamentais, que procuram desenvolver o tema do desenvolvimento rural (NAVARRO; ALMEIDA *op. cit.*). Procurou-se estabelecer alguns elementos sobre a necessidade de construção de novos paradigmas que visem à equidade da produção para produtores e consumidores

“A preservação da produtividade da terra agrícola, em longo prazo, requer a produção sustentável de alimentos. A sustentabilidade é alcançada através de práticas agrícolas alternativas, orientadas pelo conhecimento em profundidade dos processos ecológicos que ocorrem nas áreas produtivas e nos contextos mais amplos dos quais elas fazem parte. A partir desta base, podemos caminhar na direção das mudanças socioeconômicas que provem a sustentabilidade de todos os setores do sistema alimentar (GLIESSMAN, 2000, p.52).”

Caporal e Costabeber (2001) relatam que, neste contexto, “surgem novas orientações teóricas”, usando conceitos mais abrangentes como o “desenvolvimento com equidade” e o “ecodesenvolvimento”. Segundo Gómez (1997), esses marcos

teóricos foram desenvolvidos durante as décadas de 70 e 80 e são utilizados para expressar a preocupação de garantir as necessidades atuais sem comprometer a vida de gerações futuras. Várias definições e interpretações são dadas sobre o desenvolvimento sustentável, porém considera-se que existe consenso em alguns pontos como:

“Manutenção em longo prazo dos recursos naturais e da produtividade agrícola; minimizar os impactos adversos ao meio ambiente; retorno econômico adequado aos produtores; satisfação das necessidades humanas de alimento e renda; atendimento das necessidades sociais das famílias e das comunidades rurais, (GOMEZ,1997, p.99).”

A agroecologia surge com uma percepção de sustentabilidade que passa a levar em conta outros fatores que não só os produtivos. Configura-se como uma nova dinâmica de ciência, que relaciona as questões socioeconômicas com profunda compreensão da ecologia humana nos sistemas agrícolas. Tendo como objetivos e princípios produzir conhecimento, não apenas técnico-agronômicos, mas sócio-culturais, políticos e éticos, desenvolvendo um agroecossistema com dependência mínima de insumos externos (ALTIERI, 1998).

Conforme Gliessman (*op. cit.*) a agroecologia tem por objetivo desenvolver uma agricultura que é ambientalmente consistente, altamente produtiva e economicamente viável valorizando o conhecimento local de forma a romper com o processo de produção de conhecimento e sua aplicação.

Uma discussão que vem sendo feita pelos que defendem a agroecologia é que não basta fazer a substituição de insumos químicos pelos biológicos, pois o sistema de produção deve incluir a produção vegetal e animal, no qual se incrementam o sinergismo que assegura a fertilidade do solo, a regulação natural das pragas e a produtividade das culturas (ALTIERI; NICHOLLS, 2005)

A discussão de agricultura sustentável e agroecologia, estão diretamente ligadas à agricultura familiar. Esse grupo social, pelas suas condições de produção e sua lógica econômica de reprodução simples, é capaz de realizar a transição com maior facilidade para um modelo de desenvolvimento sustentável (GOMEZ *op. cit.*). Devemos perceber que esta é uma forma peculiar de exploração da terra, ou seja, possui formas de condução das atividades e da vida de produção, ligadas à lógica da reprodução e sobrevivência da família (RIBEIRO 2002, *apud* OLIVEIRA 2003).

2.2.3 Perspectivas para criação animal na agroecologia

O mundo em que o homem faz parte, dentro de uma abordagem holística, remete à valorização de todos os seres vivos e isso significa dar aos animais a dignidade que merecem. Numa propriedade ecológica, a saúde dos animais não deve ser baseada no uso de drogas químicas, e sim em um sistema integrado que considere as raças mais adaptadas ao local, manejo e rotação de pastagens, priorizando sempre o bem-estar animal (ESCOSTEGUY, 2000).

Os animais são freqüentemente relacionados, nos sistemas de agricultura sustentável, como fornecedores de matéria orgânica ou tração, menosprezando a complexidade destes seres biológicos e o seu papel na evolução das sociedades humanas (ZANELLA, 1998). Nos últimos doze mil anos da história da humanidade, a domesticação dos animais gerou várias mudanças no modo de vida dos seres humanos, proporcionando estabilidade, fornecimento de alimentos, agasalho, trabalho, proteção e companhia (SERPELL, 1988, *apud* ZANELLA, *op. cit.*).

O sistema orgânico ou ecológico de produção animal consiste numa rede interligada de todos os elementos na propriedade, considerando as conseqüências de qualquer intervenção que possa causar reações, não só nos animais, mas também no solo, plantas e meio ambiente. Existem vários métodos para intervir na prevenção ou tratamento de doenças, como a homeopatia para animais, plantas medicinais, acupuntura e associação de criação com predadores naturais de parasitas (AURVALLE, 1985).

A sustentabilidade não é possível sem a preservação da diversidade cultural que permeia as agriculturas locais. Nesse ponto, o resgate de conhecimentos de pessoas sobre o local em relação ao solo, vegetação e práticas com animais, pode ser fundamental (ALTIERRI, *op. cit.*). Um trabalho realizado na Itália, com grupos tradicionais de agricultores, possibilitou o estudo de mais de 260 espécies de plantas que culturalmente são usadas no tratamento animal, possibilitando resgatar esse conhecimento, que com o passar do tempo tem sido transmitido de forma oral entre as gerações (VIEGI; et al., 2003).

2.3 Plantas medicinais :

2.3.1 O estudo de plantas medicinais

Desde o início da humanidade, as plantas medicinais são usadas como forma de tratamento, alimentação e prevenção de doenças. Schüller (1990) relata que um dos documentos mais antigos que aborda o uso e cultivo de plantas foi encontrado na China e data de 3000 a.C. Cunha (2003) ressalta ainda que os Assírios e Egípcios também possuíam domínio sobre a manipulação e uso de plantas no tratamento de doenças, deixando registrados em suas escritas. Com o passar dos séculos, várias civilizações deixaram seus escritos e estudos sobre as plantas, porém foi no final do século XVIII que se começou a isolar e determinar a estrutura dos constituintes ativos dos produtos de origem natural (CUNHA *op cit.*). Em 1841, foi sintetizado pela primeira vez um medicamento que reproduzia o ácido salicílico que existe em *Salix babilonica* L. “salso chorão” (SCHÜLER *op cit.*).

Os medicamentos modernos dos laboratórios farmacêuticos são amostras purificadas e altamente concentradas de substâncias que existem naturalmente nas plantas, e nesse processo descartam-se outros elementos considerados sem importância, mas que desempenham um papel vital para limitar efeito colateral do princípio ativo principal (CAPRA, 1982).

Com o desenvolvimento das indústrias farmacêuticas e a grande quantidade de produtos lançados no mercado que tiveram sucesso em tratamento de várias doenças e sintomas criou-se assim um menosprezo pelas plantas medicinais (SIMÕES et al, 1988). Essa forma de pensar sedimentou-se no meio científico e da saúde; todavia nessas últimas décadas, houve algumas mudanças de atitude. A Organização Mundial da Saúde, através das Conferências Mundiais de Saúde, vem enfatizando que os conhecimentos ditos tradicionais, com o uso de recursos naturais, principalmente com plantas, constituem um alicerce indiscutível na Atenção Primária em Saúde. Esta foi defendida na Conferência Internacional de Alma Ata, em 1978, no Cazaquistão, como a assistência sanitária básica, baseada em métodos e tecnologias práticas, cientificamente fundamentadas e socialmente aceitáveis, posta ao alcance dos membros das comunidades mediante sua participação plena e a custos suportáveis (OMS, 1978).

Uma das ferramentas mais relevantes no estudo de plantas medicinais é o resgate do conhecimento tradicional. Muitas comunidades tradicionais ou autóctones possuem uma vasta farmacopéia natural, em boa parte proveniente dos recursos vegetais encontrados nos ambientes naturais ocupados por estas populações, ou cultivados em ambientes antropicamente alterados (AMOROZO, 2002). A população, de um modo geral, guarda um saber significativo a respeito de métodos alternativos para curar as doenças mais freqüentes. As comunidades tradicionais possuem uma experiência maior sobre esse assunto, porém esse conhecimento vem sendo ameaçado devido à influência direta do uso da medicina ocidental moderna em tais comunidades (QUEIROZ, 1986 apud PAULA *et al.* 2002).

O estudo de plantas medicinais com um caráter multi e interdisciplinar tem sido reconhecido como um ponto crucial para o desenvolvimento de estudos mais elaborados, mais profundos e de maior credibilidade científica (DI STASI, 1996).

2.3.2 Atividade antibacteriana de algumas plantas medicinais

A pesquisa de plantas medicinais sobre a atividade antibacteriana tem cativado vários cientistas em todo mundo. Na Índia, Ray e Majumdar (1997) testaram cento e cinco espécies de plantas com objetivo de prospectar sua ação antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* e *Vibrio cholera* e ação antifúngica contra *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* e *Aspergillus niger*. Das plantas testadas trinta tiveram resultados consideráveis como antibacterianas, tanto para gram-positivas quanto para gram-negativas, e vinte com atividade antifúngica. Quatro plantas mostraram atividade para todos os microrganismos testados.

Outros trabalhos se embasam nas práticas tradicionais de medicina popular para fazer a triagem de atividade antibacteriana. Anesini e Perez (1993) trabalharam com extratos de 132 plantas através de decocto. As plantas que foram utilizadas pertencem a um vasto conhecimento da população Argentina e são aplicadas no tratamento de cataratas, diarréias e infecções do trato urinário. Os resultados obtidos foram de 12 espécies com atividade contra *Staphylococcus aureus*, dez espécies contra *Escherichia coli* e quatro contra *Aspergillus niger*.

No Brasil também existem muitos trabalhos em várias regiões do país. Celotto *et al.* (2003), em São Paulo, estudaram a atividade antibacteriana de três espécies de *Miconia* (*M. albicans*, *M. rubiginosa* e *M. steonostachya*). O princípio do trabalho foi

fazer extratos com a droga crua, valorizando a integralidade do composto fitoquímico da planta e confrontando com algumas bactérias patogênicas como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia coli*.

Na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, tecnologias que utilizam recursos naturais renováveis para desinfecção tem sido tema de pesquisa. Várias dissertações e teses dentro do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias tratam do assunto. As plantas utilizadas para pesquisa normalmente são indicadas por informantes, ou seja, pessoas que possuem conhecimento empírico do uso da planta como medicinais resgatadas através de etnografia rápida. Destas plantas selecionadas, confrontam-se seus extratos (decocto, alcoolatura e óleos essenciais) com bactérias de interesse sanitário, podendo estas ser padronizadas internacionalmente ou isoladas de situações-problema-específicas (SOUZA 2005). Neste sentido, a atividade antibacteriana do decocto de *Baccharis trimera* (Less) D. C. – Compositae (carqueja) foi testada por Avancini (1995), mostrando marcada seletividade sobre as bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus uberis*) e menor ação sobre bactérias Gram-negativas (*Salmonella pullorum* e *Escherichia coli*). Este estudo referendou indicação popular do uso da carqueja e possibilitou estabelecer uma atividade mínima da planta que atingisse a eficácia antimicrobiana desejada. Souza (1998), utilizando o decocto de *Tagetes minuta* L. – Compositae (chinchilho) frente a diferentes bactérias, obteve sensibilidade à planta por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecium* e *Salmonella pullorum*. Já *Escherichia coli*, nas condições do experimento, demonstrou-se mais resistente ao decocto. Gutkoski (1999) testou o decocto de *Casearia sylvestris* Swartz Flacourtiaceae (chá de bugre) em seis microrganismos de importância em saúde humana e animal, obtendo bacteriostasia para *Salmonella* Enteritidis e redução na contagem de unidades formadoras de colônias (u.f.c) de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*, não apresentando atividade antibacteriana para *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus faecium*. Avancini (2002) confrontou *Hypericum caprifoliatum* Cham e Schlecht – Hypericaceae (Guttiferaceae) – (escadinha) com alguns agentes Gram positivos, apresentando atividade bacteriostática e bactericida frente a nove amostras testadas, dentre elas *Staphylococcus aureus* e *Salmonella cholera-suis*. Das amostras confrontadas com o extrato da planta, entre as isoladas de situações problema “de campo”, apenas uma mostrou resistência. Gonçalves (2005) estudou dezoito plantas resgatando o seu uso popular. Destas, cinco apresentaram melhor ação no controle de

crescimento bacteriano. O extrato que mais se destacou foi o da *Cuphea carthagenensis* (Jacq) Macbride (“sete sangrias”). Souza (2005) trabalhou com enfoque na etnografia em comunidades remanescentes de Quilombolas no litoral do Rio grande do Sul, com a planta *Aloysia gratissima* (Gill et Hook) Tronc-. Verbenaceae (garupá), testando seus extratos sobre seis agentes de importância em saúde e produção animal. Dentre estes, três demonstraram resultados satisfatórios quanto à sensibilidade com o *Rhodococcus equi*, *Pasteurella multocida* e *Salmonella* Enteritidis. Alguns outros trabalhos foram realizados com bactérias de interesse em alimentos e confrontadas com plantas condimentares, com objetivo de encontrar conservantes naturais para produtos alimentícios. Bedin (1998) confrontou o decocto de *Origanum applii* (Domin.) Boros Labiatae (orégano) com *Salmonella* Enteritidis e *Escherichia coli*, tendo como resultado atividade antimicrobiana satisfatória. Carvalho (2004) testou trinta e duas espécies diferentes de condimentos sobre quatro inóculos padronizados, dois Gram-positivos (*Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*) e dois Gram-negativos (*Salmonella* Enteritidis e *Escherichia coli*). Doze das plantas selecionadas apresentaram atividade antibacteriana.

2.4 Saúde e Produção Animal: importância dos desinfetantes

Com a mudança da produção tradicional para os sistemas mais tecnificados, provocou-se um aumento na concentração animal nos diferentes sistemas de criação, possibilitando, assim, a maior transmissibilidade de doenças que, muitas vezes, estavam em equilíbrio na natureza. Segundo Athayde (1984), a relação entre Saúde/Enfermidade é dependente de três fatores básicos, dinâmicos entre si: agente causal, hospedeiro-suscetível e ambiente. Foratini (1992) estabelece ainda que, nessas circunstâncias, se considerarmos a noção ecológica da doença, ou seja, encadeamento de determinantes de natureza física, biológica e social, haverá condições propícias e necessárias para ocorrência da enfermidade.

Reber (1973), Borneff (1977) e Schliesser & Strauch (1981), apud Wiest (1984), definem a desinfecção como sendo o controle ou a eliminação dirigida de microrganismos considerados indesejáveis em situações problema específicas, pela atuação em sua estrutura e seu metabolismo, independente do seu estado funcional, visando prejudicar a transmissão do agente e/ou reduzir a sua dose infectante. Dessa maneira, atende-se a multidimensão dos problemas de saúde, desde a produção de

alimentos (desinfecção de estábulos, salas de ordenha, frigoríficos, etc) até os aspectos ambulatoriais, clínicos ou cirúrgicos também persistentes. Com isso, pode-se estimar que um microrganismo possa assumir papel importante dependendo do objetivo que se deseja alcançar. *Proteus*, por exemplo, dentro de um ambiente cirúrgico deve ser controlado para impedir que haja contaminação de materiais e/ou dos tecidos vivos, porém, ele é muito eficaz e desejável, em sistemas de biodegradação de resíduos.

Wiest e Fensterseifer (1985) referem-se à desinfecção como uma forma de prevenção da ocorrência ou prevenção da evolução de problemas transmissíveis, tanto individualmente quanto em populações. Pode-se citar, como exemplo, Englert (1991) apud Avancini (2002) no uso rotineiro de desinfetantes em avicultura como uma prática decisiva na prevenção de doenças e manutenção do ambiente de sanidade das aves.

Ao se analisar, porém, os desinfetantes sintéticos, estes trazem na sua formulação uma carga de produtos poluidores e alguns com poder residual muito alto, permanecendo no ambiente por muito tempo. A desinfecção como problema de saúde defronta-se com aspectos relacionados à oferta de produtos no mercado ligados a sociedade de consumo, bem como a problemas relativos ao meio ambiente (ecossistema), causados pela ampla variedade de produtos químicos com poder cumulativo (AL-WAKEEL, apud WIEST e FENSTERSEIFER, 1985). Estes autores descrevem ainda que antibióticos e desinfetantes provoquem transtornos significativos no tratamento de resíduos liqüefeitos, oriundos da produção animal, mantidos sob aeração e movimentação contínuas e forçadas, que visam a reciclagem biológica.

2.5 Bactérias Zoonóticas: Suas Influências na Produção Animal e o Risco na Segurança Alimentar

Zoonoses são enfermidades naturalmente transmitidas entre homens e animais, tendo relações significativas com a saúde pública, o ambiente e o bem-estar socioeconômico, portanto, com qualidade de vida. Estão presentes em várias espécies animais principalmente nas que o homem depende para sua alimentação, registrando maior incidência nos países em desenvolvimento (ACHA e SZYFRES, 2003). Schwabe (1969, apud Wiest,1984) define zoonoses como sendo doenças compartilhadas na natureza pela espécie humana e as espécies animais vertebradas superiores.

As zoonoses classificam-se, segundo a Organização Mundial da Saúde, em quatro categorias: as zoonoses diretas, as ciclozoonoses, as metazoonoses e as saprozoonoses, levando em conta um enfoque didático e epidemiológico, que fundamenta-se no tipo de ciclo do agente causal transmissível. Entre as zoonoses diretas, classificam-se as principais doenças transmissíveis por alimentos através de agentes como *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Escherichia* entre outras, que necessitam somente de um vertebrado para manterem seu ciclo (WIEST, op cit).

2.5.1 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus* foi descrito pela primeira vez em 1878, por Robert Koch, em pus humano (GUERREIRO, 1984). É uma bactéria coco, gram-positiva, não esporulada, aeróbia e anaeróbia facultativa, não muito resistente ao calor, porém possui enterotoxinas que resistem até 100°C por 30 minutos. São conhecidos cinco tipos de enterotoxinas (A, B, C, D e E), contudo a mais prevalente é a enterotoxina A. (ACHA e SZYFRES, *op.cit.*).

Mesmo que os *Staphylococcus spp.* não produzam esporos, eles têm uma fase de significância intermediária no ambiente, desde que haja pó, não dependendo da excreção fecal (HOBBS E ROBERTS 1993). Possuem um bom crescimento sob condições de alta pressão osmótica e pouca umidade, explicando parcialmente como conseguem crescer e sobreviver nas secreções nasais e na pele (TORTORA; FUNKE; CASE, 2000).

Entre as doenças produzidas por estafilococos, a mastite bovina pode ser causada por essa bactéria comum no úbere da vaca, podendo também ser transmitida pelo maquinário de ordenha e/ou pelas mãos do ordenhador. Isso causa grande perda da produção, trazendo prejuízos ao produtor de leite (ACHA e SZYFRES, *op. cit.*). Uma outra possibilidade de problema de saúde pública deve ser considerada já que cerca de 44% do leite consumido no Brasil é vendido informalmente, ou seja, sem nenhum tipo de fiscalização sanitária. (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

Segundo Guerreiro (*op. cit.*), o *Staphylococcus aureus* acomete os suínos causando epidermite exudativa e dermatite seborréica, sendo que essa última pode atingir morbidade e mortalidade de 5 a 90%. Em cães, a bactéria causa a dermatite pustulosa e em galinhas pode causar septicemia em animais de baixa resistência, levando ao óbito.

Esse tipo de contaminação dentro dos sistemas de produção animal, além de causar perdas econômicas, pode ser patogênico para o homem, sendo por isso que a Organização Mundial da Saúde (OMS) considera as doenças provocadas por essa bactéria como zoonoses (GUERREIRO, op. cit.).

2.5.2 *Enterococcus faecalis*

O termo *Enterococcus* foi utilizado pela primeira vez em 1899 por Thiercelin para descrever diplococos gram-positivos de origem intestinal, e em 1909, foram classificados dentro do gênero *Streptococcus* como *Streptococcus faecalis* (PITA, 2002). Durante muito tempo foram considerados como uma das categorias do *Streptococcus* possuidores do antígeno do grupo D. Através de características fisiológicas e da suscetibilidade a antimicrobianos, somando essas diferenças aos estudos de genes, demonstrou-se a diferença entre estas bactérias, criando-se a necessidade de um gênero próprio, *Enterococcus*. As duas espécies mais importantes são *E. faecalis* e *E. faecium*, porém esse gênero possui mais de 20 espécies atualmente (TRABULSI; ALTERTHUM, 2004).

O *E. faecalis* é membro da flora normal do trato intestinal (homens e animais), podendo ser também encontrado na mucosa oral, vaginal e na pele (TRABULSI; ALTERTHUM, op cit.). Existem algumas restrições no uso de *Enterococcus faecalis* como indicadores de contaminação fecal, por serem encontrados em outros ambientes diferentes do trato intestinal (FRANCO; LANDGRAF, 1996). *E. faecalis* apresenta maior sobrevivência do que os enteropatógenos do solo, de vegetais e em alimentos, principalmente naqueles submetidos à desidratação, ação de desinfetantes e à flutuação de temperatura, por serem mais resistentes.

E. faecalis corresponde a cerca de 80 a 85% das amostras de enterococos isoladas de material clínico (TRABULSI; ALTERTHUM, op cit.). Em Porto Alegre efetuou-se uma pesquisa onde 455 amostras de enterococos, isolados de pacientes moradores da cidade, foram identificados e testados quanto à sensibilidade a antimicrobianos, sendo a espécie mais freqüente o *E. faecalis* (92,8%). Os testes revelaram que 62% das amostras foram resistentes à tetraciclina, 42,6% à eritromicina, 24,8% ao clorofenicol, 22,6% à ciprofloxacina, 22% à norfloxacina, 3,5% à ampicilina e 3,5% à nitrofurantoina (D'AZEVEDO et al., 2004).

2.5.3 *Salmonella* Enteritidis

Esse gênero recebeu seu nome em homenagem ao pesquisador Daniel E. Salmon em 1900. São bacilos gram-negativos e fazem parte da família Enterobacteriaceae (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1997). Ao invés de várias espécies, o gênero *Salmonella* é considerado uma única espécie dividida aproximadamente em 2.000 sorovares, quase todos potencialmente patogênicos ao homem e aos animais (TORTORA; FUNKE; CASE, op. cit).

O principal reservatório natural das salmonelas é o trato intestinal do homem e animais, é freqüente em aves, mas também comum em bovinos, suínos e eqüinos, bem como em animais silvestres como roedores, répteis e anfíbios (ROITMAM, TRAVASSOS; AZEVEDO 1987).

Nos Estados Unidos da América (EUA) a maioria dos surtos de salmonelose eram de *S. typhimurium*. De 1976 para 1993, a taxa de identificação de *S. Enteritidis* cresceu 21%, ultrapassando o sorovar Typhimurium, (ACHA; SZYFRES, op. cit.). Silva e Duarte (2002) fazem uma retrospectiva do surgimento da *Salmonella* Enteritidis no contexto da produção avícola no Brasil, que começou a dar sinal de relevância no final da década de oitenta. O crescimento de isolados deste sorovar passou de 1,2% para 64,9% entre amostras humanas e de zero para 40,7% para amostras não humanas, no período de 1991 a 1995 (HOFER, et al., 1998, apud SILVA; DUARTE, 2002).

No Brasil, os surtos por *S. Enteritidis* no homem têm aumentado e grande parte deles tem sido relacionada com o consumo de ovos ou pratos com ovos. A contaminação de ovos por salmonela dá-se inicialmente pela casca. Agregando tempo e temperatura, criam-se condições preponderantes para salmonelas se instalarem nas estruturas internas do ovo (STALDEMAN, 1986; SILVA, 1995; apud Oliveira e Silva, 2000). Um estudo da Universidade de Campinas, São Paulo, demonstrou em 124 amostras com 10 ovos cada, no período de Janeiro a março de 1995, 9,6% tinham contaminação por *S. Enteritidis* na casca e 3,2% na gema (OLIVEIRA e SILVA, op. cit.).

2.5.3 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* foi identificada pela primeira vez por Escherich em 1885 em fezes de crianças (GUERREIRO op. cit.). Pertence à família *Enterobacteriaceae*, é uma bactéria anaeróbia facultativa e é um dos habitantes mais comuns do trato intestinal,

tanto de homens como de animais. Sua presença na água e nos alimentos é um importante indicador de contaminação fecal (TORTORA; FUNKE; CASE, *op. cit.*).

Embora *Escherichia coli* seja um habitante normal e inofensivo do intestino de quase todas as criaturas, certas cepas são patogênicas para o homem e os animais, (FRANCO; LANDGRAF, *op. cit.*). De acordo com os aspectos estruturais, fisiológicos, genéticos, estrutura antigênica e fatores de virulência, a *Escherichia coli* subdivide-se em seis linhagens patogênicas que são: *Escherichia coli* Enteropatogênica clássica (EPEC), *Escherichia coli* Enterohemorrágica (EHEC), *Escherichia coli* Enterotoxigênica (ETEC), *Escherichia coli* Enteroinvasiva (EIEC), *Escherichia coli* Enteroagregativa (EAEC), e *Escherichia coli* Uropatogênica (UPEC) (TRABULSI; ALTERTHUM, *op. cit.*).

A Colibacilose é uma doença muito comum, causada pela *E. coli*, provocando grandes perdas econômicas na produção animal. Nos bovinos causa alta mortalidade em terneiros de até 10 dias de vida, pelas fortes diarréias e sucessiva desidratação, podendo ainda ocasionar mastites, principalmente em vacas velhas, por terem o canal intramamário dilatado, o que facilita a entrada do agente causal (ACHA; SZYFRES, *op. cit.*). Um dos mais importantes problemas de saúde, associados à produção suína, é a diarreia neonatal causada por cepas de *Escherichia coli* enterotoxigênicas, sendo este agente responsável por 48% das mortes em animais não desmamados (SIMIONATTO et al., 2005). Colibacilose em galinhas adultas e em perus pode afetar os pulmões e também atingir o sistema circulatório, causando septicemia e morte (ACHA; SZYFRES *op. cit.*).

Nos alimentos, a pesquisa de *E. coli* é importante, pois fornece mais informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, *op. cit.*). Surtos de gastroenterites por contaminação alimentar são de incidência maior com as cepas enterotoxigênicas (HOBBS; ROBERTS, *op. cit.*).

2.1 *Ilex paraguariensis* A. St. Hill “erva-mate”

2.1.1 Histórico da cultura da erva-mate

Os indígenas da América do Sul, principalmente os que ocupavam o território que hoje corresponde ao Paraguai, Argentina e sul brasileiro, utilizavam a erva-mate

como uma bebida tônica e estimulante. A palavra de origem quéchua “mati” ou de origem tupi- guarani “caá” (erva) era usada para designar erva mate na época pré-colombiana (BACKES E IRGANG, 2002).

Folhas de erva mate foram encontradas ao redor dos túmulos Incas no Peru (SOUZA, 2003). Relata-se que outras tribos não localizadas na área de ocorrência de erva mate, a obtinham por permuta, fazendo milhares de quilômetros para levar as folhas até Peru, Chile e Bolívia (MAZUCHOWISKI apud BIAZIN, 2003).

Os colonizadores europeus, por volta de 1554, com a chegada do General Irala no Paraguai, tiveram o primeiro contato com a erva mate. O General percebeu que os índios de Guaíra eram mais fortes que os guaranis e atribuiu isto a uma bebida que eles tomavam com folhas moídas ou trituradas numa cuia de porongo por meio de um canudo de taquara (LINHARES, 1969).

Foi no Paraguai o começo da comercialização da erva, essa marcada pelo trabalho escravo dos índios na elaboração do produto que começa a ser apreciado pelos conquistadores e aventureiros, criadores de um sistema de distribuição. Tal sistema abrangia mercados como Argentina, Chile Bolívia e Peru. (LINHARES, *op. cit.*).

Ao mesmo tempo em que se propagava a comercialização da erva mate, a campanha contra o seu uso dava-se em paralelo. A Igreja Católica, que vivia o período da Santa Inquisição, através de seus sacerdotes, não podia permitir o uso e difusão de uma bebida cujas qualidades eram atribuídas a um deus pagão. Usava da excomunhão para aqueles que desfrutassem das graças as quais o deus impostor havia doado às folhas da “caá” (LESSA, 1949).

Apesar das duras controvérsias sobre a erva, já no século XVII, o mate era uma bebida que os platinos consideravam indispensável, independente das classes sociais. Muitos fizeram fortuna no comércio da erva por esta ter rompido as fronteiras paraguaias. Os jesuítas, ao verem que não poderiam se opor a essa realidade, começaram a tirar dele todas as benesses possíveis. Foi o padre Burges, superior da Companhia de Jesus, que chamou atenção para o maior interesse em relação ao mate, pois além do benefício econômico poderia exercer influência positiva sobre os silvícolas (LESSA, *op. cit.*).

No Rio Grande do Sul, o trabalho dos jesuítas começa nos Sete Povos das Missões Orientais, contribuindo muito para a tecnificação do cultivo da erva. Desenvolveram um sistema que resolvia o problema de germinação da semente. (BUNSE, 1960). Esse sistema sempre foi um mistério, pois somente nas missões é que

se conhecia a técnica de germinação. Alguns especulam que as sementes eram dadas de comida a aves domésticas, principalmente mutuns, e essas eram expelidas inteiras, mas adquirindo propriedades de maturação. Tão importante foi essa técnica que, somente 100 anos após a expulsão dos jesuítas, conseguiu-se dominar os procedimentos de germinação. (VELLARD apud LESSA, *op. cit.*).

Foram também os jesuítas os que deram os primeiros passos para um manejo de ervais, sendo que havia um grupo de trabalhadores que controlava os parasitas, os cipoais, podando árvores e auxiliando a evolução do crescimento retardado. Além disso, descobriram uma maneira especial de preparo da erva, a caá-mini, que consistia em um pó grosso, diferenciando-o da “yerba-de-palos” (LESSA, *op. cit.*).

Em 1638, com a invasão dos Bandeirantes nas Missões de Guairá, descobriram também a erva mate e levaram-na para São Vicente. No Paraná e em Santa Catarina, por terem abundância de ervais nativos, propiciou-se uma pronta generalização do uso do mate. Em Minas o uso da erva espalhou-se pelos tropeiros que, ao buscar mulas nos Campos Gerais, retornavam para casa com carregamentos de erva. Também com o desbravamento dos sertões do Mato Grosso, descobriu-se grande quantidade de ervais, que eram usados pelos índios com denominação de “congõin” (LESSA, *op. cit.*).

No século XVIII, inicia-se o comércio da erva brasileira com o mercado do Prata. Acreditavam os platinos que a erva produzida no Brasil não era a mesma que provinha do Paraguai, sendo que essa dúvida perdurou por muitos anos. Somente ficou esclarecida já no Século XIX, com os estudos do naturalista francês August de Saint-Hilaire na América, confirmando que a erva paraguaia era a mesma que a brasileira (LESSA, *op. cit.*).

A partir de 1813 o ditador paraguaio Francia proibiu a exportação total da erva, ficando, assim, Montevideu e Buenos Aires praticamente sem mate, fazendo com que viessem buscar a congonha pelo porto de Paranaguá, no Paraná. Esse fato desencadeou um crescimento do comércio no Brasil, tornando-o o único produtor de mate. Isso atraiu os primeiros engenhos de soque, já abundantes em Assunção (LESSA, *op. cit.*).

No território de Missões, na Argentina, teve início a plantação de ervais, por possuir condições favoráveis de clima e solo. O mate explorado no Brasil era proveniente de ervais nativos, pois não se tinha o domínio de técnicas de cultivo, que ficaram restritas aos jesuítas. Nesse contexto, houve a primeira grande plantação tecnificada de erva na Argentina, que em pouco tempo mostrou-se extremamente produtiva, colocando em xeque os que desacreditavam da possibilidade desta produção

(LINHARES, *op. cit.*). Em 1914, ocorreu a primeira colheita na Argentina que em apenas vinte anos passava a ser o maior produtor mundial deixando o Brasil em segundo lugar (LESSA, *op. cit.*).

2.1.2 Características da planta

O gênero *Ilex* pertence à família das *Aquifoliaceae*, que é cosmopolita e compreende 500 espécies, sendo a maior parte de origem asiática (ALIKARIDIS, 1987). A *Ilex paraguariensis* A. St. Hill popularmente recebe vários nomes: mate, erva-mate, erveira, congonha, erva, erva-verdadeira, erva congonha e outros, e é uma planta que tem distribuição no Brasil, desde o estado de Mato grosso do Sul, passando por São Paulo até Rio Grande do Sul, com mais frequência na mata dos pinhais dos três estados sulinos (LORENZI, 2000). Sua distribuição natural abrange aproximadamente 540.000Km², compreendendo o território do Brasil, Argentina e Paraguai, situados entre latitudes de 21° S e 30° e longitudes de 48°30' W e 56°10' W com altitudes variáveis entre 500 e 1000m (GRIGOLETTI JR. *et al.* 1997, *apud* PASINATO 2003).

Essa espécie é uma constituinte da floresta clímax do planalto, geralmente associado à araucária. Sua propagação dentro da floresta dá-se de forma natural, em geral em clareiras. Seu cultivo tem certa complexidade, que estaria relacionada à quebra de dormência das sementes. É uma árvore de pequeno porte, com uma copa densa e folhas duras, alternadas, oblongas, verdes escuras e com margem dentada. Possui flores de dois tipos: masculinas e femininas. Sua fruta é uma baga com quatro sementes que são importantes para os sabiás e pombas (BACKES E IRGANG, 2002).

2.1.3 Produção de erva-mate no Rio Grande do Sul

Antigamente, no Rio grande do Sul, o sistema de exploração da erva mate era feito de forma extrativista, basicamente dos ervais nativos remanescentes. Atualmente grande parte da colheita provém de ervais cultivados (BELTRÃO *et al.*, 1998). A erva-mate enquadra-se como uma receita marginal que contribui para aumentar os ganhos, principalmente nos grupos de pequenos produtores baseados na agricultura familiar, (BELTRÃO *et al.*, *op. cit.*). O perfil dos produtores que trabalham com erva-mate foi descrito por Ferraz (1995). Este, fazendo um trabalho de levantamento da estrutura da produção junto aos produtores, indústrias e prefeituras nas diferentes regiões do Estado,

verificou que cerca de 65% do total de produtores tem área entre 0 à 20 ha e cerca de 90% do total tem área de 0 à 50 ha.

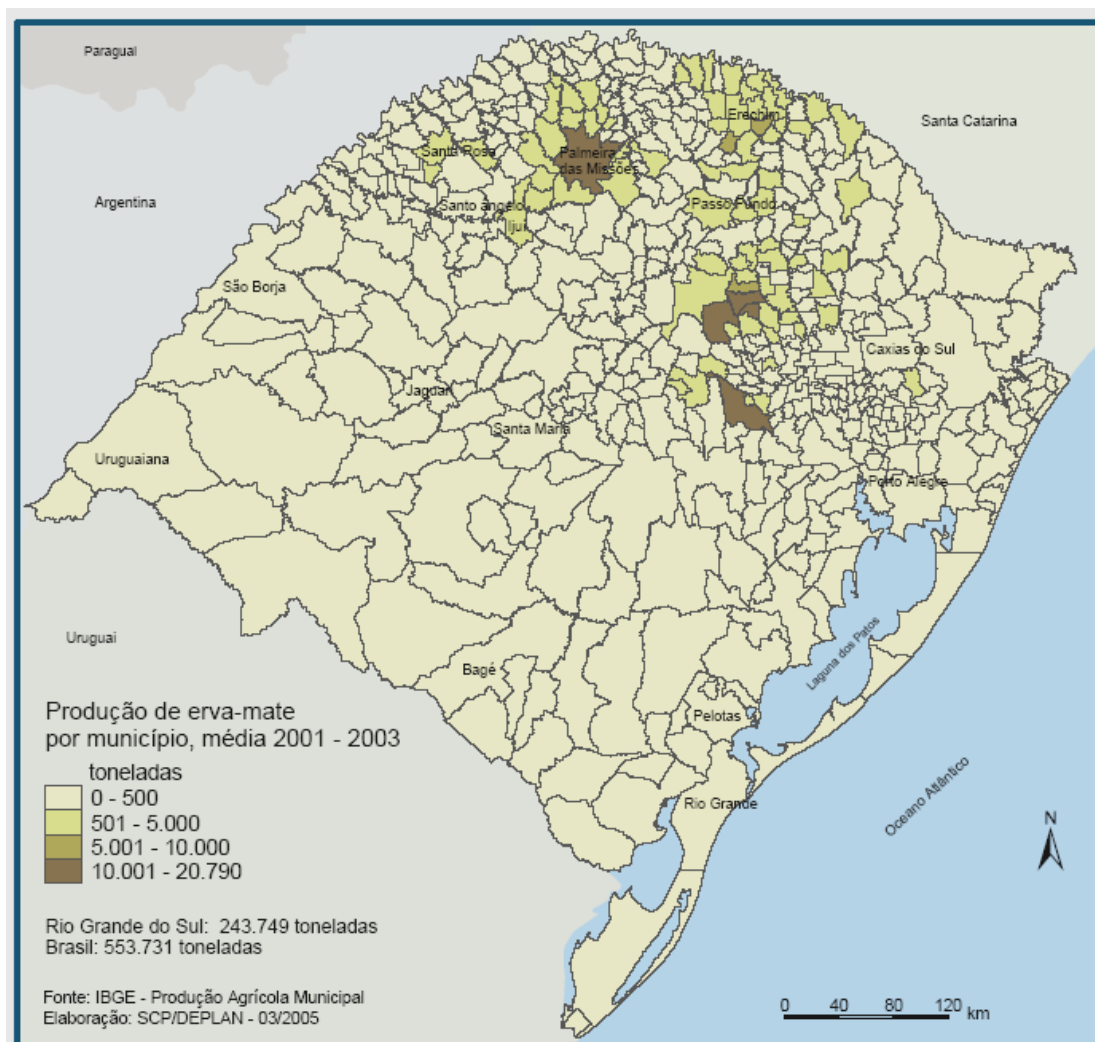


Figura 1. Produção de erva-mate no RS - 2001 a 2003.

2.1.4 Características fitoquímicas

A composição básica da *Ilex paraguariensis* é: água, celulose, gomas, dextrina, mucilagem, glicose, pentose, substâncias graxas, resina aromática, legumina, albumina, cafeína, teofilina, cafearina, cafamarina, ácido matetânico, ácido fólico, ácido caféico, ácido virídico, clorofila, colessterina e óleo essencial (CHEMELLO; CAIO; PANDOLFO, 2001). A planta ainda apresenta, em sua constituição química, vitaminas, aminoácidos, saponinas triterpênicas (RATES, 2004). A *Ilex paraguariensis* tem o seu maior interesse devido à presença de bases xântinas: cafeína e teobromina que também

são muito comuns em outras espécies como o café, cacau, guaraná e outros (TYLER et al., 1979, apud RICO; WAGNER; GURNI, 1995).

Existem muitos estudos para testar quantidades de vários compostos da erva mate e comparado com outras plantas do gênero *Ilex*. Um trabalho realizado na Argentina procurou medir a quantidade de flavonóides (quercitina, canferol e rutina) e derivados cafeínicos (ácido cafeínico, ácido clorogênico, ácido 3,4-dicafeinólico, ácido 3,5-dicafeinólico e ácido 4,5- dicafeinólico) existentes em *Ilex paraguariensis* e em outras sete espécies do mesmo gênero, mostrando que a erva-mate possui maior quantidade destes compostos em suas folhas do que as outras plantas testadas (FILIP et al. 2001).

Na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, há muitos estudos na composição química da erva-mate principalmente no que se refere às saponinas e metilxantinas. Athayede (2000) demonstrou existir uma diferença de concentração em cafeína, apresentando maior quantidade significativa nas amostras colhidas no Mato Grosso do Sul do que nas amostras do Paraná e do Rio Grande do Sul. Coelho (2002) referencia a diferença no sombreamento dos cultivos de erva, onde as plantas que se mantêm num sistema com baixa luminosidade têm um aumento dos níveis de metilxantinas.

Pesquisadores da Universidade da Califórnia USA testaram a atividade antibacteriana de *Ilex paraguariensis* frente a bactérias e fungos patogênicos e prospectaram 10 compostos químicos voláteis (linalol, α -ionone, β -ionone, α -terpineol, ácido octanoico, geraniol, 1-octanol, nerolidol, gerânio lactona e eugenol). Das bactérias que sofreram a inibição total foram *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium ammoniagenes*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* (KUBO; MUROI; HIMEJIMA,1993).

Apresentando vitaminas do complexo B, o mate participa do aproveitamento do açúcar nos músculos, nervos e atividade cerebral do homem. Vitaminas C e E presentes agem como defesa orgânica e são benéficas para os tecidos do organismo. Os sais minerais, juntamente com a cafeína, ajudam o trabalho cardíaco e a circulação do sangue. Em tais situações, também pode ser suprida a sensação de fome. Além disso, contribuem para a diurese e problemas gastrintestinais. (CHEMELLO; CAIO; PANDOLFO, op. cit.).

CAPÍTULO II

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostras Vegetais e Local de Coleta

Foram feitas coletas de *Ilex paraguariensis* A. St. Hill. no Município de Ilópolis, RS, localizado a 195 Km de Porto Alegre, a 730 m acima do nível do mar, no Vale do Taquari.

A coleta foi realizada junto a uma propriedade de agricultura familiar, em cultivos convencionais de Erva Mate. O parceiro dessa etapa foi a Entidade de Organização e Assistência Social São Brás (EMOBRAS), sediada no Município de Ilópolis, a qual fez vinculação entre a universidade e os produtores.

A planta foi caracterizada e identificada botanicamente, a partir de exsicatas segundo Ming (1996), pelo Professor Rinaldo Pires dos Santos do departamento de Botânica da UFRGS e 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 142488.

3.2 Preparo dos Extratos Vegetais

As partes utilizadas da planta tiveram tratamentos diferenciados, conforme as necessidades de acondicionar o material para análise. Realizou-se duas colheitas em momentos distintos, os quais foram primavera de 2004 (cambitos) e outono de 2005 (folhas).

Para poder preparar, separadamente, o decocto das folhas e dos cambitos destes constituídos de galhos remanescentes das podas de colheita convencional optou-se por triturá-los e secá-los à temperatura ambiente. O decocto foi preparado com os cambitos assim processados e com as folhas desidratadas, na proporção de 100g de planta para 1000mL de água destilada estéril, mantido sob fervura durante 15 minutos em aquecedor com refluxo, reduzindo as perdas de princípios ativos e de água por evaporação. Após resfriamento no ambiente, transferiu-se o decocto para outro frasco estéril acrescentando-se à solução água destilada estéril para restabelecer o seu volume inicial (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1959).

Para as folhas recém colhidas, usou-se o preparo de alcoolaturas, triturando-as grosseiramente e colocando-as em álcool etílico para análise, a 96° GL, na proporção de

400g de folhas frescas para 1000mL de álcool. Em um prazo não inferior a 15 dias, este extrato foi submetido à destilação fracionada sob pressão reduzida em rota-vapor, desprezando-se a porção alcoólica, com rehidratação asséptica, reestabelecendo-se as concentrações iniciais do extrato vegetal. (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, *op. cit.*).

A tintura foi a forma de extração mais adequada para os cambitos, já que estes não foram processados na hora da colheita e por terem sido desidratados posteriormente. Os cambitos foram triturados e secos naturalmente, sendo colocados em contato com álcool etílico hidratado assepticamente a 70° GL. Em um prazo não inferior a 15 dias, essa maceração recebeu o mesmo tratamento da alcoolatura para retirada do álcool e rehidratação (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, *op. cit.*).

Fez-se o controle da esterilidade de todos os extratos, retirando-se uma alíquota de 5mL e colocando em tubos com BHI (Brain Heart Infusion, OXOID) sendo incubada a 37°C, por 24 e 48 horas. O resultado foi confirmado por inoculação em placas de Petry com ágar nutriente, verificando-se a presença ou não de microrganismos.

3.3 Inóculos Bacterianos: Preparação e Diluição.

Foram utilizadas para a avaliação da atividade antibacteriana de *I. paraguariensis* amostras padrões de bactérias da *American Type Culture Collection* (ATCC), sendo duas gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923); *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433) e duas gram-negativas: *Samonella* Enteritidis (ATCC 11076); *Escherichia coli* (ATCC 11229). Estas amostras encontram-se armazenadas na bacterioteca do Laboratório de Higiene / ICTA/UFRGS em ágar nutriente (*Nutrient Ágar*, OXOID), sendo reativadas em infusão de cérebro e coração (BHI, OXOID) a 37°C por 18 a 24 horas de incubação, atingindo no mínimo $1,0 \times 10^8$ UFC/mL, para confrontação nos experimentos com os diferentes extratos vegetais, através de diluições seriais logarítmicas, constituindo concentrações bacterianas controladas.

3.4 Linha de Diluição de Inoculo

A diluição do inóculo foi realizada através de linhas de diluições sucessivas com fator logarítmico. Colocou-se 9mL de água destilada estéril em oito tubos de ensaio, e no primeiro tubo (10^{-1} ufc/mL) adicionou-se 1mL de cultura bacteriana aeróbia com 24h, incubada a 37°C , cultivada em caldo simples BHI. Após transferiu-se 1mL do conteúdo do tubo 10^{-1} ufc/mL para o tubo seguinte (10^{-2} ufc/mL), e assim sucessivamente até o tubo 10^{-8} ufc/mL. Para o controle da dose infectante inicial, foi realizada a semeadura de 1mL de todos os inóculos nas diluições de 10^{-7} e 10^{-8} ufc/mL, em placas de Petry com ágar nutriente para contagem de colônias, após 24h de incubação a 37°C . Só foram utilizados os inóculos que apresentassem, no mínimo na diluição $10^{-7} > 10$ ou < 100 ufc/mL, e na diluição $10^{-8} > 1$ ou < 10 ufc/mL, segundo técnica biométrica de Cavalli-Sforza (1974).

3.5 Técnicas

Para avaliação da atividade antibacteriana dos diferentes extratos, que foram interpretados como Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB), foram utilizados os seguintes métodos:

3.5.1 Sistema de tubos múltiplos (Com e Sem desinibidores) para triagem inicial de atividade antibacteriana

Os tubos de ensaio foram dispostos em duas linhas para cada bactéria. Na primeira linha os tubos continham 0,5mL da diluição do inóculo bacteriano, 5mL de meio de cultura BHI duplamente concentrado e 5mL do extrato vegetal. A segunda série de tubos continha os mesmos itens, acrescidos de três desinibidores bacterianos quais sejam lecitina, tween 80 e histidina, respectivamente. Posteriormente, verificou-se o crescimento bacteriano através da presença ou ausência de microrganismos viáveis nas placas de Petry com ágar nutriente sólido. Transferiram-se alíquotas dos tubos às placas através de alça bacteriológica de platina e a leitura foi realizada após 24, 48 e 72 horas de incubação a 37°C . (DVG, 1977; AVANCINI, 1995; AVANCINI, 2002)

3.5.2 Teste de Suspensão Simples para avaliação do tempo de atuação de desinfetantes e anti-sépticos;

Neste teste fez-se a diluição logarítmica dos inóculos, de 10^{-1} a 10^{-8} UFC/mL, que foram inoculadas em tubos contendo 9mL de solução (4,5mL de extrato da planta e 4,5mL de água estéril). Seguiu-se um protocolo de tempos (5, 15, 30 e 60 minutos) para a retirada de alíquotas e a inoculação de cada uma destas diluições em tubos contendo BHI, acrescido dos 3 desinibidores bacterianos já referidos anteriormente (Anexo A). Para a leitura dos resultados, os tubos foram incubados em estufa aeróbia a 37° C por 24, 48 e 72 horas, sendo a interpretação feita pela turvação respectiva (DVG, 1977; AVANCINI, 1995; AVANCINI, 2002)

3.5.3 Teste de Suspensão com presença do Fator Matéria Orgânica e tempo de atuação de desinfetantes e anti-sépticos

Este teste foi organizado do mesmo modo que o de suspensão simples, com a diferença de que os tubos para controle tinham na sua composição matéria orgânica (2,7mL de água destilada estéril, 4,5mL de extrato vegetal 1,8mL de soro bovino inativado) (DVG, 1977; AVANCINI, 1995; AVANCINI, 2002).

Os testes de Suspensão simples e o teste com matéria orgânica foram realizados apenas com as bactérias *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076) e *Enterococcus faecalis* (ATCC), em confronto com o extrato alcoólico das folhas frescas e extrato alcoólico de cambitos secos.

Tabela 1 - IINIB e IINAB foram representados por variáveis ordinais arbitrárias, que assumiram valores de 8 a 0, indicando as diferentes intensidades da atividade antibacteriana, como demonstra tabela a seguir:

8	7	6	5	4	3	2	1	0	Variáveis ordinais de intensidade de atividade
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}		UFC/mL – diluições dos inóculos inibidas ou inativadas
10^7	10^6	10^5	10^4	10^3	10^2	10^1	1	n.a	UFC/mL – doses infectantes inibidas ou inativadas

3.6 Análise estatística

A avaliação matemática dos resultados obtidos nas variáveis de IINIB e IINAB foi verificada através de análise estatística descritiva e análise de variância, com complementação pelo Teste de Tukey.

Capítulo III

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Triagem Inicial de Atividade Antibacteriana pelo Sistema de Tubos Múltiplos (Com e Sem Desinibidores).

Os quatro extratos de *Ilex paraguariensis* estudados apresentaram atividade (inativação e/ou inibição) seletiva sobre os diferentes inóculos bacterianos utilizados. As tabelas a seguir demonstram os resultados obtidos na avaliação destes extratos.

Tabela 2 - Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB), produzidas pelo extrato hidroalcoólico de cambitos de *Ilex paraguariensis*, em três repetições independentes, sobre diferentes inóculos bacterianos, em 72 horas de incubação a 37°C.

Extrato Hidroalcoólico de Cambitos	Microrganismos (inibição/inativação)							
	SE		EF		SA		EC	
	s	c	s	c	s	c	s	c
Teste I	8	8	6	0	2	1	1	0
Teste II	8	7	5	0	3	3	1	0
Teste III	8	5	5	0	2	1	1	0
Média	8	6,67	5,33	0	2,33	1,67	1	0

SE = *Salmonella* Enteritidis

SA = *Staphylococcus aureus*

EF = *Enterococcus faecalis*

EC = *Escherichia coli*

s = sem desinibidor (IINIB)

c = com desinibidor (IINAB)

Na tabela 2 constam os resultados da atividade antibacteriana das três repetições do extrato hidroalcoólico de cambitos frente aos quatro inóculos testados. O teste de Tukey, relativo às bactérias (Anexo D) demonstrou que a *Salmonella* Enteritidis foi o agente mais sensível ao extrato, seguido por *Enterococcus faecalis*, enquanto

Staphylococcus aureus e *Escherichia coli* apresentaram-se mais resistentes ao extrato, não diferindo significativamente entre si ($p = 0,95$).

Para avaliação da Intensidade de Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB), os resultados da análise de variância se alteram, ou seja, na presença dos desinibidores existem diferenças. Podemos observar pela Tabela 2 que, para a bactéria *Enterococcus faecalis*, o uso de desinibidores apresenta diferença, e na análise de variância (Anexo C) demonstrou-se que o uso de desinibidores possui uma diferença muito significativa $p = 0,99$,

Tabela 3 - Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) produzidas pelo extrato alcoólico de folhas de *Ilex paraguariensis*, em três repetições independentes, sobre diferentes inóculos bacterianos, em 72 horas de incubação a 37°C.

Extrato Alcoólico de Folhas	Microrganismos (inibição/inativação)							
	SE		EF		SA		EC	
	s	c	s	c	s	c	s	C
Teste I	8	8	8	5	3	2	3	3
Teste II	8	8	8	5	3	2	4	3
Teste III	8	8	8	5	3	2	3	3
média	8	8	8	5	3	2	3,33	3

SE = *Salmonella* Enteritidis

SA = *Staphylococcus aureus*

EF = *Enterococcus* faecalis

EC = *Escherichia coli*

s = sem desinibidor (IINIB)

c = com desinibidor (IINAB)

A tabela 3 apresenta as três repetições dos testes realizados com o extrato alcoólico de folhas. Verificou-se total sensibilidade de *Salmonella* Enteritidis, tanto na presença como na ausência de desinibidores, demonstrando diferença significativa em relação ao *Enterococcus faecalis*, enquanto *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* apresentaram-se mais resistentes ao extrato, não diferindo significativamente entre si $p = 0,95$.

Nesses mesmos testes observa-se que para *Enterococcus faecalis* existe uma diferença significativa com o uso de desinibidores, mostrando que na presença destes há uma diminuição da inibição e isso demonstra a viabilidade bacteriana, provando a relevância significativa do uso de desinibidores nos testes para controle de eficácia de desinfetantes.

Tabela 4 - Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) produzidas pelo decocto de cambitos de *Ilex paraguariensis*, em três repetições independentes, sobre diferentes inóculos bacterianos, em 72 horas de incubação a 37°C.

Decocto Cambitos	Microrganismos (inibição/inativação)							
	SE		EF		SA		EC	
	s	c	s	c	s	c	s	c
Teste I	1	0	1	0	0	0	1	0
Teste II	1	0	1	0	0	0	1	0
Teste III	1	0	1	0	0	0	1	0
Média	1	0	1	0	0	0	1	0

SE = *Salmonella* Enteritidis

SA = *Staphylococcus aureus*

EF = *Enterococcus faecalis*

EC = *Escherichia coli*

s = sem desinibidor (IINIB)

c = com desinibidor (IINAB)

Na análise estatística dos resultados do decocto de cambitos, demonstrados na Tabela 4, verificou-se na avaliação da Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) que as bactérias apresentaram baixa sensibilidade frente ao decocto dos cambitos.

Tabela 5 - Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) produzidas pelo decocto de folhas de *Ilex paraguariensis*, em três repetições independentes, sobre diferentes inóculos bacterianos, em 72 horas de incubação a 37°C

Decocto Folhas	Microrganismos (inibição/inativação)							
	SE		EF		SA		EC	
	s	c	s	c	s	c	s	c
Teste I	1	0	3	2	1	0	1	1
Teste II	1	0	1	0	1	0	1	1
Teste III	1	0	4	2	1	0	1	1
Média	1	0	2,33	1,33	1	0	1	1

SE = *Salmonella* Enteritidis **SA** = *Staphylococcus aureus*
EF = *Enterococcus faecalis* **EC** = *Escherichia coli*
s = sem desinibidor (IINIB) **c** = com desinibidor (IINAB)

A Tabela 5 apresenta as três repetições dos testes realizados com o decocto de folhas, refletindo praticamente o mesmo resultado apresentado pelo decocto de cambitos.

Como ficou evidenciado pela análise de variância (Anexo C) e teste de Tukey (Anexo D), o método de extração dos princípios ativos da planta tem uma diferença muito significativa $p = 0,99$. Essa diferença entre as formas de extração pode ser explicada pela existência de alguns compostos fitoquímicos da erva-mate que são voláteis, os quais, possivelmente, estejam ligados ao processo de controle bacteriano (KUBO; MUROI; HIMEJIMA, 1993).

Frente aos resultados dos testes de avaliação Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB) nessa primeira etapa do experimento, pode-se afirmar que os extratos alcoólico de folhas e hidroalcoólico de cambitos apresentaram melhores resultados que os respectivos decoctos.

4.2 Os Fatores Tempo de Exposição e Matéria Orgânica

Confirmado que os extratos alcoólicos de folhas e hidroalcoólicos de cambitos tiveram melhor resultado frente à *Salmonella* Enteritidis e *Enterococcus faecalis*, estes foram submetidos ao teste de suspensão com presença de matéria orgânica (soro bovino inativado), observando-se diferentes tempos de exposição.

Tabela 6 - Comparação de resultados entre os métodos de extração (Alcoolatura de folhas e hidroalcoolatura de cambitos) com diferentes tempos de exposição, na presença e ausência de matéria orgânica para *Enterococcus faecalis*.

		5 min.		15 min.		30 min.		60 min.		SOMA		TOTAL
		A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	
AF	Σx	6	2	6	2	6	4	6	4	24	12	36
	Σx^2	18	2	18	2	18	8	18	8	72	20	92
	X	3	1	3	1	3	2	3	2	3	1,5	2,25
	N	2	2	2	2	2	2	2	2	8	8	16
HC	Σx	2	2	2	2	4	4	4	4	12	12	24
	Σx^2	2	2	2	2	8	8	8	8	20	20	40
	X	1	1	1	1	2	2	2	2	1,5	1,5	1,5
	N	2	2	2	2	2	2	2	2	8	8	16
SOMA	Σx	8	4	8	4	10	8	10	8	36	24	60
	Σx^2	20	4	20	4	26	16	26	16	92	40	132
	X	2	1	2	1	2,5	2	2,5	2	2,25	1,5	1,875
	N	4	4	4	4	4	4	4	4	16	16	32

AF = Alcoolatura de folhas

HC = Hidroalcolatura de Cambitos

Σx = somatório **Σx^2** = somatória ao quadrado **X** = média **N** = número de repetições

A = ausência de matéria orgânica

P = Presença de matéria orgânica

A partir dos resultados apresentados na Tabela 6 pode-se avaliar, através da análise de variância (Anexo F), que os diferentes tempos de exposição da bactéria *Enterococcus faecalis* frente ao desinfetante provocaram uma diferença muito significativa entre si ($p = 0,99$), sendo esses resultados confirmados pelo teste de Tukey (Anexo G), o que demonstrou que entre os tratamentos 5 e 15 minutos e entre 30 a 60 minutos não houve diferença significativa. Existe, porém, uma diferença significativa entre esses dois primeiros (5 e 15 minutos) e os dois últimos períodos de tempo (30 e 60

minutos). A análise de variância também confirmou que na presença de matéria orgânica há uma diferença muito significativa ($p = 0,99$) entre os resultados.

A forma de extração que apresentou melhor ação antibacteriana foi a alcoolatura de folhas apresentando diferença significativa quando comparada com hidroalcoolatura de cambitos.

Tabela 7 - Comparação de resultados entre os métodos de extração (alcoolatura de folhas e hidroalcoolatura de cambitos) com diferentes tempos de exposição, na presença e ausência de matéria orgânica para *Salmonella* Enteritidis.

		5 min.		15 min.		30 min.		60 min.		SOMA		TOTAL
		A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	
AF	Σx	2	2	2	4	4	6	4	6	12	18	30
	Σx^2	2	2	2	8	8	18	8	18	20	46	66
	X	1	1	1	2	2	3	2	3	1,5	2,25	1,875
	N	2	2	2	2	2	2	2	2	2	8	8
HC	Σx	2	2	2	4	2	6	4	6	10	18	28
	Σx^2	2	2	2	8	2	18	8	18	14	46	60
	X	1	1	1	2	1	3	2	3	1,25	2,25	1,75
	N	2	2	2	2	2	2	2	2	2	8	8
SOMA	Σx	4	4	4	8	6	12	8	12	22	36	58
	Σx^2	4	4	4	16	10	36	16	36	34	92	126
	X	1	1	1	2	1,5	3	2	3	1,38	2,25	1,813
	N	4	4	4	4	4	4	4	4	4	16	16

AF = Alcoolatura de folhas

HC = Hidroalcoolatura de Cambitos

Σx = somatório **Σx^2** = somatório ao quadrado **X** = média **N** = número de repetições

A = ausência de matéria orgânica

P = Presença de matéria orgânica

Na Tabela 7 temos os resultados de *Salmonella* Enteritidis quanto ao tempo de exposição e podemos afirmar, através da análise de variância (Anexo H), que existe

uma diferença muito significativa entre eles ($p = 0,99$). Para saber onde está a diferença usou-se o teste de Tukey (Anexo I), apresentando o seguinte resultado: entre 60 e 30 minutos não há diferença entre eles, mas 15 minutos difere de 5 minutos que difere, por sua vez, de 60 e 30 minutos.

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

- A técnica de sistemas de tubos múltiplos (com e sem desinibidores) provou ser satisfatória para a avaliação dos extratos testados, permitindo quantificar as concentrações e tipo de ações (bacteriostasia e bacteriocidia) dos inóculos testados, podendo-se determinar em qual momento temos o risco de resultado falso negativo. A técnica funcionou como um “screening” para indicar qual o agente bacteriano mais sensível, qual a forma de extração mais eficaz e qual parte da planta possui melhor controle sobre as bactérias.
- A forma de extração teve muita importância para verificar que a planta possui ação diferenciada, conforme a fórmula farmacêutica utilizada no preparo. O decocto demonstrou baixíssima capacidade de controlar o crescimento bacteriano, ficando para a alcoolatura de folhas o resultado mais significativo frente a *Salmonella* Enteritidis.
- O tempo de contato do desinfetante sobre a bactéria pode nos dar uma indicação para qual tipo de função ele pode ser utilizado, já que os estudos demonstraram que os tempos mais prolongados (30 e 60 minutos) tiveram um maior controle no crescimento bacteriano.
- O fator matéria orgânica também interferiu significativamente nos resultados favorecendo a viabilidade bacteriana
- Os cambitos que inicialmente foram alvo de interesse maior quando da realização deste trabalho, por serem uma grande fonte de biomassa desprezada no cultivo da erva-mate, não corresponderam plenamente às expectativas quanto à sua qualificação como fonte de antibacterianos potenciais e como fatores de proteção utilizáveis em saúde e em produção animal.
- As observações, até o momento, permitem uma reflexão sobre a potencialidade do uso desses recursos naturais, integrando os conhecimentos de fitoquímica farmacognosia, pesquisa de sistemas antimicrobianos entre outros, com os objetivos e as técnicas preconizadas pela agroecologia. A pesquisa com esse enfoque envolve uma complexidade de atuação, que não permite restrição do conhecimento somente dentro de uma ciência, muito menos excluindo a integração e a participação plena do agricultor como sujeito da produção, da aplicação e do usufruto do conhecimento produzido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. 3.ed. Washington, D.C.: Pan American Health Organization, 2003. 1v.

ALIKARIDIS, F. Natural constituents of *Ilex* species. **Journal of Ethnopharmacology**. London. v.20. n. 2. p.121-141. jul. 1987.
Disponível em < <http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em 16 ago. 2005.

ALMEIDA, J.A.; NAVARRO, Z. **Reconstruindo a agricultura: idéias e ideais na perspectiva de um desenvolvimento rural sustentável**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1997. 323p.

ALTIERI, M. **Agroecologia: a dinâmica produtiva da agricultura sustentável**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998. 110p

ALTIERI, M.A.; NICHOLLS, C.I. Agroecologia: resgatando a agricultura orgânica a partir de um modelo industrial de produção e distribuição. **Ciência e Ambiente**, Porto Alegre, v.27, p.141-152, jul. 2005.
Disponível em:<<http://www.agraeco.org/brasil>> Acesso em: 26 out. 2005.

AMOROZO, M.C.M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v.16, n.2, p.189-203, 2002. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em 11 set. 2005.

ANESINI, C.; PEREZ, C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Buenos Aires, v.39, p.119-128, 1993. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em 21 abr. 2004.

ATAYDE, J.C.D. Desinfecção e desinfetantes. In: GUERREIRO, M.; OLIVEIRA, S.J; SARAIVA, D. *et al.* **Bacteriologia especial: com interesse em saúde pública e saúde animal**. Porto Alegre: Sulina, 1984. 492 p.

ATHAYDE, M.L. **Metilxantinas em quatro populações de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil.**; triterpenos e saponinas em outras espécies do gênero *illex*. 2000. 232f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêutica)-Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

AURVALLE, A.E. Criação de animais. In: PINHEIRO, S.; AURVALLE, A.; GUAZZELLI, M. J. **Agropecuária sem veneno**. Porto Alegre: L&PM Editores, 1985, cap. 3. 97-128p.

AVANCINI, C. A. M. **Desinfecção em saúde e produção animal: bacteriostasia e bacteriocidia de *Bacharis trimera* (Less) D. C. – Compositae – (carqueja) frente a microrganismos entéricos e cutâneos**. 1995. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinária)-Faculdade de

Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1995.

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. 309f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

BACKES, P.; IRGANG, B. **Árvores do Sul: guia de identificação & interesse ecológico.** Santa Cruz; Instituto Souza Cruz, 2002. 326p.

BELTRÃO, L.; HOEFLISCH, V.A.; TARASCONI, L.C. GUARANHA, J.M.R. **Estudo da cadeia produtiva da erva mate: Estado do Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: Fepagro, 1998. 52p.

BEDIN, C. **Atividade antibacteriana *in vitro* do decocto de *Origanum applii* (Domim.) Boros Labiatae (orégano) sobre agentes de interesse em alimentos.** 1998. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.

BIAZIN, M. A. **Cultivo de Erva Mate na Pequena Propriedade Rural.** 2003. 42f. Monografia (Especialização em Agronegócio)-Faculdade de Administração, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

BUNSE, H A.W.. Notas Linguístico-Etnográficas Sobre a Erva Mate no Rio Grande do Sul. **Organon.** Porto Alegre 1960 v 4, p.59 – 75.

CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A. **Agroecologia e desenvolvimento rural sustentável: perspectivas para uma nova extensão rural.** Porto Alegre: EMATER/RS, 2001. 36f. (textos selecionados, 22).

CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A. **Agroecologia e extensão rural: contribuições para a promoção do desenvolvimento rural sustentável.** Brasília distrito Federal. Ministério de Desenvolvimento Agrário (MDA), 2004. 166p.

CAPRA, F. **O ponto de mutação.** 22.ed. São Paulo: Pensamento Cultrix, 1982. 447p.

CARVALHO, H. H. C. **Avaliação da atividade antibacteriana de plantas com indicativo etnográfico condimentar.** 2004. 200f.: Tese (Doutorado em Ciências Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

CAVALLI-SFORZA, L. **Biometrie .grundzüge biologisch-medizinische statistik.** Stuttgart: Gustav Fisher V. 1974. p.201–204.

CELOTTO, A.C.; NAZRIO, D.Z.; SPESSOTO, M.A.; MARTINS, C.H.G.; CUNHA, W.R. Evaluation of the *in vitro* antimicrobial activity of crude extracts of three *Miconia* species. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo. v.34. n.4 p.339-340. oct./dec. 2003. Disponível em <<http://www.scielo.br/scielo>> acesso em 18 out. 2005.

CHEMELO, E.; CAIO, M.; PANDOLFO, F. G. **A Erva Mate (*Ilex Paraguayensis*)**

Universidade de Caxias do Sul, 2001. Disponível em:

<http://www.ucs.br/ccet/defq/naeq/material_didatico/textos_interativos_19.htm> . Acesso em 23 de julho de 2004.

COELHO, G.C. **Teores de metilxantinas e saponinas e morfologia foliar de erva mate (*Ilex Paraguayensis* A. St. Hil.) sob a influência de diferentes fatores ambientais e em diferentes variedades e populações**. 2002. 399f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêutica)-Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

CUNHA, A.P. **Aspectos históricos sobre plantas medicinais**, seus constituintes ativos e fitoterapia. 2003.

Disponível em: http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/aspectos_historicos.pdf
Acesso em 04 out. 2005.

D'AZEVEDO, P.A.; DIAS, C.A.G.; LEMOS, S.K. *et al.*. Antimicrobial susceptibility among enterococcus isolates from the city of Porto Alegre, RS, Brazil. **Brazil Journal Microbiology**, Porto Alegre, v.35, n.3 p.199-204, jul./set. 2004. Disponível em < <http://www.scielo.br>> Acesso em 15 nov. 2005.

DGHM (Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie/Sociedade Alemã de Higiene e Microbiologia) Richtlinien für die prüfung chemischer desinfektionsmitte (Normas para a testagem de desinfetantes químicos). In: BORNEFF, J. (**Zentralblatt für Bakteriologie und Hygiene, I. Abteilung, Originale B**) Stuttgart: G.Thieme Verlag, 1977, v. 164, p.397– 411.

DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: arte e ciência: um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: Editora da Universidade Estadual de São Paulo, 1996. 230p.

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. Giessen, 1980. In: SCHLIESSER, Th.; Strauch, D. **Desinfektion in tierhaltung, fleisch- und milchwirtschaft / Desinfecção na produção animal, em laticínios e em frigoríficos**. Stuttgart: Enke Verlag, 1981. 455p.

ESCOSTEGUY, Ângela. **Criação ecológica de Animais: Alternativas ao confinamento planeta orgânico**. 2000.

Disponível em:< <http://www.planetaorganico.com.br/trabescot.htm> >. Acesso em: 03 out. 2005.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C.A.F.. Infecções intramamárias causada por *Staphylococcus aureus* e sua implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n4, p.1315-1320, jul./ago. 2004. Disponível em < <http://www.scielo.br>> Acesso em 15 nov. 2005.

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

FERRAZ, H.M. **Situação da atividade ervateira no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, emater/rs, 1995.50p. (Série realidade rural, n.19).

FILIP, R.; LOPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J. Phenolic compounds in seven south American *Ilex* species. **Fitoterapia**, Buenos Aires, v. 72, n 4, p. 774-778, jun. 2001.Disponível em:< <http://www.sciencedirect.com>>. Acesse em 16 nov. 2004.

FORATINI, O.P. **Ecologia Epidemiologia e Sociedade**. São Paulo: Artes Médicas Editora da Universidade de São Paulo, 1992. 241p.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu,1996. 182p..

Gliessman. Stephen R. Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável. Porto Alegre Editora da universidade UFRGS,2000. p. 33-59.

GÓMEZ, W.H. Desenvolvimento sustentável, agricultura e capitalismo. In BECKER, D. F. **Desenvolvimento sustentável: necessidade e/ou possibilidade?** Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 1997. p.99-120.

GONÇALVES, A.R.; **Fitodesinfecção aplicada a águas na prespectiva da agricultura familiar**. 2005. 130f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias)-faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2004.

GÖRGEN, S. A. **Os novos desafios da agricultura camponesa**. Porto Alegre 2004, 87p.

GUERREIRO, M.G. *Staphylococcus* In: GUERREIRO, M.G.; OLIVEIRA, S.J; SARAIVA, D. *et al.* **Bacteriologia especial: com interesse em saúde pública e saúde animal**. Porto Alegre: Sulina, 1984. p.135-144.

GUTKOSKI, S. B. **Atividade antibacteriana in vitro do decocto de *Casearia sylvestris* Swartz Flaflacautiace (chá-de-bugre, guaçatonga) sobre agentes de interesse em saúde animal e saúde coletiva**. 1999. 83f. Dissertação (Mestrado

em ciências Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária.Universidade Federal do rio grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

HOBBS, B. C.; ROBERTS, D. **Toxinfecções e controle higiénico-sanitário de alimentos**. São Paulo Livraria Varela, 1993. 377p.

KUBO, I.; MUROI, H.; HIMEJIMA, M. Antibacterial Activity against streptococcus mutans of mate tea flavor components. **Journal Agricultural Food Chemicals**. Berkley v.41, n.1. p.107-111, 1993. Disponível em <<http://www.pubs.acs.org/journals/jafcau/index.html>>. Acesso 14 abr. 2005.

LESSA, B.. **História do chimarrão**. 2.ed. Porto Alegre: Sulina, 1949. 120p.

LINHARES, T. **História econômica do mate**. Rio de Janeiro: José Olympio Editora, 1969. 522p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 2.ed. São Paulo: Nova Odessa Plantarum, 2000. 352p. 1v.

MING, L.G. Coleta de Plantas Mediciniais. In DI STASI, L.C. **Plantas medicinais arte e ciência: um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: Editora da Universidade do Estado de São Paulo, 1996. p.69-86.

OLIVEIRA, D.D.; SILVA,E.N. Salmonela em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.52, n.6, dez. 2004. Disponível em:<<http://www.scielo.br>>. Acesso em 30 out. 2005.

OLIVEIRA, R. G. **Avaliação “in vivo” da ação anti-helmíntica de plantas consideradas medicinais como recurso potencial no controle de endoparasitos gastrintestinais de ovinos** 2003. 153f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

OMS (Organizacion Mundial de la salud). **Alma-Ata 1978: Atención Primária de Salud**. Genebra. OMS, série Saúde para todos, n1. 1978. 3-4p.

PASINATO, R. **Aspectos etnoentomológicos, socioeconômicos e ecológicos relacionados à cultura da erva mate (*ilex paraguariensis*) no município de Salto do Lontra, Paraná, Brasil**. 2003. 112f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

PAULA, F.; LOCKS, M.; BELTRÃO, M.; AMARAL, M.; Estudo preliminar etnobotânico de plantas de uso medicinal na região arqueológica de Central –

Bahia, Brasil. In: **Jornada Paulista de Plantas Mediciniais**, n.5. 2002. São Paulo.

Disponível em <<http://www.naya.org.ar/congresso2002/ponencias/marthalocks.htm>> Acesso em 21 out. 2005.

PELCZAR, M.J.Jr.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2.ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 1997. 517p. 2 v.

PITA, M.S. tendência atual del estreptococo como indicador de contaminación fecal. **Revista Cubana de Higiene y Epidemiologia**. Havana. v.40 n.138-43p. jan/ abr.2002.

Disponível em <<http://www.scielo.sld.cu/scielo.php?>> Acesso em 10 out. 2005.

RATES, S.M.K. Metilxantinas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G. MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004, cap 34. p.885-901.

RAY, P.G. Antimicrobial Activity of Some Indian Plants. *Economic Botany*. Calcutá v.30, n.3. p.317-320,1997. Disponível em:<<http://www.vnweb.hwwilsonweb.com/hww>>. Acesso em 30 out. 2004.

RICO, R.A.; WAGNER, M.L.; GURNIA,A.A. Estúdio comparativo de flavonóides em espécies austrosudamericanas de genero *Ilex*. In WINGE, H.; FERREIRA, A.G.; MARIATH, J.E.A.; TARASCONI, L.C. **Erva-mate: biologia e cultura no cone sul**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995, cap.22. p.243-249.

ROITMAM, I.; TRAVASSOS, L.R.; AZEVEDO, J.L. **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Malone, 1987.126p v.2

SCHÜLER, E. F., **Fitoterapia: a terapêutica natural**. 2.ed. Porto alegre: Palotti 1990.129p.

SILVA, E. N.; DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em aves: Retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v 4 n. 2. 85-100p. maio de 2002. Disponível em:<<http://www.scielo.br>>. acesso em 30 out. 2005.

SILVA, J.G. **Tecnologia e agricultura familiar**. Porto Alegre Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1999. 238p.

SIMIONATTO, S.; VAZ, E.K.; MICHELOM, A.; SEIXAS, F.K.; DELAGOSTIM, O.A. Desenvolvimento e avaliação de novas estratégias de imunização contra colibacilose suína. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de

Janeiro, v.25, n.2, p.84-90, jun 2005. Disponível em:<<http://www.scielo.br>>. Acesso em 30 out. 2005

SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 2.ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1988. 173p.

SOUZA, A. **Aspectos etnobiológicos e avaliação da Atividade antibacteriana de *Aloysia gratissima* (Gill e hook) Tronc. Verbenaceae (“garupa”, “erva Santa”) Sobre Agentes de Importância em Saúde e Produção Animal**. 2005. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2005.

SOUZA, C. A. S.. **Aspectos etnobiológicos e atividade antibacteriana *in vitro* da *Tagetes minuta* L. - Compositae (chinchilho)**.1998. 119f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Porto Alegre, 1998.

SOUZA, J. L. **Os Hábitos de Consumo de Erva Mate no Município de Erechim**. 2003. 91f. Dissertação (Mestrado em Agronegócio)-Faculdade de Administração, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 2003.

TORTORA, G. J., FUNKE, B. R., CASE, C. L. **Microbiologia**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 830p.

TRABULSI; L.R.;ALTERTHUM, F. **Microbiologia**, 4.ed. São Paulo: Atheneu 2004. 718p.

VIEGI, L. PIERONI, A.; GUARRERA, P.M.; VANGELISTI, R. A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. **Journal of Ethnofarmacology**. Rome. v.89 n.2. p.221-244. jun. 2003. Disponível em <<http://www.elsevier.com/locate/jethpharm>> Acesso 15 out. 2005.

WIEST, J.M. Desinfecção e desinfetantes. In: GUERREIRO, M.; OLIVEIRA, S.J; SARAIVA, D. *et al.* **Bacteriologia especial: com interesse em saúde pública e saúde animal**. Porto Alegre: Sulina, 1984, cap. 5. p.51-66.

WIEST, J.M. Zoonoses. In: GUERREIRO, M. OLIVEIRA, S.J; SARAIVA, D. *et al.* **Bacteriologia especial: com interesse em saúde pública e saúde animal**. Porto Alegre: Sulina, 1984, cap. 8. p.117-120.

WIEST, J.M.; FENSTERSEIFER, L.M. considerações sobre o processo de desinfecção. **Arquivos da faculdade de Veterinária da UFGRS**. Porto Alegre, v. 13, p. 75-79, dez. 1985.

ZANELLA, A.J. A criação animal sob o aspecto ético. In: ALMEIDA, J.A.; NAVARRO, Z. **Reconstruindo a agricultura: idéias e ideais na perspectiva de um desenvolvimento rural sustentável**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998. cap.5. p.289-305.

ANEXOS

ANEXO A

TABELA DE APLICAÇÃO DE TEMPO DE EXPOSIÇÃO NO TESTE DE SUSPENSÃO (DVG, 1977, adaptado por Avancini, 1995, 2002)

10^{-1}	10^{-1} UFC/mL	9h 00 min.	9h 05 min.	T 5 min.
			9h 15 min.	T 15 min.
			9h 30 min.	T 30 min.
			10h 00 min.	T 60 min.
10^{-2}	10^{-2} UFC/mL	9h 10 min.	9h 15 min.	T 5 min.
			9h 25 min.	T 15 min.
			9h 40 min.	T 30 min.
			10h 10 min.	T 60 min.
10^{-3}	10^{-3} UFC/mL	9h 20 min.	9h 25 min.	T 5 min.
			9h 35 min.	T 15 min.
			9h 50 min.	T 30 min.
			10h 20 min.	T 60 min.
10^{-4}	10^{-4} UFC/mL	9h 30 min.	9h 35 min.	T 5 min.
			9h 45 min.	T 15 min.
			10h 00 min.	T 30 min.
			10h 30 min.	T 60 min.
10^{-5}	10^{-5} UFC/mL	9h 40 min.	9h 45 min.	T 5 min.
			9h 55 min.	T 15 min.
			10h 10 min.	T 30 min.
			10h 40 min.	T 60 min.
10^{-6}	10^{-6} UFC/mL	9h 50 min.	9h 55 min.	T 5 min.
			10h 05 min.	T 15 min.

			10h 20 min.	T 30 min.
			10h 50 min.	T 60 min.
10^{-7}	10^{-7} UFC/mL	10h 00 min.	10h 05 min.	T 5 min.
			10h 15 min.	T 15 min.
			10h 30 min.	T 30 min.
			11h 00 min.	T 60 min.
10^{-8}	10^{-8} UFC/mL	10h 10 min	10h 15 min.	T 5 min.
			10h 25 min.	T 15 min.
			10h 40 min.	T 30 min.
			11h 10 min.	T 60 min.

ANEXO B

Comparação de resultados entre os métodos de extração e bactérias, na presença e ausência de desinfetador.

	SE		EF		SA		EC		SOMA		TOTAL
	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	
HC											
Σx	24	20	16	0	7	5	1	0	48	25	73
Σx^2	192	138	86	0	17	11	3	0	298	149	447
\bar{X}	8,00	6,67	5,33	0,00	2,33	1,67	1,00	0,00	4,00	2,08	3,04
N	3	3	3	3	3	3	3	3	12	12	24
AF											
Σx	24	24	24	15	9	6	10	9	67	54	121
Σx^2	192	192	192	75	27	12	34	27	445	306	751
\bar{X}	8,00	8,00	8,00	5,00	3,00	2,00	3,33	3,00	5,58	4,50	5,04
N	3	3	3	3	3	3	3	3	12	12	24
DF											
Σx	3	0	7	4	3	0	3	3	16	7	23
Σx^2	3	0	19	8	3	0	3	3	28	11	39
\bar{X}	1,00	0,00	2,33	1,33	1,00	0,00	1,00	1,00	1,33	0,58	0,96
N	3	3	3	3	3	3	3	3	12	12	24
DC											
Σx	3	0	3	0	0	0	3	0	9	0	9
Σx^2	3	0	3	0	0	0	3	0	9	0	9
\bar{X}	1,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,75	0,00	0,38
N	3	3	3	3	3	3	3	3	12	12	24
Soma											
Σx	54	44	50	19	19	11	17	12	140	86	226
Σx^2	390	330	300	83	47	23	43	30	780	466	1246
\bar{X}	4,50	3,67	4,17	1,58	1,58	0,92	1,42	1,00	2,92	1,79	2,35
N	12	12	12	12	12	12	12	12	48	48	96

ANEXO C

Comparação de resultados entre os métodos de extração e bactérias, na presença e ausência de desinibidores.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Fontes de Variação	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Quadrado médio	F
Desinibidores	1	30,38	30,38	12,20**
Bactérias	3	139,04	46,35	18,61**
Método de extração	3	325,46	108,49	44,10**
Resíduo	88	219,08	2,49	
Total	95	713,96		

** = muito significativo (p = 0,99)

ANEXO D

Comparação de resultados entre os métodos de extração e bactérias, na presença e ausência de desinibidores.

TESTE DE TUKEY PARA BACTÉRIAS

Tratamentos	Médias
<i>S. Enteritidis</i>	4,08 (A)
<i>E. faecalis</i>	2,88 (B)
<i>S. Aureus</i>	1,25 (C)*
<i>E. coli</i>	1,21 (C)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p = 0,95$)

ANEXO E

Comparação de resultados entre os métodos de extração e bactérias, na presença e ausência de desinibidores.

TESTE DE TUKEY PARA MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Tratamentos	Médias
Alcoolatura folhas	5,04 (A)
Tintura cambitos	3,00 (B)
Decocto folhas	0,96 (C)*
Decocto cambitos	0,36 (C)

*** Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)**

ANEXO F

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ILEX PARAGUARIENSIS PARA *Enterococcus faecalis*

Comparação de resultados entre os métodos de extração (Alcoolatura de folhas e tintura de cambitos) com diferentes tempos de contato, na presença e na ausência de matéria orgânica

Fontes de variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempo	3	4,50	1,50	6,49**
Método de extração	1	4,50	4,50	19,48**
Matéria Orgânica	1	4,50	4,50	19,48**
Resíduo	26	6,00	0,231	
Total	31	19,50		

** = muito significativo (p = 0,99)

Média do método de extração

A F	2,25
T C	1,50

Média de matéria orgânica

Presente	1,50
Ausente	2,25

ANEXO G

TESTE DE TUKEY

Enterococcus faecalis

Tempo de contato (minutos)	Médias
60	2,25(A)*
30	2,25 (A)
15	1,50 (B)
5	1,50 (B)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO H

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ILEX PARAGUARIENSIS PARA *Salmonella* Enteritidis

Comparação de resultados entre os métodos de extração (Alcoolatura de folhas e tintura de cambitos) com diferentes tempos de contato, na presença e na ausência de matéria orgânica

Fontes de variação	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F
Tempo	3	11,375	3,792	30,37**
Método de extração	1	6,125	6,125	49,00**
Matéria Orgânica	1	0,125	0,125	1,00(NS)
Resíduo	26	3,250	0,125	
Total	31	20,875		

** = muito significativo (p = 0,99)

NS = não significativo (p= 0,95)

Média do método de extração

A F 1,875

T C 1,750

ANEXO I

TESTE DE TUKEY

Salmonella Enteritidis

Tempo de contato (minutos)	Médias
60	2,50 (A)*
30	2,25 (A)
15	1,50 (B)
5	1,00 (C)

* Médias indicadas pela mesma letra não diferem significativamente entre si (p = 0,95)

ANEXO J

Trabalho apresentado como pôster e publicado nos anais do III CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA e III SEMINÁRIO ESTADUAL DE AGROECOLOGIA, que teve como tema “A sociedade Construindo Conhecimento para a Vida”. Este realizou-se na data de 17 a 20 de Outubro de 2005 em Florianópolis Santa Catarina.

Ilex paraguariensis St.Hill (ERVA MATE) AQUIFOLIACEAE, INSUMO
ANTIMICROBIANO COMO RECURSO NATURAL RENOVÁVEL:
ALTERNATIVA APLICADA À AGRICULTURA FAMILIAR.

Ilex paraguariensis St.Hill (MATE HERB) AQUIFOLIACEAE,
ANTIMICROBIAN INSUME AS RENEWABLE NATURAL RESOURCE:
APPLIED ALTERNATIVE TO THE FAMILY AGRICULTURE.

Giovani Girolometto; Cesar Augusto Marchionatti Avancini; José Maria Wiest.¹

RESUMO

A relevância da produção de *Ilex paraguariensis* St.Hill (“erva mate”) em agricultura familiar sugeriu a realização deste trabalho, enfocando a possibilidade do uso de seus diferentes extratos como desinfetante natural. Buscou-se identificar e comparar a atividade antibacteriana dos extratos alcoólicos, hidroalcoólicos e decoctos das folhas e galhos da erva mate frente a quatro bactérias de importância em ambientes de saúde e produção animal. Para isso, usou-se a Técnica do Sistema de Tubos Múltiplos, confrontando os extratos vegetais com 8 diluições seriais logarítmicas dos inóculos bacterianos. Observou-se que as partes da planta têm efeito diferenciado na inativação e/ou inibição seletivas sobre os inóculos bacterianos, sendo que ao extrato das folhas corresponderam os melhores resultados. Dentre as bactérias, *Salmonella Enteritidis*

¹ Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul Brasil. Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil. Avenida Bento Gonçalves, 9500 – prédio 43212 - Campus do Vale – Bairro Agronomia CEP: 91540-000 telefone 51 33167107 FAX 33167048 giovanigiro@gmail.com

demonstrou maior sensibilidade a todos os extratos enquanto *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* a maior resistência.

PALAVRAS CHAVES *Ilex paraguariensis*, atividade antibacteriana, recursos naturais renováveis

ABSTRACT

The relevant production of *Ilex paraguariensis* in family agriculture suggested the accomplishment of this work, focusing the possibility of its use as natural disinfectant. It was looked for to identify and to compare the antibacterial activity of the alcoholic and hydro-alcoholic extracts, and decoctions of the leaves and branches of the *mate herb*, confronted to four bacteria of high importance in health and animal production atmospheres. For that was used the Multiple Tubes System Technique, confronting the vegetable extracts with 8 serial logarithmic dilutions of the bacterial inoculums. Was observed that the parts of the plant have different effect in the inactivation and/or selective inhibition on the bacterial inoculums, as the extract of the leaves presented the best results. Among the bacteria, *Salmonella Enteritidis* demonstrated higher sensibility to all of the extracts while *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* the highest resistance.

KEY WORDS: *Ilex paraguariensis*, antibacterial activity, renewable natural resources.

INTRODUÇÃO

O avanço da revolução verde ocasionou uma grande reestruturação da produção no meio rural, trazendo a promessa da alta produtividade e grandes lucros. Com isso muitos agricultores assimilaram essas novas técnicas, muitas vezes, em detrimento das práticas tradicionais. O aumento na concentração animal nos diferentes sistemas de criação, provocou um desequilíbrio no processo, aumentando a transmissibilidade de doenças, fazendo necessário o uso de desinfetantes. Porém, se analisarmos estas substâncias sintéticas, elas trazem na sua formulação uma carga de produtos poluidores, alguns com alto poder residual permanecendo no ambiente por muito tempo. Com o passar dos anos observou-se vários problemas no uso indiscriminado de produtos químicos na agricultura e pecuária. Atualmente por uma pressão da sociedade organizada procura-se recuperar ou criar métodos de produção que respeitem a

sustentabilidade. Nesse paradigma propomos um trabalho que possa trazer novos elementos nessa discussão, prospectando a atividade antibacteriana de erva mate em descartes e folhas de cultivos em sistema de agricultura familiar.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostra Vegetal: Realizou-se a coleta de *Ilex paraguariensis* St. Hill. (“Erva Mate”) no Município de Ilópolis/RS, localizado no Vale do Taquari. A coleta foi realizada junto a propriedades de agricultura familiar, em cultivos convencionais de Erva Mate.

Extratos Vegetais: folhas recém colhidas da planta em estudo e foram trituradas grosseiramente e colocadas em álcool etílico, à 96° GL; os galhos foram triturados e secos, então colocados em álcool etílico a 70° GL. Estes extratos foram submetidos à destilação fracionada sob pressão reduzida em rota-vapor, desprezando-se a porção alcoólica, com rehidratação asséptica, restabelecendo-se as concentrações iniciais do extrato vegetal. Para o decocto usou-se as partes de *I. paraguariensis* seca, trituradas e na proporção de 100g da planta para 1000mL de água estéril. Contou-se o tempo de 15 minutos a partir do início da fervura, em fogo brando segundo Farmacopéia Brasileira (1959), reconstituindo asépticamente com água destilada o volume inicial. **Linhagens bacterianas:** foram testadas quatro linhagens padrões internacionais, duas Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923); *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), e duas Gram-negativas: *Salmonella Enteritidis* (ATCC 11076); *Escherichia coli* (ATCC 11229). **Testes de sensibilidade bacteriana** O método para a avaliação da atividade antibacteriana dos extratos vegetais (alcoólicos, hidroalcoólicos e decoctos) foi o de suspensão, recomendado internacionalmente, estabelecido por Chambers (1956) e descrito por Andrade e Macedo (1996) usando-se, na triagem, a versão da técnica modificada por Avancini (1995, 2002) e Avancini *et al.* (2002). Os resultados foram lidos como Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana (IINAB). IINIB e IINAB serão representadas por variáveis ordinais arbitrárias, que assumirão valores de 8 a 0 e que indicam a intensidade da atividade antibacteriana (ou não atividade = n.a) que uma solução testada tem sobre uma dada dose infectante de microrganismo, nas diferentes condições do experimento, ou seja, com e sem desinibidores bacterianos, inativação e inibição, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1. Resultados de IINIB e IINAB obtidos no presente trabalho.

Extrato da planta	Inóculos (inibição e inativação)							
	<i>S. Enterit.</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>	
	IINI	IINA	IINI	IINA	IINI	IINA	IINI	IINA
Extrato alcoólico galhos (70° GL)	8	8	1	0	3	3	6	0
Extrato alcoólico folhas (96° GL)	8	8	3	3	3	2	8	5
Decocto folhas	1	0	1	1	1	0	3	2
Decocto galhos	1	0	1	0	0	0	1	0

IINI = Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana

IINA = Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana

Os resultados do extrato de *I. paraguariensis* indicaram uma maior atividade antibacteriana para *Salmonella* Enteritidis e *Enterococcus faecalis*, bactérias importantes, pois interferem na qualidade dos produtos de origem animal e são zoonoses de risco na alimentação humana. Observou-se que a forma de extração influencia diretamente o comportamento do desinfetante, pois tanto os galhos como as folhas tem uma ação melhor em extrações alcólicas do que em decocto. As observações se ativeram a triagens no princípio de trabalho com droga crua, recomendando a continuidade de estudos para desenvolvimentos de insumos na perspectiva da agroecologia.

LITERATURA CITADA

ANDRADE, N. J. DE; MACÊDO, J. A. B. DE. **Higienização na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela. 1996. 182p.

AVANCINI, C. A. M.. **Desinfecção em saúde e produção animal: bacteriostasia e bacteriocidia de *Bacharis trimera* (Less) D. C. – Compositae – (carqueja) frente a microrganismos entéricos e cutâneos**. Porto Alegre: Dissertação de Mestrado. PPGCV/UFRGS, 1995. 100f.

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. Porto Alegre: Tese de Doutorado. PPGCV/UFRGS, 2002. 309f.

CHAMBERS,C.W. A procedure for evaluating the efficiency of bactericidal agents. **Journal of Milk Food Technology**, N.Y., v. 19, n. 17, p. 183 – 187, 1956.

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