EFEITOS INIBITÓRIOS DO EXTRATO DE *Ilex paraguariensis* (ERVA-MATE) SOBRE A BACTÉRIA *Staphylococcus aureus* EM COMPARAÇÃO COM O ANTIBIÓTICO CEFALEXINA

INHIBITORY EFFECTS OF *Ilex paraguariensis* (YERBA MATE) EXTRACT ON THE BACTERIA *Staphylococcus aureus* COMPARED TO THE ANTIBIOTIC CEPHALEXIN

Cecília Eiko Franco Hayashi, Katrin Su Bernhardt, Manoela Schulz da Rosa, José Eduardo Pandini Cardoso Filho (orientador)

Ensino Médio - Colégio Jean Piaget
E-mail para contato: monikasbkatrin@gmail.com

RESUMO – O presente trabalho investiga a problemática das infecções bacterianase da resistência aos antibióticos, destacando o papel da Staphylococcus aureus, responsável por graves doenças. Além disso, examina a eficácia da cefalexina e discute suas limitações devido à problemática. Em busca de alternativas, a pesquisa explora o potencial do extrato de erva-mate como tratamento antibacteriano. A erva-mate pode oferecer uma solução eficaz contra infecções bacterianas. O objetivo principal é comparar os efeitos inibitórios da erva-mate com os da cefalexina, visando tratamentos que possam ser usados em combinação com antibióticos convencionais. A metodologia teve como base a extração fracionada e, como resultado, a concentração mostrou-se insuficiente para a obtenção de efeitos significativos.

Palavras-chave: erva-mate; *Staphylococcus aureus*; tratamento alternativo; cefalexina.

ABSTRACT – This study investigates the problem of bacterial infections and antibiotic resistance, highlighting the role of Staphylococcus aureus, responsible for serious diseases. Furthermore, it examines the efficacy of cephalexin and discusses its limitations due to this problem. In search of alternatives, the research explores the potential of yerba mate extract as an antibacterial treatment. Yerba mate may offer an effective solution against bacterial infections. The main objective is to compare the inhibitory effects of yerba mate with those of cephalexin, targeting treatments that can be used in combination with conventional antibiotics. The methodology was based on fractional extraction, and as a result, the concentration proved insufficient to obtain significant effects.

Keywords: yerba mate;*Staphylococcus aureus*; alternative treatment; cephalexin.

1 INTRODUÇÃO

A propagação de bactérias e sua elevada faculdade de causar doenças e infecções compõem uma problemática lógica, partindo do ponto que esses micro-organismos se reproduzem rapidamente e estão presentes no ar, no corpo humano e em incontáveis superfícies. Apesar das condições de higiene e saneamento básico terem aprimorado imensamente nas últimas décadas e do advento dos antibióticos, as infecções bacterianas ainda irrompem como a segunda principal causa de morte no mundo, de acordo com a revista científica The Lancet (2019).

Outrossim, em 2023, a Organização Mundial de Saúde (OMS) alertou o mundo para outra significante ameaça trazida pelas bactérias: o aumento exponencial nos níveis de resistência a antibióticos. Atualmente, segundo a OMS, essa é uma das principais ameaças à saúde. Esse novo problema deriva, majoritariamente, do uso descontrolado de antibióticos, o que, por sua vez, tem suas origens em outro ponto englobado pela problemática das bactérias: a automedicação (intrínseca à banalização do remédio) e os tratamentos empíricos (quando não se busca descobrir especificamente a bactéria causando a doença, aplicando-se um tratamento mais abrangente). Somado a esse cenário, uma pesquisa realizada pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) indica que o número de bactérias resistentes a antibióticos triplicou durante a pandemia do Covid-19, especialmente em ambientes hospitalares (onde pessoas já estão com o sistema imunológico comprometido) (2023).

Frente aos fatos supracitados, entende-se a ascensão da problemática no âmbito da saúde e, consequentemente, de sua relevância de ser estudada com o intuito de encontrar meios alternativos de combater a biota.

A. *Staphylococcus aureus*

Dentro do cenário da problemática das bactérias, emerge a bactéria *Staphylococcus aureus* para delimitar o foco do presente trabalho. Consoante ao Jornal da Universidade de São Paulo (USP), quase todos os óbitos causados por bactérias são ocasionados por somente 33 patógenos e, entre eles, o infectologista e professor da Faculdade de Medicina da USP, Marcos Boulos, aponta a bactéria *Staphylococcus aureus* como estando entre as duas que mais matam (2022). Ela é comumente encontrada no corpo humano, seja no umbigo, na pele ou nas fossas nasais. No entanto, é forte oportunista e pode causar infecções graves, desde problemas de pele,

como síndrome de pele escaldada e síndrome de choque tóxico, até doenças cardiorrespiratórias, como endocardite e pneumonia (BUSH; 2023). Segundo Boulos, a contração de uma dessas bactérias não é difícil, diferentemente de seu tratamento, que é complicado.

Além disso, dentro do problema da resistência à antibióticos, a cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a antibióticos tem se tornado tão comum que recebeu seu próprio nome: SARM (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina) (BUSH; 2023).

B. Doenças causadas pela *Staphylococcus aureus*

A *Staphylococcus aureus* é responsável por uma gama de doenças, não se restringindo somente a um sistema do corpo. No âmbito dermatológico, essa bactéria é causadora da foliculite (infecção da raiz do pelo), abscessos, impetigo e, ainda, necrólise epidérmica tóxica, podendo levar a fatalidades (BUSH; 2023).

A endocardite bacteriana também pode ter como agente causador a *Staphylococcus aureus*. Essa doença caracteriza-se por uma contaminação das estruturas internas do coração por bactérias, acomodando-se em válvulas cardíacas e infeccionando o endocárdio. A doença é de relevância na área da saúde uma vez que suas consequências vão mais adiante do que danos exclusivos ao sistema cardiovascular (BATISTA, 2012).

Além disso, há a pneumonia bacteriana. Ela diz respeito a uma doença respiratória que aflige os pulmões, causando sua inflamação. Ela é causada por bactérias que, em contato com as terminações pulmonares (brônquios), passam a se proliferar exponencialmente. O papel da *Staphylococcus aureus* na proliferação da pneumonia bacteriana é significativo, pois a bactéria é uma das principais causadoras da doença, especialmente em ambientes hospitalares. O *Staphylococcus aureus* pode infectar os pulmões de maneira agressiva, resultando em uma forma grave de pneumonia, muitas vezes caracterizada por abscessos pulmonares e necrose tecidual (BUSH; 2023).

Tendo em vista a importância da bactéria no desenvolvimento de doenças fatais, compreende-se, uma vez mais, a significância do presente trabalho.

C. Cefalexina

A cefalexina é um antibiótico comumente prescrito no tratamento de infecções de pele causadas por *Staphylococcus aureus* e outros agentes patológicos e como prevenção da endocardite. Ela é um antibiótico β-lactâmico, isto é, age na inibição do crescimento da parede celular bacteriana, por isso são os mais utilizados no tratamentos de infecções.

Todavia, consoante Pinheiro (2024), levando em consideração sua composição química semelhante à da família das penicilinas (ambos são β-lactâmicos), a cefalexina pode acarretar em quadros alérgicos àqueles que possuem alergia a esse tipo de antibiótico; além de não ser um tratamento viável contra cepas resistentes à meticilina (SARM). Vale ressaltar que o problema da resistência bacteriana não está atrelado somente à esfera da saúde, mas também da economia, visto que os custos dos sistemas de saúde tendem a aumentar. Com a evolução da antibioticoterapia, as cepas de S. aureus foram tornando-se cada vez mais resistentes devido à produção de b-lactamases. Em 1946, apenas 5% das cepas de S.aureus eram produtoras de b-lactamase, atualmente, relatos de 1990 mostram que 90% das cepas produzem a enzima (FIO; Fernando, 2000, p. 3). Dessa forma, evidencia-se como o cenário de possível resistência da *Staphylococcus aureus* a antibióticos tais quais a cefalexina traz à tona a urgência da desenvoltura de tratamentos e medicamentos alternativos.

D. Extrato de erva-mate

Dentro do contexto supracitado, a procura por tratamentos alternativos com plantas medicinais e fitoterápicos tem sido cada vez mais expressiva, com destaque para as substâncias que possuem potencial antioxidante (CAMPRA; 2017).

Com isso, a erva-mate (*Ilex paraguariensis*) foi escolhida como objeto de estudo para encontrar um meio alternativo de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus*. A erva-mate é conhecida por seu potencial farmacológico, bem como suas características antioxidantes e anti-inflamatórias. Além disso, essa planta possui uma vasta gama de benefícios ao ser humano devido às vitaminas, proteínas, lipídios e sais minerais presentes nas suas folhas (CAMPRA; 2017).

Portanto, espera-se plantar uma semente para uma futura onda de medicamentos alternativos que atuem juntamente com antibióticos tradicionais, inovando, assim, a indústria farmacêutica e, consequentemente, o campo da medicina.

E. Objetivos

Tem-se como objetivo geral comparar os efeitos inibitórios do extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre a bactéria *Staphylococcus aureus* com os efeitos do antibiótico cefalexina, analisando sua ação no impedimento do crescimento da biota bacteriana. Especificamente, procura-se mostrar a eficácia da erva-mate como tratamento alternativo para infecções bacterianas, a fim de minimizar o impacto significativo na saúde pública, especialmente em regiões onde o acesso a medicamentos é limitado ou onde as infecções bacterianas são prevalentes.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para início da pesquisa experimental, foi feito o cultivo das bactérias para que estas sejam utilizadas no plaqueamento. Nessa primeira fase, foi retirada uma placa do meio Ágar Sal Manitol da geladeira, mantida em temperatura ambiente por 15 minutos. Passado esse tempo, foram coletadas amostras de bactérias do umbigo das integrantes do grupo com o uso de swabs estéreis e presença de lamparina. As placas, já com as amostras da biota, foram colocadas na estufa bacteriológica, a 37,5ºC (temperatura propícia ao crescimento do micro-organismo).

Para a produção dos diversos extratos, adotou-se o protocolo de Afonso et. al (2017), com adaptações. Inicialmente, as folhas foram lavadas com água destilada, secas com papel toalha e pesadas na balança de precisão, totalizando 14,21g. Feito isso, a amostra foi picada e inserida no frasco âmbar. Em seguida, foi submergida em 142,1mL de hexano e mantida em extração por 7 dias, para a extração das substâncias apolares.

Passado esse período, o extrato foi filtrado e foi separada uma alíquota de 10mL para futura utilização nos discos de celulose. Ambos a alíquota e o restante do extrato foram armazenados em geladeira a 5ºC, em aguardo de uso. Após isso, o frasco âmbar contendo as folhas foi mantido aberto para a evaporação de qualquer resíduo de solvente presente, a fim de utilizá-lo para a extração seguinte.

Para a próxima extração, a amostra orgânica foi submergida em 104mL de acetato de etila (menor volume que o solvente anterior devido à diminuição do volume da erva depois da primeira extração). Posteriormente, as folhas foram submergidas em 100mL de álcool etílico.

O procedimento adotado na primeira extração foi o mesmo para a utilização do acetato de etila e para o álcool etílico, que extraíram, respectivamente, substâncias pouco polares e polares.

Para efeito de controle, foi feita a diluição em água destilada da solução do antibiótico, em uma concentração de 5mg/mL. Foram inseridos 10uL da mistura em discos de celulose estéreis, mantidos em aguardo para secagem.

Ademais, foi feita uma nova mistura de antibiótico e água destilada. Dessa vez, a concentração foi de 50mg/mL. O medicamento também foi inserido em discos de celulose para uso nas placas de cultura.

A última etapa é a formação de um tapete nas placas de cultura com uma mistura de soro fisiológico, amostra da bactéria *Staphylococcus aureus* e auxílio da alça Drigalski. Destaca-se que foram preparadas e utilizadas 4 placas, com a finalidade de manter réplicas do experimento que possam comprovar os resultados.

Depois disso, os extratos produzidos, assim como as duas soluções de cefalexina, foram inseridos nos discos de celulose estéreis, os quais foram dispostos nas placas para avaliação dos resultados. As placas de cultura são devolvidas à estufa bacteriológica até que sejam observáveis resultados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

É importante ressaltar que, para que haja a análise dos resultados a seguir, deve haver o conhecimento de como cada substância e extrato foi representada nas placas de cultura. A tabela abaixo evidencia as relações feitas nesse quesito.

Tabela - Relação entre extratos/controles e escritura nas placas de cultura

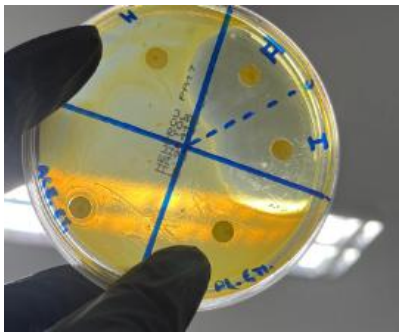
Solução de cefalexina:	**Controle:**
Concentração 5mg/mL	CI
Concentração 50mg/mL	CII
Extrato produzidos com:	**Amostra:**
Álcool etílico	al. etí.
Acetato de etila	ace. et.
Hexano	hex.

Fonte: Arquivo do grupo

A. Controle de cefalexina

Independentemente da concentração, é inegável a ação do antibiótico convencional como antibactericida. Como mostra a figura 1, tal substância teve destaque entre as outras, com os dois anéis inibitórios de ambas as concentrações tendo tamanhos similares.

Figura 1 - Ação da cefalexina contra a Staphylococcus aureus

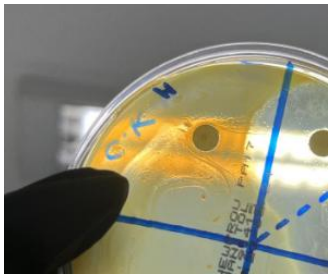


Fonte: Arquivo do grupo

B. Teste com extrato a partir de hexano

Para além dos discos de controle, os resultados obtidos pelos extratos produzidos não atingiram as expectativas. Como é observável na figura 2, os compostos derivados da extração de hexano não tiveram efeito significativo sobre a biota, havendo somente um anel extremamente estreito ao redor do disco de celulose.

Figura 2 - Ação do extrato de hexano contra a Staphylococcus aureus

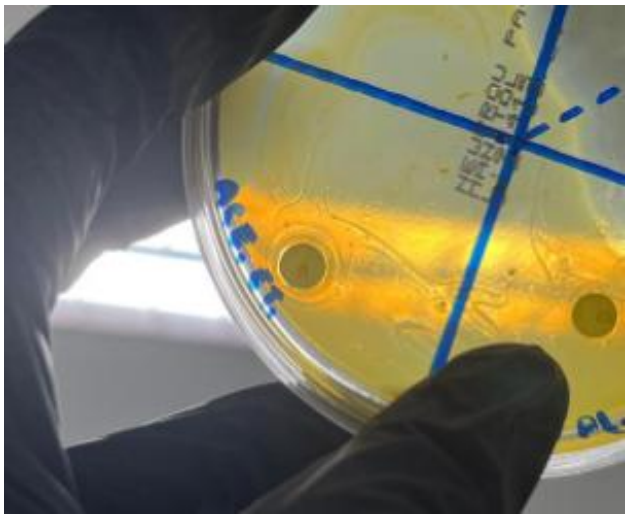


Fonte: Arquivo do grupo

C. Teste com extrato a partir de acetato de etila

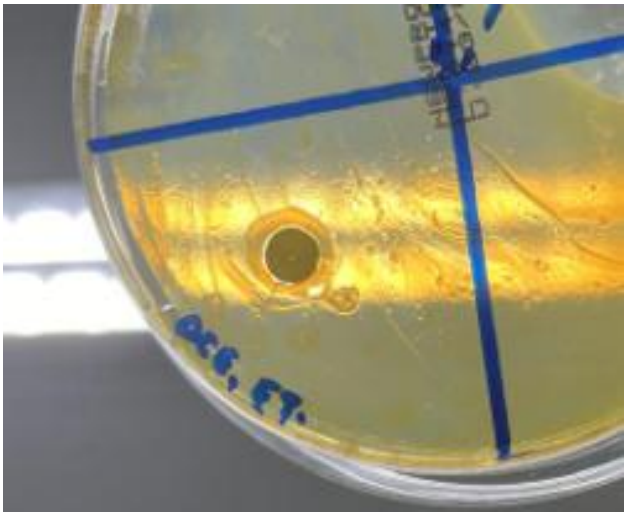
A partir das figuras 3 e 4 a seguir, nota-se que o extrato de acetato de etila teve ação maior comparado aos outros solventes. Ainda que o respectivo anel inibitório seja tênue e não tão visível quanto os provenientes dos controles, entende-se que a gama de compostos polares e apolares extraídos pelo solvente em questão tenha agido com maior eficácia, com resultados semelhantes em todas as placas.

Figura 3 - Ação do extrato de acetato de etila contra a Staphylococcus aureus (amostra 1)



Fonte: Arquivo do grupo

Figura 4 - Ação do extrato de acetato de etila contra a Staphylococcus aureus (amostra 2)

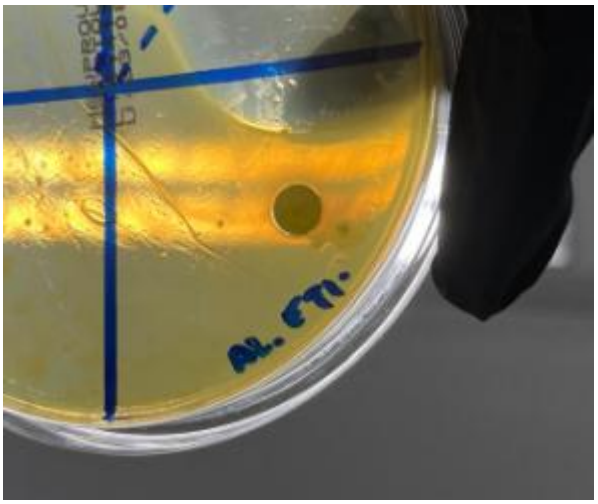


Fonte: Arquivo do grupo

D. Teste com extrato a partir de álcool etílico

Por meio do experimento, percebe-se um fino anel inibitório em torno do disco contendo o extrato de álcool etílico. Como evidenciado pela figura 5, tal anel possui características similares ao anel de hexano, possuindo, assim, efeito menor sobre a bactéria, quando comparado ao acetato de etila.

Figura 5 - Ação do extrato de álcool etílico contra a Staphylococcus aureus



Fonte: Arquivo do grupo

E. Discussão

Consoante o levantamento bibliográfico feito durante a pesquisa teórica, esperava-se que o extrato da erva-mate possuísse efeito inibidor sobre o crescimento da *Staphylococcus aureus*. Presumia-se a formação de um anel de maior extensão em volta dos disco de celulose contendo os extratos, comprovando a capacidade da erva-mate de barrar o desenvolvimento bacteriano, indo de encontro, dessa forma, com o objetivo inicial do projeto. Além disso, ao fazer a comparação com a cefalexina, esperava-se que o efeito inibitório da erva-mate fosse comparável ao do antibiótico usual.

Entretanto, os resultados não foram notoriamente visíveis quanto ao uso dos extratos da folha e, portanto, há a pretensão de uma repetição do experimento com uma concentração maior de compostos extraídos. Entende-se, pelos pequenos anéis de inibição em torno dos extratos, que a erva-mate teve uma ação sobre a biota, ainda que não tão eficaz quanto o esperado.

4 CONCLUSÃO

Inicialmente, foi possível observar a relevância do problema no contexto não só da resistência bacteriana a antibióticos, mas também da crescente busca por tratamentos alternativos, explicitando a iminente necessidade de desenvolvimento de mais estudos englobando-o. Quanto aos objetivos do projeto, em segundo lugar, percebe-se a necessidade de aprimoração dos estudos quanto ao potencial inibitório dos extratos, visto que os resultados obtidos não estão em conformidade com o que era esperado. Isso se deve ao fato de que, nas

concentrações testadas, nenhum dos extratos inibiu satisfatoriamente o crescimento da *Staphylococcus aureus*. Todavia, é importante destacar que a ausência de inibição nas concentrações utilizadas não invalida o potencial da erva-mate como agente anti-bacteriano, apenas aponta a necessidade de ajustes na metodologia. Em relação a perspectivas futuras, uma possibilidade que se pretende explorar é o aumento progressivo na concentração de cada extrato, até que se encontre o ponto ideal em que a biota seja inibida e, consequentemente, os objetivos sejam integralmente alcançados. Entretanto, apesar de tudo, a ideia inicial de evidenciar a significância da temática da resistência bacteriana e defender sua conscientização foi cumprida e, com a continuação futura da parte experimental, as possibilidades da efetivação dos objetivos se tornam mais alcançáveis e palpáveis. À vista disso, acabando com a corriqueira banalização do uso de antibióticos, uma abrangente mudança poderá ser feita na área da medicina e farmacologia, reformando tratamentos e salvando indivíduos que podem ter seus problemas evitados e combatidos de uma forma alternativa e revolucionária.

5 REFERÊNCIAS

AFONSO, Marcos Antonio; BONAPAZ, Lidiane da Silva; DUTRA, Moíses Santos; DIEL, Vanessa Backes Nascimento; FRANCESCATO, Leandro Nicolodi; VELHO, Renata Voltolini. Avaliação da Atividade Antimicrobiana do Óleo Volátil e Extratos Etanólicos de Folhas e Ramos de Ilex Paraguariensis A. St.-Hil. (Erva-Mate). v. 11 n. 3, 2017. Disponível em: <https://revistas.unilasalle.edu.br/index.php/Rbca/article/view/3422 >. Acesso em: 28 fev. 2024.

BUSH, Larry Marc. Infecções por Staphylococcus aureus. Charles E. Schmidt College of Medicine, Florida Atlantic University, Flórida, 2023. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt-br/casa/infec%C3%A7%C3%B5es/infec%C3%A7%C3%B5es-bacterianas-bact%C3%A9rias-gram-positivas/infec%C3%A7%C3%B5es-por-staphylococcus-aureus >. Acesso em: 8 abr. 2024.

CAMPRA, Aline Farina. Avaliação das atividades antibacteriana e antioxidante de extratos aquosos e hidroalcoólicos de erva-mate (Ilex paraguariensis). 2017. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2017. Disponível em: <https://riut.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/9146 >. Acesso em: 3 mar. 2024.

DE BONA, Eliana de Almeida Mira; et. al. Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Erva-Mate (Ilex paraguariensis) sobre Sorovares de Salmonella spp. de Origem Avícola. Journal of Health Sciences, [S. l.], v. 12, n. 3, 2015. Disponível em:

<https://journalhealthscience.pgsscogna.com.br/JHealthSci/article/view/1297 >. Acesso em: 11 abr. 2024.

FIO, Fernando. Resistência Bacteriana. Revista Brasileira de Medicina. Rio de Janeiro, 2000. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Fernando-Del-Fiol/publication/257645108_Resistencia_Bacteriana/links/0deec5323c888b5bec000000/Resistencia-Bacteriana.pdf> Acesso em 11 de Setembro de 2024.

G. Girolomett; C.A.M. Avancini; H.H.C. Carvalho; J.M. Wiest. Atividade antibacteriana de extratos de erva mate (Ilex paraguariensis A.St.-Hil.) 2009. Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, 2009 Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/MDrZrzFWJ44YLRGRqcgsBks/?lang=pt >. Acesso em: 28 fev. 2024.