

Efeito antibacteriano de *Camellia sinensis* sobre patógenos humanos*Antibacterial effect of Camellia sinensis on human pathogens*Luiz Eduardo Souza da Silva Irineu¹Kelly Carla Almeida de Souza Borges²Artigo
OriginalOriginal
Paper**Palavras-chave**

Atividade Biológica

Chá Verde

Antibacteriano

Resumo

O chá verde é uma planta que apresenta diversos efeitos biológicos que o torna um fitoterápico de eficiência comprovada. O presente trabalho teve como objetivo analisar o efeito antibacteriano de três amostras de chá verde em diferentes concentrações, sobre o crescimento de micro-organismos patogênicos de humanos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus pneumoniae*. O experimento foi conduzido através de diluições em etanol e DMSO, separadamente, nas concentrações 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; e 3 mg/ml de chá verde. Houve formação de halos de inibição de crescimento nos micro-organismos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Streptococcus pyogenes*, no entanto, esses micro-organismos foram considerados resistentes, já que os halos formados não foram maiores que 15mm, de acordo com o estabelecido pelos padrões internacionais.

Recebido em
04/2014Aprovado em
04/2014**Abstract**

Green tea is a plant that has several biological effects that makes it a herbal medicine with proven efficiency, thus the present study aimed to examine the antibacterial effect of three samples of green tea in different concentrations on the growth of pathogenic micro-organisms human: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae*. The experiment was conducted using dilutions in ethanol and DMSO separately in concentrations 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; and 3 mg / ml of green tea. There was formation of growth inhibition zones of the micro-organisms *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae*, however, these microorganisms were considered resistant, because the halos formed were no larger than 15mm in accordance with the standards established by the International.

Keywords

Activity

Green Tea

Antibacterial

1 Aluno de Graduação do Curso de Ciências Biológicas – UniFOA

2 Professora do Curso de Ciências Biológicas – UniFOA - almeida_kc@yahoo.com.br

1. Introdução

O aparecimento de cepas resistentes de micro-organismos patogênicos se tornou um risco à saúde humana, pois os antimicrobianos usados, muitas vezes, não conseguem combater a patologia, podendo levar a óbito e, ou talvez, à disseminação de uma doença de difícil combate.

No contexto mundial ocorre uma redução nos métodos de combate a micro-organismos, devido ao aumento da resistência aos antimicrobianos (OLIVEIRA *et al.*, 2010). Dessa forma, a Organização Mundial de Saúde (OMS) passou a incentivar o uso da fitoterapia (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001), ou seja, medicamentos à base de plantas medicinais, nos quais os compostos vegetais têm atividade biológica no organismo humano.

Visando à produção de novos fármacos, a pesquisa de plantas medicinais e seus efeitos terapêuticos vêm crescendo, tornando-se aliada à fitoterapia e à botânica, cooperando assim para a melhoria da qualidade de vida (LORENZI; MATOS, 2008).

Dentre as plantas medicinais mais utilizadas está o chá verde, extraído de *Camellia sinensis*, de origem indiana, considerada uma planta promissora que teve seu consumo espalhado e bem difundido pelo mundo. É uma das bebidas mais consumidas no mundo, devido ao seu sabor e a atribuição de efeitos favoráveis à saúde humana (SAITO, 2007).

Diversos estudos comprovam que essa planta possui muitos efeitos benéficos à saúde humana, tais como anti-inflamatórios, antioxidantes, anticarcinogênicos e apoptóticos, hipoglicemiante e antidiabéticos, dentre outros (SENGER *et al.*, 2010).

O efeito medicinal e o fácil acesso contribuem para o alto consumo do chá verde, visto que é um produto natural e de baixo custo que contrasta com os altos preços de antimicrobianos, que nem sempre podem ser pagos pela população de baixa renda.

Com isso, o extrato do chá verde passa a ser uma fonte de pesquisa para a análise dos seus efeitos biológicos sobre micro-organismos nocivos à espécie humana, podendo este ser bactericida ou bacteriostático.

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo testar o efeito antibacteriano de amostras de chá verde (*Camellia sinensis*) no cultivo *in vitro* de *Staphylococcus aureus*,

Staphylococcus saprophyticus, *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus pneumoniae*, todos considerados patógenos humanos.

2. Materiais e métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia e no Laboratório de Biotecnologia do Centro Universitário de Volta Redonda - RJ (UniFOA – Três Poços).

Três amostras de chá verde foram utilizadas para os testes, a saber:

1. Extrato de folhas, em pó, obtido por farmácia de manipulação;
2. Extrato para infusão - comercializado para consumo na forma de chá;
3. Folhas coletadas e trituradas.

Cada amostra de chá verde foi diluída, separadamente, em etanol e DMSO, respectivamente nas concentrações 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 e 3 mg/ml.

Os micro-organismos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Streptococcus pyogenes* foram fornecidos pela Coleção de Micro-organismos de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), da FIOCRUZ.

Os inóculos foram preparados através de suspensões padronizadas pela turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de MacFarland em caldo Mueller Hinton (MH) e cultivados a 37° C, em estufa, no período de 24 horas.

Para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), empregou-se o método de difusão em cavidade com ágar, conforme descrita por Deans; Ritchie (1987) e adaptada por Mendonça (2004), a saber: as placas de Petri estéreis foram preparadas com 30 ml de ágar Muller Hinton fundido. Após a solidificação do meio de cultura, pérolas de vidro de 3-4 mm estéreis foram devidamente posicionadas com auxílio de uma pinça esterilizada. Em seguida verteu-se sobre a placa com as pérolas de vidro, 30 ml de ágar fundido, contendo 2 mL do inóculo. Para a obtenção das cavidades, após a solidificação do ágar, as pérolas de vidro foram retiradas com o auxílio de uma pinça.

Para cada teste foram aplicados 10 μ L de cada concentração do extrato nas cavidades formadas no meio de cultura. Os testes foram realizados em triplicata e o teste controle foi feito aplicando-se apenas 10 μ L do respectivo diluente utilizado na cavidade central das placas.

As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas para posterior análise de presença ou não de formação de halos ao redor dos orifícios.

A análise estatística dos dados obtidos foi feita com base na medição do tamanho dos halos formados, empregando-se à análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste Tukey a 1% através do programa ASSISTAT Versão 7.6 beta

3. Resultados

Não houve formação de halos para os micro-organismos testados com a amostra da farmácia de manipulação, tanto para a diluição em etanol, quanto para a diluição em DMSO.

A amostra de chá verde comercializada pronta para infusão diluída em etanol mostrou resultado positivo e significativo estatisticamente (Tabela 1). Houve formação de halos de inibição de crescimento para os micro-organismos *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus*, sendo os maiores halos obtidos nas concentrações de 2,5 e 3 mg/ml, respectivamente.

Tabela 1: Formação de halos da amostra de chá verde para infusão diluída em etanol.

CONCENTRAÇÃO	Médias dos halos em milímetros	
	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>
Controle	0.00000 d	0.00000 c
0.5 mg/ml	0.00000 d	0.00000 c
1.0 mg/ml	0.00000 d	0.00000 c
1.5 mg/ml	6.86333 c	0.00000 c
2.0 mg/ml	7.14000 bc	0.00000 c
2.5 mg/ml	7.61667 ab	5.64667 a
3.0 mg/ml	7.70000 a	5.11333 b

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$)

A mesma amostra de chá verde para infusão, quando diluída em DMSO, apresentou resultado positivo e significativo estatisticamente (Tabela 2), ou seja, houve formação de halos de inibição para a bactéria *Streptococcus pneumo-*

niae, sendo o melhor resultado na concentração de 3 mg/ml. Não houve formação de halos para nenhum micro-organismo, com as concentrações testadas a partir da amostra coletada da parte aérea de chá verde diluída em etanol e DMSO.

Tabela 2: Formação de halos da amostra de chá verde para infusão diluída em DMSO.

CONCENTRAÇÃO	Média dos halos em milímetros
	<i>S. pneumoniae</i>
Controle	0.00000 f
0.5 mg/ml	6.06000 e
1.0 mg/ml	7.59000 d
1.5 mg/ml	9.76667 c
2.0 mg/ml	11.59333 b
2.5 mg/ml	12.31333 ab
3.0 mg/ml	13.14333 a

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$)

4. Discussão

Não apenas a concentração pode influenciar no efeito antibacteriano, de acordo com Hamilton-Miller (1995), pois a atividade antibacteriana de

chá verde também está relacionada com a quantidade de compostos polifenólicos em seu conteúdo.

Muitos dos efeitos benéficos do chá verde são resultantes da presença de compostos fenólicos, como a galato 3-epigallocatequina

(EGCG), composto mais comum do chá verde que, *in vitro*, é capaz de causar danos a lipossomas que imitavam as membranas plasmáticas de micro-organismos, de acordo com os experimentos de Taylor *et al.* (2005).

A divergência de resultados entre os testes, de acordo com Moraes-de-Souza *et al.*, (2011), pode ser atribuída ao fato de que amostras das mesmas espécies vegetais podem apresentar diferentes composições químicas e atividades distintas, quando obtidas de diferentes marcas comerciais.

Pereira *et al.* (2009) atribuíram as diferenças nos teores de compostos polifenólicos à estação do ano, ao clima e à idade em que as folhas foram colhidas. Sendo assim, os resultados negativos podem ser explicados por alguma influência do fator externo que pode ter influenciado na eficiência dos compostos fenólicos do chá verde testado, como as catequinas, mencionadas na literatura como o princípio ativo do chá verde (*Camellia sinensis*) mais eficiente no controle antimicrobiano (SCHMITZ *et al.*, 2005).

Apesar do teste com a amostra de chá verde para infusão, tanto diluído em etanol quanto diluído em DMSO, ter resultado em halos de inibição, os micro-organismos testados foram classificados como resistentes, pois de acordo com o padrão de referência (NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2006) não houve formação de halos maiores que 15mm.

Os resultados obtidos sobre o *Staphylococcus aureus* corroboram com os resultados obtidos por Costa (2009), que analisou o efeito antimicrobiano do extrato de chá verde e obteve inibição do crescimento de *S. aureus* com a concentração de 2,5 mg/ml, sendo que, conforme decrescia a concentração, o efeito antimicrobiano do extrato se tornava menor. Essa correlação foi visível neste trabalho para o *Streptococcus pneumoniae*, onde se observa que o aumento da concentração de chá verde influi diretamente no tamanho dos halos obtidos.

Embora o chá verde tenha sido eficiente sobre alguns micro-organismos, o mesmo não foi efetivo contra o micro-organismo *Staphylococcus saprophyticus* em nenhum dos tratamentos utilizados no experimento.

Os resultados corroboram com os da pesquisa de Akroum e Lalaoui (2012) que demonstraram que o chá verde diluído em etanol não obteve inibição sobre o crescimento de *S. saprophyticus*.

5. Conclusão

O presente trabalho permitiu concluir que o extrato de *Camellia sinensis* possui potencial antibacteriano e que este pode variar em função do solvente utilizado no preparo do extrato. Dessa forma, incentiva-se o desenvolvimento de pesquisas com substâncias isoladas na busca de alternativas terapêuticas.

6. Referências Bibliográficas

AKROUM, S.; LALAOUI, K. Antimicrobial activity of some alimentary and medicinal plants. **African Journal of Microbiology Research**. v. 6, n. 8, p. 1860-1864, 2012.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Proposta de Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos**. 1ª Ed. 2001, 40 p.

COSTA, E. V. **Atividade antimicrobiana de dois extratos vegetais contra S. aureus**. 2009, 76 f. Tese (Mestrado em Microbiologia). Universidade de Aveiro, Portugal.

DEANS, S. G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. **International Journal of Food Microbiology**. v. 5, n. 2, p. 165-180, 1987.

HAMILTON- MILLER, J. Antimicrobial properties of tea (*Camellia sinensis* L.). **Antimicrobials agents and chemoteraphy**. v. 39, p. 2375-2377, 1995.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2ª Ed, Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

MENDONÇA, A. T. **Efeito dos óleos essenciais de condimentos sobre o crescimento de Staphylococcus aureus em ricota cremosa**. 2004. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

MORAES-DE-SOUZA, R. A., et al. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de chás comercializados no Brasil. **B.CEPPA**. v. 29, n. 2, p. 229-236, 2011.

NCCLS, "National Committee for Clinical Laboratory Standards," M100-S16, 2006.

OLIVEIRA, A. C. et al. Resistência bacteriana e mortalidade em um centro de terapia intensiva. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**. v. 18, n. 6, p. 1152-1160, 2010.

PEREIRA, E. P. L.; CUNHA, M. L. R. S. Avaliação da colonização nasal por *Staphylococcus* spp. resistente à oxacilina em alunos de enfermagem. **Jornal Brasileiro de Patologia Medica e Laboratorial**. v. 45, n. 5, p. 361-369, 2009.

SAITO, S. T. **Estudo químico e avaliação da atividade antioxidante de chá-verde brasileiro (Camellia sinensis var. assamica) cultivar IAC-259**. 2007, 83 f. Tese (Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

SENGER, A. E. V.; SCHWANKE, C. H. A.; GOTTLIEB, M. G. V. Chá verde (*Camellia sinensis*) e suas propriedades funcionais nas doenças crônicas não transmissíveis. **Scientia Medica**, v. 20, n. 4, p. 292-300, 2010.

SCHMITZ, W. et al. O chá verde e suas ações como quimioprotetor. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 26, n. 2, p.119-130, 2005.

TAYLOR, P. W.; HAMILTON-MILLER J. M. T.; STAPLETON, P. D. Antimicrobial properties of green tea catechins. **Food Science Technology Bull**. v. 2, p. 71-81, 2005.