



Utilização da hortelã-pimenta como agente no controle de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS)

Use of peppermint as an agent in the control of Healthcare-Associated Infection (HAI)

L. B. Benitez^{1*}; C. de Medeiros da Silva¹; L. da Costa Alvares²

¹ Departamento de Biologia e Farmácia, Universidade de Santa Cruz do Sul. 96815-900, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil.

² Laboratório de Microbiologia, Universidade de Santa Cruz do Sul. 96815-900, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil

* lisiame@unisc.br

(Recebido em 05 de abril de 2016; aceito em 11 de outubro de 2016)

O uso das plantas medicinais está amplamente difundido, entretanto sua utilização com fins terapêuticos deve atender a critérios de qualidade, segurança e eficácia. A contaminação por micro-organismos pode impedir o atendimento destes critérios. A atividade biológica de algumas plantas tem sido frequente alvo de investigação devido ao comprovado espectro de atividade inibitória que apresentam sobre diversas bactérias. As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) representam um importante problema de saúde pública e medidas de controle se fazem necessárias para evitar o crescente aumento da resistência microbiana e suas implicações e riscos na vida dos usuários dos serviços de saúde. Este estudo avaliou a qualidade de amostras comerciais de *Mentha piperita* L. (hortelã-pimenta) através de análises de pureza da planta e de micro-organismos indicadores e patogênicos, além de testar a atividade antibacteriana de extratos da planta. Os valores médios encontrados para matérias estranhas, umidade e cinzas foram de 18,21%, 44,46% e 10,75%, respectivamente. As contagens de micro-organismos aeróbios viáveis, de bolores e leveduras e a pesquisa de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* indicaram que a maioria das amostras (80%) não atendia aos parâmetros estabelecidos pela legislação. Os resultados de qualidade encontrados para a hortelã-pimenta são um indicativo da precariedade na comercialização de plantas medicinais no Brasil e pressupõem a urgência na implantação de programas de farmacovigilância. Os extratos com atividades antibacterianas mais expressivas foram os brutos etanólicos, inibindo aproximadamente 91% das bactérias testadas, indicando a possibilidade de uso da hortelã-pimenta no controle dos micro-organismos testados.

Palavras-chave: Hortelã-pimenta, bactérias patogênicas, IRAS

The use of medicinal plants are widespread around the world, however, the use of plants for therapeutic purposes must meet all the criteria of quality, safety and efficacy. The contamination by micro-organisms prevents the attendance of these criteria. The biological activity of some plants has been a frequent target of investigation because of the proven inhibitory activity spectrum that have over several bacteria. The healthcare-associated infections are a major public health problem and control measures are necessary to prevent the increasing microbial resistance and its implications and risks in the lives of people who use health services. This study assessed the quality of commercial samples of *Mentha piperita* L. (peppermint) through analyzes of purity, pathogenic and indicators micro-organisms and also tested the antimicrobial activity of the plant extracts. The average values for strange materials, humidity and ashes were 18.21%, 44.46% and 10.75%, respectively. The counts of viable aerobic microorganisms, molds and yeasts and the research of *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* indicated that the majority of samples (80%) did not meet the parameters established by the legislation. The results in quality tests found for the peppermint indicate the weakness in commercialization of medicinal plants in Brazil and show the urgency in the implementation of pharmacovigilance programs. The crude ethanol extract exhibited antibacterial activity more significantly, inhibiting about 91% of the tested bacteria, indicating that the use of peppermint in the control of the tested micro-organisms is possible.

Keywords: *Mentha piperita*, pathogenic bacteria; HAI.

1. INTRODUÇÃO

O uso das plantas medicinais é um dos recursos mais antigos empregados no tratamento das doenças adquiridas pelo homem e muito do que se sabe acerca do seu uso advém da sabedoria popular. A fitoterapia, decorrente do uso etnomedicinal, é amplamente praticada, apesar das plantas medicinais mais utilizadas pela população apresentarem ação terapêutica pouco comprovada devido à falta de conhecimento das propriedades químicas, toxicológicas e farmacológicas que assegurem a eficácia e garantam a segurança do uso [1, 2]. A dificuldade de acesso aos serviços de saúde pela maioria da população e o custo elevado dos medicamentos industrializados contribuem para o uso das plantas no controle das doenças, além disso, os fitoterápicos tem

como vantagem o menor surgimento de reações adversas [3, 4]. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 80% da população mundial utiliza terapias alternativas, como as plantas medicinais *in natura* ou seus produtos derivados, nos cuidados primários em saúde [5].

A hortelã-pimenta, pertencente ao gênero *Mentha* e à família Lamiaceae, é uma planta aromática e está entre as ervas mais populares para uso na forma de chás a fim de tratar dores de cabeça e distúrbios gastrintestinais e respiratórios. Registrada como fitoterápico simples na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) [6] a hortelã está classificada de acordo com suas propriedades terapêuticas como antiespasmódico e expectorante [7]. A droga, utilizada principalmente para a obtenção do óleo, é amplamente empregada como flavorizante, aditivo em alimentos, em produtos de higiene bucal e em preparações farmacêuticas [8]. Além disso, a *Mentha piperita* L. faz parte da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde/RENISUS que tem por finalidade orientar pesquisas e estudos de desenvolvimento e inovação em fitoterapia garantindo a segurança no acesso e no uso de plantas medicinais e fitoterápicos.

Estudos do potencial antimicrobiano de diferentes partes da hortelã-pimenta reportam a significativa atividade antibacteriana de extratos obtidos das folhas da planta frente às bactérias patogênicas, possivelmente devido à presença de alcaloides, flavonoides, esteroides, taninos e fenóis. A presença de mentol, agindo de forma isolada ou sinergismo com outros constituintes da planta, tem sido associada à inibição de bactérias Gram negativas e positivas, apresentando desta forma potencial significativo para o tratamento de doenças infecciosas [9, 10, 11].

Diversos contaminantes que afetam a qualidade da matéria-prima podem ser oriundos de coletas e/ou armazenamento em locais inadequados. Inúmeras pesquisas constataram a precariedade no comércio dos produtos a base de plantas em alguns centros urbanos brasileiros, sem garantia da qualidade e segurança, apresentando grave risco de contaminação para os usuários [12, 13, 14, 15, 16]. A identificação e a pureza da droga vegetal, bem como a avaliação de seus princípios ativos, são requisitos indispensáveis à obtenção de produtos de boa qualidade [17]. A ANVISA, por meio da Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 14 de 31 de março de 2010 que regulamenta o registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil, reafirma que fitoterápicos são medicamentos e, desta forma, resgata a necessidade da existência de estudos de segurança, eficácia e qualidade prévios ao registro desses produtos [6].

A emergência contínua em instituições de saúde de micro-organismos resistentes é um grande desafio que tem mobilizado órgãos nacionais e internacionais de vigilância e controle epidemiológicos [18]. Alguns tratamentos de saúde exigem internação hospitalar expondo os usuários a um ambiente contaminado por micro-organismos extremamente infecciosos. A infecção hospitalar ou “Infecção Relacionada à Assistência à Saúde (IRAS)” é definida como uma síndrome infecciosa adquirida após a internação do paciente, que se manifesta durante a internação ou mesmo após alta e está relacionada com a internação ou com procedimentos hospitalares [19]. Praticamente todos os patógenos tem potencial para causar infecção em pacientes hospitalizados, porém um número limitado de bactérias tanto Gram-positivas quanto Gram-negativas são responsáveis pela maioria das infecções nosocomiais. Dentre estas, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e Enterococos assumem a liderança. O espectro clínico causado por patógenos nosocomiais depende do sítio da infecção, do micro-organismo envolvido e das condições gerais do paciente [20].

O uso das plantas com a finalidade de obtenção dos mais variados efeitos medicamentosos tem sido alvo de investigação, incluindo sua aplicação como agentes antimicrobianos. Com o crescente desenvolvimento de resistência das bactérias aos antibióticos a busca por compostos que apresentem menor toxicidade, espectro amplo de ação e maior eficácia tem aumentado o interesse pelos fitoterápicos [21, 22, 23].

A maioria das plantas contém vários compostos com propriedades antimicrobianas para protegê-las de agentes agressores, particularmente micro-organismos. Os mecanismos de ação destes compostos naturais nas células microbianas estão relacionados à desintegração da membrana citoplasmática, à desestabilização da força protomotiva, do fluxo de elétrons, do transporte ativo e da coagulação do conteúdo celular [21, 24].

Os constituintes provenientes do metabolismo secundário das plantas são compostos ativos com comprovada ação inseticida, antioxidante e antimicrobiana, tais propriedades possuem grande aplicação em produtos farmacêuticos e em terapias alternativas. Os flavonoides, saponinas e terpenos são considerados os principais compostos com atividade antimicrobiana, tornando os extratos de diversas plantas ativos frente a inúmeras bactérias [25, 26, 27]. Este estudo teve por objetivos verificar a pureza e a qualidade microbiológica

de amostras comerciais de *Mentha piperita* L. e avaliar a possível atividade antibacteriana *in vitro* de extratos da hortelã frente às bactérias responsáveis por infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Através de levantamento prévio foram detectadas dez (10) marcas da erva aromática *Mentha piperita* L. comercializadas a granel em estabelecimentos especializados (ervanários) na cidade de Santa Cruz do Sul, RS. Dentre as marcas encontradas selecionou-se as de maior volume de vendas e que estavam acompanhadas da descrição botânica da planta. No total, cinco (05) marcas foram selecionadas e designadas de A1 a A5 a fim de proteger suas identidades. As análises de verificação da qualidade da planta e de sua possível atividade antimicrobiana foram realizadas em triplicata nos laboratórios de Farmacognosia e Microbiologia, respectivamente, da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC).

Verificação da pureza

A verificação da pureza baseou-se na determinação de elementos estranhos e possíveis contaminantes, teor de umidade e determinação de cinzas totais, utilizando métodos constantes na Farmacopéia Brasileira [28]. A análise da presença de elementos estranhos consistiu na observação através de microscópio estereoscópico (Lambda Lee-3, ATTO *Instruments* LTDA, Hong Kong) de matérias estranhas à droga como restos de caules, fragmentos de outras plantas, gramíneas e ervas-daninhas ou sujidades. As amostras foram analisadas cuidadosamente, sendo todo o material estranho separado e pesado. Os resultados foram expressos em porcentagem de elementos estranhos.

O teor de umidade foi determinado pelo método gravimétrico e consistiu na pesagem de 2 g de cada amostra, transferência para um pêssego filtro tarado e previamente dessecado (por 30 minutos). Dessecou-se a amostra a 100-105 °C durante 5 horas, até peso constante. Os resultados foram expressos em porcentagem de água em relação à droga seca ao ar.

A determinação das cinzas totais (incluindo cinzas fisiológicas e de materiais estranhos e cinzas não fisiológicas) foi feita por incineração das amostras (3 g) utilizando-se gradiente de temperaturas (30 minutos a 200°C, 60 minutos a 400°C e 90 minutos a 600°C). Após resfriamento em dessecador o material foi pesado e calculou-se a porcentagem de cinzas em relação à droga seca ao ar.

Contagem total de micro-organismos mesofílicos (indicadores)

Transferiu-se assepticamente 10 g de cada amostra para 90 mL de uma solução de água peptonada tamponada. Após homogeneização a amostra foi diluída sucessivamente (1:10) até a diluição 10^{-7} . Para a contagem de bactérias aeróbicas cada diluição foi semeada em ágar tripton de soja (TSA) (Oxoid, Basingstoke, UK), empregando-se a técnica de semeadura *pour-plate*. As placas foram incubadas a $32 \pm 2,5^\circ\text{C}$, por 3-5 dias. Para a quantificação de bolores e leveduras as mesmas diluições foram semeadas na superfície de ágar Sabouraud-dextrose (Merck, Darmstadt, Germany) e as placas incubadas a $22,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ por 7 dias. Após incubação realizou-se a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) com o auxílio de um contador automático de colônias (PHOENIX CP 600 Plus).

Pesquisa de patógenos específicos

Para a pesquisa de patógenos (testes de presença/ausência) utilizou-se metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira [28], com algumas modificações (Tabela 1).

Tabela 1. Metodologias utilizadas na detecção de micro-organismos patogênicos.

| Patógenos específicos | Caldo de enriquecimento | Meio de cultura (Ágar) | Provas de identificação |
|-------------------------------|-------------------------|------------------------|---|
| <i>Escherichia coli</i> | Caseína-soja | MacConkey | Ágar *EMB, *TSI, Indol, Citrato, *VM, *VP, GRAM |
| <i>Salmonella sp.</i> | Tetrionato | Rambach | *TSI, Indol, Citrato, Urease, Lisina, GRAM. |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Caseína-soja | Cetrimida | Crescimento à 41°C GRAM. |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Caseína-soja | Baird-Parker | Coagulase, Catalase, GRAM |

*EMB: Eosin Methylene Blue; TSI: Triple Sugar Iron; VM: Vermelho de Metila; VP: Voges Proskauer

Preparo dos extratos

As amostras comerciais de hortelã foram reduzidas ao estado de pó em um moinho de facas (Tecnal, Tipo Willye e modelo TE - 648). Cada amostra (200 g) foi então colocada em frasco âmbar, recobertas com água destilada e etanol para obtenção dos extratos aquoso e etanólico, respectivamente. A extração pela técnica de maceração foi realizada por um período de 24 horas. Em seguida os líquidos extratores foram filtrados e o solvente renovado por sete dias consecutivos. Os extratos líquidos resultantes foram concentrados por meio de evaporador rotatório (MARCONI®, modelo MA-120) e posteriormente liofilizados (EDWARDS®, modelo Modulyo 4K). Os extratos brutos aquosos (EBA) e os brutos etanólicos (EBE) liofilizados foram então reconstituídos em dimetilsulfóxido (DMSO) a uma concentração de 100 mg/mL e filtrados (filtros Millipore®, de 0,22 µm) para a execução dos testes de atividade antibacteriana. Os extratos brutos que apresentaram maior atividade inibitória do crescimento microbiano foram então diluídos em DMSO a 10,0; 1,0 e 0,1% (v/v).

Determinação da atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana dos extratos foi determinada através do método de ágar-difusão em disco modificado segundo Benitez et al. [29] e consistiu na aplicação de uma alíquota de 10 µL dos extratos em discos de celulose estéreis (6 mm) colocados em placas de ágar Mueller-Hinton previamente inoculadas com uma suspensão de 10⁸ células/mL (0,5 na escala de McFarland) dos micro-organismos-teste. Após incubação por 24 horas à 37 °C, foram observados os halos de inibição das amostras bacterianas, medidos em milímetros (mm) com o auxílio de um paquímetro.

Os micro-organismos utilizados no estudo foram as cepas clínicas de (1) *Escherichia coli*; (2) *Streptococcus pneumoniae*; (3) *Pseudomonas aeruginosa*; (4) *Micrococcus luteus*; (5) *Listeria monocytogenes* isoladas de pacientes de um hospital-escola e as cepas-padrão de (6) *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), (7) *Staphylococcus aureus* (ATCC 9801), (8) *Escherichia coli* (ATCC 8739), (9) *Serratia marcescens* (CDC 4120), (10) *Proteus vulgaris* (IAL 1016) e (11) *Enterobacter cloacae* (CDC 3443).

Como controle negativo foi utilizada solução salina 0,85% estéril e como controle positivo o antibiótico cloranfenicol (100 µg/mL), exceto para a cepa de *Streptococcus pneumoniae* onde foi utilizada a oxacilina 1µg uma vez que esta bactéria apresentou resistência ao cloranfenicol.

3. RESULTADOS

Nos ensaios de pureza apenas as amostras A1 e A3 atenderam ao limite máximo de material estranho preconizado pela Farmacopeia Brasileira [28], as demais apresentaram em média 27,4% de contaminantes, como galhos de outros vegetais, insetos e terra (Tabela 2).

Todas as amostras apresentaram valores de umidade superiores aos de referência (máximo 12%). O teor médio de cinzas foi de 10,75%, apresentando-se em conformidade ao padrão especificado (15%) na Farmacopeia Brasileira [28] (Tabela 2).

Tabela 2: Análise dos valores de elementos estranhos, teor de umidade e determinação de cinzas totais das amostras de *Mentha piperita*.

| Amostras | Elementos estranhos (%) | Teor de umidade (%) | Cinzas totais (%) |
|------------------------|-------------------------|---------------------|-------------------|
| A1 | 6,36 | 43,0 | 11,0 |
| A2 | 23,0 | 45,0 | 13,33 |
| A3 | 2,50 | 46,0 | 10,20 |
| A4 | 15,0 | 45,0 | 11,10 |
| A5 | 44,2 | 43,0 | 8,10 |
| Valores de referência* | Máximo 10% | Máximo 12% | Máximo 15% |

* Farmacopeia Brasileira, 5ª edição (2010)

Na investigação da qualidade microbiológica das amostras observou-se que a contagem total de bactérias mesofílicas variou de 10^2 a 10^7 UFC/g e a contagem de bolores e leveduras de 10^3 a 10^7 UFC/g. O patógeno *Escherichia coli* foi encontrado em uma das amostras (A5) e *Pseudomonas aeruginosa* em duas (A2 e A4). A presença das bactérias *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* não foi detectada. De acordo com a Farmacopeia Brasileira [28] na pesquisa de patógenos o produto cumpre o teste se não for observado crescimento de colônias características do micro-organismo investigado ou se as provas de identificação forem negativas.

O perfil da atividade antibacteriana dos extratos de hortelã pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3. Perfil da atividade antibacteriana de extratos de hortelã.

| Cepas | EBA ^a | EBE ^a | EBE ^a 10% | EBE ^a 1% | EBE ^a 0,1% | **C |
|----------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|-------|
| <i>Ec</i> | - | + ^H | - | - | - | ++C |
| <i>Sp</i> | - | + ^G | + ^K | - | - | ++Oxa |
| <i>Pa</i> | - | + ^G | + ^L | - | - | ++C |
| <i>Ml</i> | - | + ^G | - | - | - | ++C |
| <i>Lm</i> | + ^B | + ^G | + ^L | - | - | ++C |
| <i>Lm</i> ATCC | - | + ^I | + ^M | + ^M | - | ++C |
| <i>As</i> ATCC | - | - | - | - | - | ++C |
| <i>Ec</i> ATCC | + ^C | + ^G | + ^H | + ^H | - | ++C |
| <i>Sm</i> CDC | + ^D | + ^J /++ ^F | + ^L | - | - | ++C |
| <i>Pv</i> | + ^E /++ ^F | ++ ^I | ++ ^M | - | - | ++C |
| <i>Ecl</i> | + ^G | + ^G | + ^N | + ^O | - | ++C |

Ec: *Escherichia coli*; *Sp*: *Streptococcus pneumoniae*; *Pa*: *Pseudomonas aeruginosa*; *Ml*: *Micrococcus luteus*; *Lm*: *Listeria monocytogenes*; *Lm* ATCC: *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644); *As* ATCC: *Staphylococcus aureus* (ATCC 9801); *Ec* ATCC: *Escherichia coli* (ATCC 8739); *Sm* CDC: *Serratia marcescens* (CDC 4120); *Pv*: *Proteus vulgaris* (IAL 1016); *Ecl*: *Enterobacter cloacae* (CDC 3443). EBA (Extrato Bruto Aquoso). EBE (Extrato Bruto Etanólico); **C (Controle Positivo): C (Cloranfenicol); Oxa (Oxacilina); ATCC: American Type Culture Collection; CDC: Center of Disease Control; (+) halo presente (< 10mm); (++) halo presente (entre 10 e 35mm); (-) ausência de halo de inibição; ^BA3,4; ^CA1,2,3; ^DA2,3,5; ^EA2; ^FA3,4,5; ^GA1,2,3,4,5; ^HA2,3,4; ^IA2,3,4,5; ^JA1,2; ^KA1; ^LA3; ^MA5; ^NA1,2,5; ^OA1,5; A1-5: amostras da hortelã; ^aCada extrato foi testado em triplicata. Solução salina estéril foi usada como Controle negativo.

Os extratos com atividades mais expressivas foram os brutos etanólicos (EBE), os quais inibiram o crescimento de aproximadamente 91% dos micro-organismos testados. O espectro de atividade de alguns dos extratos etanólicos a 10% foi mais amplo que aqueles diluídos a 1%, entretanto na concentração de 0,1% não apresentaram qualquer atividade inibitória sobre o crescimento bacteriano. Dentre os micro-organismos testados o único que não teve seu crescimento afetado pelos extratos foi a bactéria Gram positiva *Staphylococcus aureus*.

4. DISCUSSÃO

As drogas vegetais frequentemente contêm impurezas diferentes do farmacógeno, tais como restos de caules, fragmentos de outras plantas e materiais de origem diversa. Desde que esses elementos não caracterizem falsificação ou adulteração do material, são considerados como impurezas [30]. Neste estudo as amostras de hortelã apresentaram níveis de contaminantes superiores aos recomendados na legislação brasileira evidenciando riscos à saúde dos consumidores pela presença de elementos sem fins terapêuticos. A presença de elementos estranhos indica que as Boas Práticas de Fabricação não foram observadas e o consumo do chá, tanto com fins alimentícios quanto medicamentosos, pode provocar importantes efeitos tóxicos e riscos à saúde humana. Para a grande maioria das plantas os índices elevados de impurezas são ocasionados por problemas de manejo, limpeza e separação inadequada de produtos à base de plantas medicinais [31].

Cabe salientar que o baixo conteúdo de elementos estranhos na amostra A3, quando comparado às demais amostras ensaiadas, pode estar associado ao fato de que esta se encontrava finamente triturada no momento de sua aquisição no comércio, dificultando a identificação de contaminantes que, se presentes, poderiam ter sido moídos juntamente com o vegetal investigado.

Conforme a Farmacopeia Brasileira [28], a hortelã deve ter no máximo 12% de umidade. O valor médio de umidade encontrado neste estudo foi de 44,4%, sendo superior ao limite preconizado pela legislação. Valores elevados de umidade podem levar a uma multiplicação microbiana indesejável em plantas medicinais destinadas ao consumo humano, além de levar o material vegetal à deterioração por ação de enzimas que degradam os constituintes químicos da planta [31, 33]. O desenvolvimento microbiano em chás de ervas pode alterar as características organolépticas do produto, além de desencadear intoxicações ou doenças infecciosas nos consumidores.

A possibilidade de adulterações pode ser determinada pela análise do teor de cinzas que verifica a presença de impurezas inorgânicas não voláteis que podem aparecer como contaminantes. As amostras testadas neste estudo apresentaram teor médio de cinzas em conformidade com a legislação.

Se avaliarmos as plantas ensaiadas como drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a quente, os valores médios de bactérias mesofílicas encontrados estarão dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação (10^7 UFC/g). Já para a contagem total de fungos 80% das amostras apresentaram valores na ordem de 10^6 UFC/g, ultrapassando o limite de 10^4 UFC/g. Santos e colaboradores [15] ao estudarem a contaminação fúngica de plantas utilizadas em chás isolaram diversos fungos toxigênicos, além de fungos de importância clínica causadores de micoses em humanos. Se considerarmos que a hortelã, utilizada neste estudo, pode ser utilizada como matéria-prima no preparo de outras formas farmacêuticas tanto as contagens de bactérias quanto as de fungos ultrapassam os padrões microbiológicos recomendados pela legislação vigente.

A detecção de *Escherichia coli* em uma das amostras indica a presença de material de origem fecal e a possibilidade da presença de outros patógenos. A contaminação pode estar associada à manipulação inadequada ou higienização insuficiente da planta. Coliformes em grandes quantidades em um produto vegetal não necessariamente são indicadores de contaminação original, mas podem sim indicar o manuseio impróprio o que permitiria a multiplicação destes micro-organismos que podem ser oriundos do solo, da água contaminada utilizada para a irrigação ou ainda provenientes do preparo inadequado do adubo orgânico [34, 35].

A ocorrência de patógenos, como a *Pseudomonas aeruginosa*, em plantas medicinais representa um elevado risco à saúde e devem, portanto, ser evitadas. A análise da qualidade microbiológica das ervas é geralmente baseada em critérios de avaliação gerais e específicos, cada um dos quais tendo um significado indicativo mais ou menos acentuado da qualidade da planta [36].

A utilização da planta medicinal na forma de infusão com água fervente provavelmente diminui o nível de contaminação microbiana, porém para que isto ocorra o binômio tempo/temperatura deve ser corretamente empregado o que, na prática, nem sempre ocorre [37].

Devido ao grande potencial de aplicação dos fitoterápicos e seu uso alternativo em várias áreas da saúde, é importante a realização de estudos de atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas, uma vez que apresentam amplo espectro de atividade contra bactérias, fungos e amebas de vida livre [38, 39, 40, 41]. A expressiva atividade antibacteriana apresentada pelos extratos brutos etanólicos de hortelã deve-se, possivelmente, à capacidade do etanol em extrair grande número de constituintes biologicamente ativos da planta (alcalóides, antraquinonas, taninos e saponinas) responsáveis pela ação de inibição do crescimento bacteriano [22, 42, 43, 44]. O isolado clínico de *Streptococcus pneumoniae* sensível à oxacilina, porém resistente ao cloranfenicol, teve seu crescimento inibido pelos extratos etanólicos de todas as amostras testadas e também pelo extrato aquoso a 10%, sendo assim pode-se inferir que os mecanismos de resistência da cepa envolvida são afetados pelos componentes ativos presentes nos extratos, destacando a importância desta planta na terapêutica atual.

Na era pré-antibiótica os estreptococos se destacaram como maiores causadores de IRAS, provocando surtos de infecção e morte de puérperas. Embora, na atualidade, não sejam considerados uma causa importante de infecções relacionadas à assistência à saúde podem levar a quadros muito graves e muitas vezes letais, até mesmo em pacientes imunocompetentes. A bactéria *Streptococcus pneumoniae* é um patógeno responsável por infecções respiratórias, otite, meningite, especialmente entre crianças e idosos. A capacidade de adquirir resistência a diferentes antibióticos faz com que o tratamento antimicrobiano das infecções causadas por esta bactéria seja cada vez mais difícil, e a grande variedade de sorotipos torna complicada a prevenção por vacina [45, 46].

Extratos de plantas têm grande potencial como agentes antimicrobianos, podendo ser utilizados no tratamento de doenças infecciosas causadas por micro-organismos resistentes, como também quando associados a antibióticos conduzindo a novas opções de tratamento [19]. As IRAS representam um risco não apenas aos pacientes, mas também aos profissionais da área da saúde, trabalhadores dos serviços de apoio e demais usuários dos serviços de saúde, além de aumentarem o período de internação hospitalar e a resistência microbiana aos antibióticos [47]. As infecções hospitalares vêm ganhando destaque entre as discussões das organizações de saúde gerando muitos estudos que levantam a importância da sua prevenção, as causas principais e os custos ao paciente e aos serviços. Os pacientes com necessidade de internação ficam expostos aos riscos do ambiente hospitalar, que se acentua em alguns grupos como dos idosos, por exemplo, mais suscetíveis às complicações infecciosas [48].

5. CONCLUSÃO

Nosso estudo confirmou que a *Mentha piperita* L. possui atividade antibacteriana *in vitro*, com destaque para os extratos etanólicos da planta que foram capazes de afetar o crescimento de 91% das bactérias testadas. As concentrações inibitórias mínimas dos compostos ativos presentes na planta precisam ser investigadas a fim de confirmar a segurança de uso em humanos no combate aos micro-organismos responsáveis por infecções relacionadas à assistência à saúde. A contagem elevada de micro-organismos indicadores e a presença de patógenos em parte das amostras avaliadas possivelmente decorrem da presença de impurezas e do elevado teor de umidade e caracterizam baixa qualidade microbiológica da erva. O aumento da popularidade no uso de medicamentos a base de plantas medicinais torna a questão da segurança na produção das matérias-primas essencial para evitar prejuízos à saúde dos consumidores e se tornar um sério problema de saúde pública. Os resultados de avaliação da qualidade da hortelã-pimenta encontrados nesta investigação são um indicativo da precariedade na comercialização de fitoterápicos e plantas medicinais no Brasil e pressupõem a urgência na implantação de programas de farmacovigilância destes produtos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salvagnini LE, Oliveira JRS, Santos LE, Moreira RR, Pietro RCLR. Avaliação da atividade antibacteriana de folhas de *Myrtus communis* L. (Myrtaceae). Rev Bras Farmacogn. 2008 Jan;18(2):241-244, doi:10.1590/S0102-695X2008000200018
2. Souza-Moreira TM, Salgado HRN, Pietro CLR. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. Rev Bras Farmacogn. 2010 Nov;20(3):435-440, doi:10.1590/S0102-695X2010000300023

3. Bevilaqua GAP, Schiedeck G, Schwengber JE. Identificação e tecnologia de plantas medicinais da flora de clima temperado. Circular Técnica 61. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: Pelotas, 2007. 29 p.
4. Badke MR, Budó MLD, Alvim NAT, Zanetti GD, Heisler EV. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. Texto Contexto Enferm. 2012 Abri-Jun;21(2):363-370.
5. World Health Organization. Guidelines for testing mosquito adulticides for indoor residual spraying and treatment of mosquito nets control of neglected tropical diseases who pesticide evaluation scheme. Geneva: World Health Organization, 2006. 60 p.
6. Brasil, 2010. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 14, de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da União nº 63 de 05 de abril de 2010. Acesso em 12 de janeiro de 2014. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br> e-legis.
7. Carvalho ACB, Balbino EE, Maciel A, Perfeito JPS. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. Rev Bras Farmacogn 2008 Abr;18(2):314-319, doi:10.1590/S0102-695X2008000200028
8. Simões CMO, Mentz LA, Schenkel EP, Irgang BE, Stehmann JR. Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul. 5ª ed. Porto Alegre: Editora da Universidade UFRGS, 1998. 173 p.
9. Sujana P, Sridhar TM, Josthna P, Naidu CV. Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of *Mentha piperita* L.(Peppermint)-An Important Multipurpose Medicinal Plant. Am J Plant Sci. 2013 Jan;4(1):77-83, doi:10.4236/ajps.2013.41012
10. Singh R, Shushni MAM, Belkheir A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Arabian J Chem. 2015;8(3):322–328, dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.019
11. Sharafi SM, Rasooli I, Owlia P, Taghizadeh M, Astaneh SDA. Protective effects of bioactive phytochemicals from *Mentha piperita* with multiple health potentials. Pharmacogn Mag. 2010 Jul-Sep;6(23):147-153, doi:10.4103/0973-1296.66926
12. Brandão, MGL. Recomendações para a avaliação da qualidade de drogas e extratos vegetais pelas farmácias de manipulação. Infarma. 1997;6(1/2):6-9.
13. Brandão, MGL, Freire N, Vianna-Soares CD. Vigilância em Fitoterápicos em Minas Gerais. Verificação da qualidade de diferentes amostras comerciais de camomila. Cad Saúde Pública. 1998 Jul-Set;14:693-696.
14. Pereira EAP, Alves SM, Grandi TSM, Campos LMM, Brandão MGL. Qualidade de amostras comerciais de drogas e especialidades farmacêuticas contendo guaraná e maracujá. Infarma. 2000;12(1/1):76-7.
15. Santos RL, Caldas Nobre MS, Guimarães GP, Dantas, TB, Vieira, KVM, Felismino, DC, Dantas, IC. Contaminação fúngica de plantas medicinais utilizadas em chás. Rev Cienc Farm Básica Apl. 2013 34(2):289-293
16. Silva BC, Silva F, Michelin DC. Avaliação da qualidade de amostras de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (Theaceae) comercializadas no município de Araras, SP. Rev Cienc Farm Básica Apl 2013;34(2):245-250.
17. Oliveira F, Akisue G, Akisue MK. Farmacognosia, 1 ed. São Paulo: Atheneu. 1998. 412 p.
18. Oliveira AC, Silva, RS. Challenges in healthcare attention with regard to bacterial resistance: a review. Rev Eletr Enf. 2008 10(1):189-197.
19. Brasil, 1998. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretrizes e normas para a prevenção e o controle das infecções hospitalares: Portaria nº 2616/98. Brasília (DF), 1998. Acesso em 08 de janeiro de 2015. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br> e-legis.
20. Bereket W, Hemalatha K, Getenet B, Wondwossen T, Solomon A, Zeynudin A, Kannan S. Update on bacterial nosocomial infections. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2012 Aug;16(8):1039-1044
21. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. Int J Food Microbiol. 2004 Aug;94:223-53, doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
22. Bupesh G, Nandagopal AS, Ganeshkumar A, Sureshkumar P, Murali KS. Antibacterial activity of *Mentha piperita* L. (peppermint) from leaf extracts—a medicinal plant. Acta Agric Sloven. 2007 Aug;89(1):73-79.
23. Soberón JR, Sgariglia MA, Sampietro DA, Quiroga EM, Sierra MG, Vattuone MA. Purification and identification of antibacterial phenolics from *Tripodanthus acutifolius* leaves. J Appl Microbiol. 2010 May;108(5):1757–1768, doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04579
24. Silva NCC, Fernandes Júnior A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2010 May;16(3):402-413, doi:10.1590/S1678-91992010000300006
25. Silveira LMS, Olea RSG, Mesquita JS, Cruz ALN, Mendes JC. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. Rev Bras Farm. 2009 Mai;90(2):124-128.
26. Bustamante KGL, Lima ADF, Soares ML, Fiuza TS, Trevenzol LMF, Pimenta FC, Paula JR. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto da casca da sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vogel) Fabaceae. Rev Bras Plantas Med. 2010 Abr;12(3):341-345, doi:10.1590/S1516-05722010000300012
27. Weerakkody NS, Caffin N, Turnet MS, Dykes GA. *In vitro* antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. Food Control. 2010 Oct; 21:1408-1414, doi: 10.1016/j.food.2010.04.014
28. Farmacopéia Brasileira, 5ª ed. Brasília: ANVISA, 2010. 2v.

29. Benitez LB, Correa AP, Daroit D, Brandelli A. Antimicrobial activity of *Bacillus amyloliquefaciens* LBM 5006 is enhanced in the presence of *Escherichia coli*. Curr Microbiol. 2011 Mar;62:1017-1022, doi: 10.1007/s00284-010-9814-z
30. Simões CMO. Farmacognosia: da Planta ao Medicamento. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFSC. 2010.1104 p.
31. Yokota AA, Jacomassi E, Laverde Junior A, Takemura OS. Quality evaluation of products with *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek – Celastraceae traded in the city of Umarama – PR. Semina Ciências Biológicas e da Saúde 2010 Jul-Dez;31(2):159-168, doi: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0367.2010v31n2p159>
32. Brandão MGL, Alves RMS, Moreira RA, Oliveira P, Vieira MT, Moreira-Campos LM. Qualidade de amostras comerciais de chás de plantas medicinais. Rev Bras Pl Med. 2002;5(1):56-59.
33. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre, 6ª edição, UFRGS, 2007.
34. Banwart J. Basic Food Microbiology. 2.ed., New York: Van Nostrand Reinhold, Cap.7: Indicator Organism. 1989.
35. Zaroni M, Pontarolo R, Abrahão WSM, Fávero MLD, Correa JrC, Stremel DP. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. Rev Bras Farmacog . 2004 14(1):29-39.
36. Kneifel W, Czech E, Kopp B. Microbial Contamination of Medicinal Plants – A review. Planta Med. 2002 Jan; 68(1):5-15, doi: 10.1055/s-2002-20060
37. Gomes EC, Negrelle RRB, Elpo ERS. Determinação da qualidade microbiológica e físico-química de chás de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (capim-limão). Acta Sci Health Sci. 2008 30(1):47-54, doi: 10.4025/actascihealthsci.v30i1.4396
38. Grüner, JM, Souza TK, Benitez LB, Silva CM. Análise do perfil fitoquímico de *Tripodanthus acutifolius* (Ruiz & Pavón) Tieghem, Loranthaceae. Revista Jovens Pesquisadores 2012 1:9-17, doi: <http://dx.doi.org/10.17058/rjp.v0i1.2860>
39. Ródio C, Vianna DR, Kowalski KP, Panatieri LF, von Poser G, Rott MB. *In vitro* evaluation of the amebicidal activity of *Pterocaulon polystachyum* (Asteraceae) against trophozoites of *Acanthamoeba castellanii*. Parasitol Res. 2008 Dec;104:191–194, doi: 10.1007/s00436-008-1186y
40. Voravuthikunchai SP, Kitpipit L. Activity of medicinal plant extracts against hospital isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect. 2005 Jun;11(6):510-512, doi: 10.1111/j.1469-0691.2005.01104.x
41. Duarte MCT, Figueira GM, Pereira, B, Magalhães PM, Delarmelina C. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. Rev Bras Farmacog 2004; 14:06-08.
42. Kabir OA, Olukaiode O, Chidi EO, Christopher CI, Kehinde AF. Screening of crude extracts of six medicinal plants used in South-West Nigerian unorthodox medicine for anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* activity. BMC Complement Altern Med. 2005 Mar; 5:6, doi: 10.1186/1472-6882-5-6
43. Akinyemi KO, Oladapo O, Okwara CE, Ibe CC, Fasura KA. 2005. *In Vitro* Antimicrobial Activity of Crude Extracts from Plants *Bryophyllum Pinnatum* and *Kalanchoe Crenata*. Afr J Tradit CAM. 2007; 4(3):338–344.
44. Soberón JR, Sgariglia MA, Sampietro DA, Quiroga EN, Vattuone MA. Antibacterial activity of plant extracts from northwest Argentina. J Appl Microbiol. 2007 Jun;102:1450-1461, doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.03229.x
45. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária- Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 6: Detecção e identificação de bactérias de importância médica /Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013; 150p.: il.9 volumes. Acesso em 10 de janeiro de 2015. Disponível em <http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/bU5H>.
46. Hausdorff WP, Feikin DR, Klugman KP. Epidemiological differences among pneumococcal serotypes. Lancet Infect Dis. 2005 Feb;5:83-93, doi: 10.1016/S1473-3099(05)01280-6
47. World Health Organization, World Alliance for Safer Health Care. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care. First Global Patient Safety Challenge Clean Care is Safer Care. Geneva: WHO Press; 2009.
48. Izaías EM, Dellaroza MSG, Rossaneis MA, Belei RA. Custo e caracterização de infecção hospitalar em idosos. Cienc Saude Colet. 2014 Ago;19(8):3395-3402, doi: 10.1590/1413-81232014198.12732013