

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Nataly de Almeida Cossatis

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E VIGILÂNCIA SANITÁRIA
DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS**

Rio de Janeiro

2015

Nataly de Almeida Cossatis

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E VIGILÂNCIA SANITÁRIA
DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Vigilância Sanitária.

Orientador: Victor Augustus Marin

Rio de Janeiro
2015

Catálogo na fonte
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Biblioteca

Cossatis, Nataly de Almeida

Qualidade microbiológica e vigilância sanitária de plantas medicinais brasileiras / Nataly de Almeida Cossatis. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2015.

84 f., il.,

Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) –Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária. Rio de Janeiro, 2015.

Orientador: Victor Augustus Marin

1. Plantas Medicinais 2. Vigilância Sanitária. 3. Controle de Qualidade. 4. Microbiologia. I.
Título

Microbial quality and Health Surveillance Brazilian Medicinal Plants

Nataly de Almeida Cossatis

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E VIGILÂNCIA SANITÁRIA DE
PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Vigilância Sanitária.

Aprovado em 10 / 03 / 2015

BANCA EXAMINADORA

Helena Pereira da Silva Zamith (Doutor)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Luciana de Sousa Lopes (Doutor)
Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia

Shirley de Mello Pereira Abrantes (Doutor)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Victor Augustus Marin (Doutor) - Orientador
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que me ajudaram de alguma forma a realizar este trabalho.

Às meninas da secretaria, Sâmela, Raquel e Jéssica, muito obrigada por toda atenção e ajuda! Agradeço também à coordenadora Kátia pela paciência e ajuda em tudo que precisei!

Às integrantes da banca avaliadora, Luciana Lopes, Shirley Abrantes e Helena Zamith, pela paciência, sugestões e críticas construtivas quanto ao trabalho.

À Hilda, por sempre me ajudar e ensinar, além de me incentivar sempre!

À Joana Angélica, por toda orientação, paciência e suporte, sendo uma mãe para os alunos do laboratório!

Ao Allen Hagler, que foi meu professor na UFRJ e meu primeiro orientador, e sempre me auxiliou desde então.

Ao Victor Marin, pela orientação durante o mestrado para a realização deste trabalho.

Ao meu namorado André Thomé, pelo amor, amizade e felicidade. Por todo suporte que me deu, desde os dias de estudo para a prova de seleção para ingressar no mestrado, até a fase de defesa e entrega deste trabalho. Muito obrigada amor, por todo o seu carinho e dedicação.

A minha tia Sueli, por acreditar e torcer por mim, me incentivando sempre.

A minha irmã Renata, pelo carinho, cuidado e incentivo, por acreditar e torcer por mim sempre.

As minhas amigas de longa data e tão especiais, que fizeram mestrado junto comigo, Mariana Accampora e Camila Bastos. Muito obrigada pela amizade de todos os dias, pelo carinho, ajuda e incentivo! A presença e amizade de vocês sempre foi importantíssima para mim!

Aos meus amigos e parentes que me apoiaram, incentivaram, torceram e torcem por mim.

À CAPES pelo apoio financeiro.

RESUMO

O sistema público de saúde no Brasil ainda não supre completamente as necessidades básicas de saúde da população. Considerando a necessidade de ampliar o atendimento à saúde da população e disponibilizar opções de medicina tradicional e práticas complementares, o governo brasileiro criou políticas e programas de saúde pública para incentivar o uso de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos. Assim, plantas medicinais reconhecidamente eficazes vêm sendo utilizadas no atendimento das necessidades básicas de saúde da população para a cura de uma variedade de doenças e sintomas. Grande parte da população brasileira utiliza plantas medicinais, incluindo pacientes de faixas etárias e grupos de risco diversos, e que muitas vezes residem em locais em precárias condições de saneamento básico. Portanto, as plantas medicinais devem ser produtos de qualidade garantida, para que seu uso seja seguro e não possua riscos à saúde dos consumidores. Neste estudo, 15 amostras de plantas medicinais das espécies *Baccharis trimera*, *Bauhinia forficata* e *Tabebuia avellanadae*, de lotes diferentes e de 4 marcas, compradas na cidade do Rio de Janeiro, foram avaliadas quanto à qualidade microbiológica. A análise consistiu na quantificação dos microrganismos viáveis e na pesquisa de patógenos presentes nas amostras. A escolha dos limites de contaminação microbiana e dos patógenos a serem pesquisados foi realizada com base nas possíveis formas de preparo e uso de plantas medicinais. Foi realizada a quantificação de bactérias aeróbias, bactérias Gram-negativas bile tolerantes e bolores e leveduras viáveis, e a pesquisa dos outros patógenos *Escherichia coli*, espécies de *Salmonella*, espécies de *Shigella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. As plantas medicinais analisadas apresentavam contaminação bacteriana e fúngica variável, onde 93,3% possuía carga de contaminação microbiana acima dos limites de contaminação permitidos para bactérias aeróbias e bolores e leveduras. Adicionalmente, foi identificada a contaminação pelos patógenos *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e bactérias Gram negativas bile tolerantes em 20%, 20%, 46,6% e 100% das amostras, respectivamente. Nenhuma das amostras de plantas medicinais apresentou qualidade sanitária suficiente para ser aprovada para o uso (100% de reprovação), constituindo um problema para a saúde pública, visto que um produto terapêutico contaminado é disponibilizado para uma população que já se encontra enferma, e demonstrando a necessidade de um melhor controle e regulamentação para estes produtos.

Palavras-chave: Microbiologia. Farmacopeia Brasileira. Organização Mundial da Saúde. Controle de Qualidade. Saúde Pública.

ABSTRACT

The public health system in Brazil does not yet supplies completely the population basic needs for health. Considering the necessity to expand the health care and to provide traditional and complementary medicine options, the brazilian government created public health politics and programs to encourage the use of medicinal plants and phytotherapeutic drugs. Thus, medicinal plants admittedly effective have been used for the care of the population's basic needs, to heal a variety of diseases and symptoms. A large portion of the brazilian population use medicinal plants, including a diversity of age and risk group patients, whose many times resides in places with precarious sanitary conditions. Therefore, medicinal plants need to be assured quality products, to be used safely and not bring risks to the user's health. In this study, 15 medicinal plants samples of *Baccharis trimera*, *Bauhinia forficata* and *Tabebuia avellanedae* species, all from different batches from 4 brands, bought in the city of Rio de Janeiro, were evaluated about their microbiological contamination. The assay consisted in the quantification of viable microorganisms and in the search of pathogens present in the samples. The choosing of the microbiologic contamination limits and the pathogens to be searched was made based on the possible preparation methods and use of medicinal plants. Quantification of viable aerobic bacteria, bile tolerant Gram negative bacteria and yeasts and molds, and search of the others pathogens *Escherichia coli*, *Salmonella* species, *Shigella* species, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* were executed. The medicinal plants samples analyzed had variable bacterial and fungal contamination, where 93,3% had microbial contamination load above the allowed contamination limits for aerobical bacteria and yeasts and molds. Additionally, contamination by *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, and bile tolerant Gram negative bacteria were identified in 20%, 20%, 46,6% and 100% of samples, respectively. No samples of medicinal plants had enough sanitary quality to be approved to use (100% disapproval), constituting a public health problem, since a highly contaminated therapeutic product is made available to a population who already is diseased, showing the need of better control and regulation to these products.

Key-words: Microbiology. Brazilian Pharmacopeia. World Health Organization. Quality Control. Public Health

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Plantas medicinais recomendadas pelo SUS.	16
Quadro 2	Interações medicamentosas potenciais observadas entre produtos fitoterápicos e medicamentos sintéticos consumidos por idosos.	26
Figura 1	Esquema da metodologia de verificação da capacidade inibitória de crescimento microbiano.	40
Figura 2	Esquema da metodologia de preparo das placas para contagem de bactérias aeróbias e bolores e leveduras.	42
Figura 3	Esquema da metodologia de pesquisa e quantificação de Bactérias Gram-negativas bile tolerantes.	45
Gráfico 1	Gráfico de percentagem de amostras de plantas medicinais reprovadas pelos testes de contagem de bactérias aeróbias, contagem de bolores e leveduras, contagem de bactérias Gram-negativas bile tolerantes e identificação de outros patógenos de acordo com os limites microbianos para extração a frio.	60
Gráfico 2	Gráfico de percentagem de amostras de plantas medicinais reprovadas pela quantidade de testes (contagem de bactérias aeróbias, contagem de bolores e leveduras, contagem de bactérias Gram-negativas bile tolerantes e identificação de outros patógenos) de acordo com os limites microbianos para extração a frio.	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Interpretação dos resultados do teste quantitativo para bactérias gram-negativas bile tolerantes.	45
Tabela 2	Resultados dos testes de pesquisa de patógenos e quantificação de microrganismos.	58
Tabela 3	Resultados das amostras de acordo com os limites microbianos e patógenos a serem pesquisados para o modo de preparo por processo extrativo a frio.	59
Tabela 4	Resultados das amostras de acordo com os limites microbianos e patógenos a serem pesquisados para o modo de preparo por maceração.	61

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CNPJ	Cadastro Nacional da Pessoa Jurídica
CRF	Conselho Regional de Farmácia
DDT	diclorodifeniltricloroetano
GNBT	Gram-negativa bile tolerante
NOTIVISA	Sistema de Notificações em Vigilância Sanitária
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RENISUS	Relação Nacional de Plantas medicinais de Interesse ao SUS
SUS	Sistema Único de Saúde
UFC	Unidades Formadoras de Colônias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	Histórico das plantas medicinais	11
1.2	Importância das plantas medicinais na saúde	12
1.3	Plantas medicinais no Brasil	14
1.4	Atuação do governo brasileiro	15
1.5	Diferença entre plantas medicinais, drogas vegetais e medicamentos fitoterápicos	18
1.6	Justificativas para o uso de plantas medicinais	20
1.7	Segurança e risco do uso de plantas medicinais	21
1.7.1	Riscos conhecidos causados por plantas medicinais	22
1.7.2	Riscos desconhecidos	24
1.8	Controle de qualidade	27
1.8.1	Controle microbiológico	28
1.8.1.1	Limites de contaminação microbiana e microrganismos patógenos pesquisados	30
1.8.1.2	Microrganismos patogênicos	31
1.9	Espécies escolhidas para o estudo	34
2	JUSTIFICATIVA	36
3	OBJETIVOS	37
3.1	Objetivo geral	37
3.2	Objetivos específicos	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1	Amostragem e preparo das plantas medicinais	38
4.2	Verificação da capacidade inibitória de crescimento bacteriano	39
4.2.1	Procedimentos para a inativação da atividade inibitória	40
4.3	Contagem de microrganismos viáveis totais	41
4.4	Pesquisa de patógenos	43
4.4.1	Pesquisa e quantificação de Bactérias Gram-negativas bile tolerantes	44
4.4.2	Pesquisa e identificação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
4.4.3	Pesquisa e identificação de <i>Staphylococcus aureus</i>	47
4.4.4	Pesquisa e identificação de espécies de <i>Salmonella</i>	49
4.4.5	Pesquisa e identificação de <i>Escherichia coli</i>	51
4.4.6	Pesquisa e identificação de <i>Candida albicans</i>	54
4.4.7	Pesquisa e identificação de espécies de <i>Shigella</i>	54
5	RESULTADOS	56
6	DISCUSSÃO	61
6.1	Incoerências e contradições na Farmacopeia Brasileira	62
6.2	Falha na legislação brasileira de plantas medicinais	64
6.3	Indicadores a partir dos resultados obtidos	65
6.4	Limites escolhidos	66
6.5	Contextualização com outros estudos	67
6.6	Caracterização das empresas responsáveis pelas amostras	68
7	CONCLUSÃO	71
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
	REFERÊNCIAS	73

1 INTRODUÇÃO

1.1 Histórico das plantas medicinais

A história mostra a importância e a ampla utilização de plantas medicinais para o tratamento de doenças, sendo provavelmente o método mais antigo existente que a humanidade usou para lidar com doenças (WHO, 2004). As evidências mais antigas do uso de plantas medicinais podem ser datadas do período Paleolítico, sendo utilizadas pelo homem Neandertal (WINSLOW & KROLL, 1998). Tábuas de argila da Suméria datadas de 5.000 anos listam centenas de plantas medicinais e suas utilizações. A civilização babilônica possuía uma coleção de drogas de origem vegetal e animal, e as utilizavam como soluções, enemas, supositórios, unguentos e comprimidos (GREGORY, 2000). Em 1.500 a.C., os egípcios escreveram o Papiro Ebers, que contém informações sobre mais de 850 plantas medicinais (SUMNER, 2000). Na Índia, a tradição de uso de plantas medicinais possui cerca de 5.000 anos, constituindo um conhecimento denominado Ayurveda – em sânscrito: ayur [vida] veda [ciência] – onde estão incluídos remédios feitos de alimentos e plantas medicinais (MORGAN, 2000). Durante a Idade Antiga, o atendimento à saúde era realizado por sacerdotes e curandeiros que possuíam conhecimento sobre plantas medicinais (LÉVI-STRAUSS, 1989). Na Idade Média, textos de estudos alquímicos relatam a utilização de plantas medicinais e afrodisíacas para elaboração de elixires de longa vida (BERG, 1993). Nesta época, acreditava-se que as doenças possuíam origens sobrenaturais, causadas por punições divinas. Os sacerdotes das cidades e os xamãs das tribos produziam “poções mágicas” de cura utilizando plantas medicinais. Com o tempo, as doenças passaram a ser tratadas de uma forma mais empírica, apesar de ainda precária.

O consumo de plantas medicinais não é algo restrito ao homem, sendo realizado também por animais doentes, que por instinto ingerem estas plantas como forma de se automedicar (FOWLER, KOUTSIONI & SOMMER, 2007; RAMAN & KANDULA, 2008). Durante a Idade Média e Moderna, estudiosos de ocultismo e alquimia descreveram a utilização de uma variedade de plantas para fins terapêuticos e mágicos. Este antigo conhecimento da utilização dessas plantas foi passado por gerações, sendo hoje considerado uma sabedoria popular. Atualmente, as plantas medicinais e seus derivados são comumente utilizados na medicina tradicional popular por todo o mundo para a prevenção e cura de distúrbios, disfunções e doenças. Existindo lado a lado com a medicina moderna, essa

tradição mantém-se por razões culturais e históricas. Os países orientais são os que mais utilizam desta medicina de conhecimento antigo. No Japão, as plantas medicinais nativas da região têm sido classificadas desde a primeira farmacopeia de medicina tradicional japonesa no século XIX (SAITO, 2000). Na China, a população utiliza plantas medicinais em sua medicina tradicional desde a antiguidade. Apesar de compostos animais e minerais também serem utilizados, a principal fonte de remédios na medicina tradicional chinesa são as plantas. Cerca de 5.500 remédios tradicionais estão disponíveis na China, o que constitui aproximadamente um quinto do total de remédios do mercado farmacêutico chinês (HAN, 1988).

1.2 Importância das plantas medicinais na saúde

Na área da saúde, as plantas desempenharam um importante papel, sendo por muito tempo a única fonte de agentes terapêuticos para o homem. Posteriormente, com o desenvolvimento da química farmacêutica, passaram a ser utilizadas como a principal fonte de substâncias para o desenvolvimento de medicamentos (HOSTETTMANN, QUEIROZ & VIEIRA, 2003). São consideradas medicinais, plantas que possuem em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas para fins terapêuticos ou para a síntese de fármacos, enquanto os seus compostos quimicamente ativos que possuem propriedades terapêuticas são denominados princípios ativos (MARTINS *et al.*, 2003). Com a evolução tecnológica, muitos desses medicamentos naturais passaram a ser substituídos por fármacos sintéticos (CAPASSO, 1986).

Apesar desse avanço na produção de medicamentos sintéticos, aproximadamente 66% das drogas utilizadas atualmente são derivadas diretamente de produtos naturais ou desenvolvidas a partir de um composto natural (NEWMAN & CRAGG, 2006). Centenas de princípios ativos de plantas podem ser utilizados para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. A identificação e o isolamento desses princípios ativos são cruciais para a descoberta de novas drogas. Sendo assim, o conhecimento popular pode auxiliar a descoberta de novas drogas, visto que a pesquisa de novos compostos a partir de plantas já indicadas pela sabedoria popular pode reduzir o tempo de procura por compostos de atividade terapêutica, tornando as pesquisas economicamente mais viáveis.

Em 2008, foi identificada uma substância na *Coptis chinensis* (fio de ouro), denominada berberina, que possui forte atividade anti-inflamatória e antibiótica. Acredita-se que este princípio ativo também possua atividades farmacológicas em condições clínicas como diabetes, câncer, depressão, hipertensão e hipercolesterolemia. Este composto é derivado de uma planta que é utilizada pela Medicina Tradicional Chinesa e Ayurveda há mais de 3.000 anos. É importante ressaltar que, sem o conhecimento destas tradições quanto à utilização e propriedades desta planta, dificilmente esta substância seria descoberta (KUO, CHI & LIU, 2004; YAN *et al.*, 2008). Outro estudo identificou um composto na fruta da magnólia laranja, a qual é utilizada pela medicina tradicional para o tratamento de hepatites, tosse, asma e para sedação. Este composto é atualmente denominado *bicyclol*, e está patenteadado em 15 países como medicamento anti-hepatite (PANOSSIAN & WIKMAN, 2008; LU & CHEN, 2009). Em 2009, um estudo realizado com a *Bidens pilosa* mostrou que essa planta possui atividade hipoglicemiante, diminuindo significativamente o nível de glicose sanguínea, estimulando as ilhotas pancreáticas de camundongos e aumentando os níveis plasmáticos de insulina. Assim, é um possível agente para o tratamento de diabetes tipo 2 através da modulação da secreção de insulina e proteção as ilhotas pancreáticas (HSU *et al.*, 2009). Além desses resultados, outro estudo realizado com a *Bidens pilosa* evidenciou um composto, o diol-poliacetileno linear, com propriedades antimalárica e antibacteriana, sendo um composto promissor para tratamento de malária e infecções bacterianas (TOBINAGA *et al.*, 2009).

Apesar de algumas plantas medicinais possuírem propriedades comprovadamente terapêuticas, há uma escassez de estudos nesta área e, conseqüentemente, pouca literatura científica sobre o assunto. Isto, associado à utilização de plantas em rituais religiosos pelas crenças populares podem levar a comunidade científica a adotar uma postura de ceticismo quanto ao uso destas plantas. Apesar disso, vasto conhecimento popular, passado por gerações, não deve ser menosprezado. Generalizar este conhecimento da população como crendice ou misticismo é negar a existência de uma medicina tradicional milenar, utilizada em todos os continentes. Sendo assim, é importante que se valorize esta sabedoria popular ancestral, e se utilize desta para favorecer o avanço das pesquisas científicas nesta área. A utilização dos conhecimentos populares e científicos em conjunto pode trazer grandes benefícios, pois aumentam a possibilidade de descoberta e identificação de novos compostos terapêuticos, favorecendo assim o desenvolvimento de novos fármacos com menor gasto e tempo de pesquisa.

1.3 Plantas medicinais no Brasil

O Brasil, país de extenso território - 8,5 milhões de quilômetros quadrados - possui vários biomas, como mata atlântica, cerrado, pantanal, amazônia e caatinga. Sua diversidade de solos e climas favorece a riqueza e variedade da flora (DIAS, 1995), sendo assim o país com maior diversidade vegetal do mundo, possuindo 55 mil espécies catalogadas, das quais estimam-se que 4 mil sejam usadas com fins medicinais. A maior parte do uso desses vegetais pela população é através da automedicação, pela compra de plantas medicinais em feiras ou lojas de produtos naturais, ou até mesmo pela extração direta dos ecossistemas brasileiros. Essa exploração da flora nativa para a retirada de plantas de uso medicinal tem reduzido drasticamente a população natural destas espécies, visto que a contínua demanda induz uma alta exploração destes ecossistemas. Além disso, a falta de conhecimento da população sobre os mecanismos de perpetuação dessas espécies leva à exploração da flora de forma abusiva, o que aumenta o risco de extinção das espécies coletadas. O plantio doméstico é uma opção sustentável para a redução do extrativismo nesses ecossistemas (MARTINS, MARTINS & DIAS, 2001).

A sabedoria das propriedades de plantas medicinais brasileiras é uma das maiores riquezas culturais de origem indígena, constituindo um conhecimento milenar que passa de geração em geração. Os indígenas se utilizam da flora medicinal para a produção de remédios que são utilizados a partir de diferentes métodos, sendo esta prática realizada de acordo com sua visão e conceito das doenças e as suas causas. Este conhecimento indígena, associado ao conhecimento europeu trazido durante a colonização do Brasil, constitui grande parte do vasto conhecimento popular brasileiro atual, que não se limita às indicações de uso das plantas, englobando também o modo de plantio, de coleta, período de coleta, parte da planta que deve ser utilizada e modo de preparo para o uso eficiente. Existem diversas formas de uso dessas plantas, como pela ingestão de poções (solução onde são agregados extratos, tinturas ou outros ingredientes), inalação (combinação de vapor d'água com substâncias voláteis de plantas aromáticas), aplicação de unguentos e pomadas (preparado pela mistura do extrato da planta com vaselina ou lanolina), ingestão de xaropes (extrato da planta dissolvido em água e açúcar aquecidos) e outros.

1.4 Atuação do governo brasileiro

Durante a 10ª Conferência Nacional de Saúde, em 1996, foi proposta a incorporação de terapias alternativas e práticas populares ao Sistema Único de Saúde (SUS), incentivando principalmente a utilização de plantas medicinais e medicamentos homeopáticos na assistência farmacêutica pública (BRASIL, 2006a). Em 2005, a Secretaria de Ciência Tecnologia e Insumos Estratégicos, através do Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos, em parceria com outros ministérios e com a colaboração de consultores e pesquisadores, construiu uma lista contendo espécies de plantas. Esta lista foi elaborada considerando as espécies já utilizadas nos serviços de saúde estaduais e municipais, o conhecimento tradicional e os estudos químicos e farmacológicos disponíveis. Em 2008, com o auxílio deste documento, foi construída a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) (BRASIL, 2009a) com a finalidade de subsidiar o desenvolvimento de toda a cadeia produtiva e atuar na regulamentação, cultivo, manejo, produção, comercialização e dispensação de plantas medicinais e fitoterápicos, tendo também função de orientar estudos e pesquisas para o desenvolvimento e inovação na área (TOMAZZONI, NEGRELLE & CENTA, 2006). A RENISUS é constituída por 90 espécies de plantas medicinais, que estão listadas no Quadro 1 na página a seguir.

Com recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS) e de várias Conferências Nacionais de Saúde, em 2006, foram aprovadas no Brasil duas políticas para o setor de plantas medicinais e de fitoterápicos. A primeira foi a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS, aprovada pela Portaria Ministerial MS/GM 971/2006 (BRASIL, 2006a), visando atender à necessidade de se conhecer, apoiar, incorporar e implementar práticas integrativas e complementares no SUS, destacando-se entre elas a Medicina Tradicional Chinesa-Acupuntura, Homeopatia, Fitoterapia, Medicina Antroposófica e Termalismo-Crenoterapia, com a perspectiva de prevenir agravos e promover a manutenção e recuperação da saúde, com atenção humanizada e centrada na integralidade do indivíduo (BRASIL, 2006b). A segunda foi a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, aprovada pelo Decreto nº 5.813 (BRASIL, 2006c), determinando rumos e linhas estratégicas de atuação governamental visando garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, além de promover o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006d).

Quadro 1: Plantas medicinais recomendadas pelo SUS.

Nº	Espécie	Nº	Espécie
1	<i>Achillea millefolium</i>	46	<i>Mentha pulegium</i>
2	<i>Allium sativum</i>	47	<i>Mentha crispa</i>
3	<i>Aloe vera</i>	48	<i>Mentha piperita</i>
4	<i>Aloe barbadensis</i>	49	<i>Mentha villosa</i>
5	<i>Alpinia zerumbet</i>	50	<i>Mikania glomerata</i>
6	<i>Alpinia speciosa</i>	51	<i>Mikania laevigata</i>
7	<i>Anacardium occidentale</i>	52	<i>Momordica charantia</i>
8	<i>Ananas comosus</i>	53	<i>Morus sp</i>
9	<i>Apuleira ferrea</i>	54	<i>Ocimum gratissimum</i>
10	<i>Arrabidaea chica</i>	55	<i>Orbignya speciosa</i>
11	<i>Artemisia absinthium</i>	56	<i>Passiflora alata</i>
12	<i>Baccharis trimera</i>	57	<i>Passiflora edulis</i>
13	<i>Bauhinia affinis</i>	58	<i>Passiflora incarnata</i>
14	<i>Bauhinia forficata</i>	59	<i>Persea gratissima</i>
15	<i>Bauhinia variegata</i>	60	<i>Persea americana</i>
16	<i>Bidens pilosa</i>	61	<i>Petroselinum sativum</i>
17	<i>Calendula officinalis</i>	62	<i>Phyllanthus amarus</i>
18	<i>Carapa guianensis</i>	63	<i>Phyllanthus niruri</i>
19	<i>Casearia sylvestris</i>	64	<i>Phyllanthus tenellus</i>
20	<i>Chamomilla recutita</i>	65	<i>Phyllanthus urinaria</i>
21	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	66	<i>Plantago major</i>
22	<i>Copaifera spp</i>	67	<i>Plectranthus barbatus</i>
23	<i>Cordia curassavica</i>	68	<i>Polygonum acre</i>
24	<i>Cordia spicatus</i>	69	<i>Polygonum hydropiperoides</i>
25	<i>Croton cajucara</i>	70	<i>Portulaca pilosa</i>
26	<i>Croton zehntneri</i>	71	<i>Psidium guajava</i>
27	<i>Curcuma longa</i>	72	<i>Punica granatum</i>
28	<i>Cynara scolymus</i>	73	<i>Rhamnus purshiana</i>
29	<i>Dalbergia subcymosa</i>	74	<i>Ruta graveolens</i>
30	<i>Eleutherine plicata</i>	75	<i>Salix alba</i>
31	<i>Equisetum arvense</i>	76	<i>Schinus terebinthifolius</i>
32	<i>Erythrina mulungu</i>	77	<i>Solanum paniculatum</i>
33	<i>Eucalyptus globulus</i>	78	<i>Solidago microglossa</i>
34	<i>Eugenia uniflora</i>	79	<i>Stryphnodendron adstringens</i>
35	<i>Foeniculum vulgare</i>	80	<i>Stryphnodendron barbatimam</i>
36	<i>Glycine max</i>	81	<i>Syzygium jambolanum</i>
37	<i>Harpagophytum procumbens</i>	82	<i>Syzygium cumini</i>
38	<i>Jatropha gossypifolia</i>	83	<i>Tabebuia avellanedeae</i>
39	<i>Justicia pectoralis</i>	84	<i>Tagetes minuta</i>
40	<i>Kalanchoe pinnata</i>	85	<i>Trifolium pratense</i>
41	<i>Lamium album</i>	86	<i>Uncaria tomentosa</i>
42	<i>Lippia sidoides</i>	87	<i>Vernonia condensata</i>
43	<i>Malva sylvestris</i>	88	<i>Vernonia ruficoma</i>
44	<i>Maytenus aquifolium</i>	89	<i>Vernonia polyanthes</i>
45	<i>Maytenus ilicifolia</i>	90	<i>Zingiber officinale</i>

Quadro adaptado de BRASIL, 2009a.

Em 9 de dezembro de 2008, foi criado o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos através da Portaria Interministerial nº 2.960 (BRASIL, 2008). Em conformidade com as diretrizes e linhas prioritárias da Política Nacional, possui diversas diretrizes para a regulamentação, produção, cultivo, comercialização, pesquisa, desenvolvimento de metodologias e tecnologias e controle de qualidade de plantas medicinais e fitoterápicos. Ainda, estabelece os gestores das ações, os Ministérios e órgãos envolvidos, os prazos e origem dos recursos orçamentários. A Fundação Oswaldo Cruz se encontra entre as entidades participantes, sendo responsável funções como incentivar o desenvolvimento e a implantação de linhas de pesquisa e áreas de concentração relacionadas à plantas medicinais e fitoterápicos nos cursos de pós-graduação, e estimular o desenvolvimento nacional de equipamentos e tecnologias necessários à garantia e ao controle de qualidade na produção de plantas medicinais e fitoterápicos (BRASIL, 2009b). Em 2009 foi criado o Sistema Nacional de Notificações para a Vigilância Sanitária (NOTIVISA), um banco de dados de farmacovigilância informatizado na internet desenvolvido para receber as notificações de incidentes, eventos adversos e queixas técnicas relacionados ao uso de produtos e de serviços sob vigilância sanitária. Onde as notificações são feitas por profissionais de saúde ou usuários cadastrados, através de formulários de notificação padronizados (BRASIL, 2009c).

Considerando a necessidade da ampliação de oferta de fitoterápicos e plantas medicinais para o atendimento das necessidades locais, juntamente com aprovação das políticas integrativas no SUS, em abril de 2010 o Ministério da Saúde instituiu as Farmácias Vivas no SUS, através da Portaria Nº 886 (BRASIL, 2010a). As Farmácias Vivas foram planejadas com o intuito de melhorar a assistência à saúde da população local, sendo organizadas para produzir fitoterápicos e plantas medicinais de qualidade, com garantia de segurança e eficácia, oferecendo uma opção terapêutica para que seja possível atender a demanda da atenção básica, nos casos de enfermidades que possam ser tratadas com plantas medicinais. Os fitoterápicos e plantas medicinais produzidos pelas Farmácias Vivas são derivados de espécies validadas, as quais são cultivadas de acordo com a necessidade de abastecimento local. Além do cultivo, as Farmácias Vivas são responsáveis por todo o processo de coleta, processamento, armazenamento, manipulação e dispensação, sendo vedada a comercialização de suas plantas e fitoterápicos. Em 2013 foi aprovada a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº18 sobre as boas práticas a serem tomadas pelas Farmácias Vivas para a garantia de plantas medicinais de qualidade (BRASIL, 2013).

Apesar da aprovação de políticas e programas, a atuação do governo no papel de educar e estimular a população quanto ao uso consciente das plantas medicinais ainda ocorre de forma precária. Uma pesquisa realizada em 2008, no município de Nova Friburgo (RJ), apontou que um percentual muito pequeno da população consome estes produtos através de prescrição médica (3,1%) ou por indicação de agentes de saúde (1,1%), somando um total de apenas 4,2%. A maior parte do consumo de plantas medicinais é através do conhecimento popular, passado de geração em geração pela família ou por pessoas próximas (90,1%). Além disso, a indicação de plantas por mateiros e rezadeiras constitui 5,4%, percentual maior que o de indicação por profissionais graduados na área de saúde. Já a indicação por padres e pastores é de apenas 0,4% (VEIGA JUNIOR, 2008).

1.5 Diferença entre plantas medicinais, drogas vegetais e medicamentos fitoterápicos

No tema sobre plantas medicinais, há uma confusão destas com chás, drogas vegetais e medicamentos fitoterápicos. Esta confusão ocorre devido à variedade de conceitos e classificações que existem para alimentos e medicamentos.

As plantas medicinais não se enquadram na definição de alimentos, visto que alimentos são produtos destinados a fornecer nutrientes para a formação, manutenção e desenvolvimento do organismo humano. Também não se enquadram como chás, pois estes estão incluídos em alimentos. Além disso, alimentos não podem possuir indicação terapêutica (BRASIL, 1969). Quanto aos produtos vegetais com finalidades terapêuticas, estes são definidos por conceitos apresentados por legislação específica:

Matéria-prima vegetal

Lei Federal nº. 6.360/1976

Art. 4º [...] Inciso XII - matéria-prima vegetal: compreende a planta medicinal, a droga vegetal ou o derivado vegetal. (BRASIL, 1976)

Planta Medicinal

Resolução RDC nº. 10/2010

Art. 3º [...] Inciso XII - planta medicinal: espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos. (BRASIL, 2010b)

Drogas Vegetais

Resolução RDC nº. 10/2010

Art. 3º [...] Inciso V- droga vegetal: planta medicinal ou suas partes, que contenham as substâncias, ou classes de substâncias, responsáveis pela ação terapêutica, após processos de coleta ou colheita, estabilização, secagem, podendo ser íntegra, rasurada ou triturada, relacionada no Anexo I dessa Resolução. (BRASIL, 2010b)

Medicamentos Fitoterápicos

Resolução RDC nº. 17/2010

Art. 5º [...] Inciso XXXIV - medicamento fitoterápico: medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança são validadas por meio de levantamentos etnofarmacológicos, de utilização de documentações tecnocientíficas ou evidências clínicas. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais. (BRASIL, 2010c).

Considerando apenas estas informações, conclui-se que plantas medicinais e drogas vegetais são o mesmo produto. Entretanto, existe uma diferença entre esses produtos, que não se trata do produto em si, mas sim das suas informações apresentadas na embalagem. A RDC nº 10/2010 informa que as drogas vegetais devem apresentar na embalagem ou no folheto informativo as informações sobre as formas de uso tradicionais, alegação terapêutica, contra indicações, restrições de uso e efeitos adversos, além de apresentar o nome do farmacêutico responsável, seu respectivo número do Conselho Regional de Farmácia (CRF) e outras informações. Já quanto às plantas medicinais, nenhuma destas informações são apresentadas nas embalagens dos produtos. Isto ocorre porque há uma lei de nº 5.991 de 1973 que informa em seu Artigo 7º que “A dispensação de plantas medicinais é privativa das farmácias e ervanarias, observados o acondicionamento adequado e a classificação botânica” (BRASIL, 1973). Assim, os produtores de plantas medicinais comercializam seus produtos com base neste único artigo desta antiga lei de 1973, não sendo obrigados a apresentar estas importantes informações que são requisitadas para as drogas vegetais. Portanto, a presença e a ausência da requisição destas informações é o que diferencia as drogas vegetais das plantas medicinais, respectivamente.

1.6 Justificativas para o uso de plantas medicinais

Nas últimas décadas, tem-se verificado um aumento mundial na utilização de plantas medicinais e seus produtos derivados com finalidades terapêuticas. A utilização de plantas na prevenção, cura ou minimização dos sintomas de doenças é uma tendência influenciada por fatores econômicos, sociais e culturais. Atualmente o uso destes produtos pela população brasileira é bastante difundido e presente, e o conhecimento da utilização das plantas medicinais é constituído não apenas por um saber local preservado que é utilizado de acordo com a cultura e os costumes da população, como também pelas orientações das Unidades Básicas de Saúde (BRUNING, MOSEGUI & VIANNA, 2012). A população que busca atendimento nas Unidades Básicas de Saúde e utiliza plantas medicinais com fins terapêuticos desconhece, muitas vezes, a possível existência de efeitos tóxicos e casos de contra indicação.

Existe uma crença de que a utilização de plantas medicinais não causa nenhum efeito prejudicial, sob o lema de que “o que é natural não faz mal”. Esta crença é amplamente difundida na população, sendo uma justificativa para o uso de plantas medicinais por serem medicamentos muito seguros e sem risco de produzirem reações adversas, o que é um argumento incorreto (MARQUES, 2001). Este pensamento é considerado verdadeiro mesmo com o conhecimento sobre plantas que podem causar enfermidades, como as venenosas e as alergênicas. Como exemplo, a “comigo-ninguém-pode” (*Dieffenbachia seguine*) bem conhecida pela população por causar reações alérgicas intensas. Outro ditado popular é o de que “se está sendo usado há muito tempo, não pode fazer mal”. Quanto à este, também é uma afirmação incorreta, pois deve-se atentar que, mesmo que uma planta medicinal seja utilizada desde a antiguidade, não se pode afirmar que esta não faz mal a saúde nos dias atuais, visto que o estilo de vida, os hábitos alimentares e culturais da sociedade atual são completamente diferentes daqueles dos povos antigos. Além disso, utilização de plantas medicinais concomitantemente com medicamentos alopáticos pode trazer riscos desconhecidos à saúde, pela possibilidade de reações sinérgicas ou antagonicas entre estas substâncias, causando efeitos indesejados (WONG & CASTRO, 2003).

A utilização de plantas medicinais e seus medicamentos derivados por grande parte da população ocorre devido ao tratamento ser de baixo custo, sendo assim financeiramente mais acessível (MIGUEL & MIGUEL, 1999 *apud* TOLEDO *et al.*, 2003), aos avanços na área científica que permitiram o desenvolvimento de alguns produtos naturais reconhecidamente seguros e eficazes e à crescente busca por terapias menos agressivas (YUNES, PEDROSA &

CECHINEL FILHO, 2001). Nos países em desenvolvimento, a utilização de plantas medicinais ocorre devido à tradição e à ausência de alternativas econômicas viáveis, enquanto nos países mais desenvolvidos, o uso é estimulado por um modismo de consumo de produtos naturais. No Brasil, há um conjunto de justificativas que levam a população a utilizar estes produtos. Apesar de ainda serem escassos os estudos realizados para a confirmação científica do potencial medicinal das plantas, a população brasileira as utiliza pelo conhecimento popular, através de chás, emplastos, pomadas caseiras, banhos e outros. Esse uso ocorre, muitas vezes, de forma independente da confirmação de eficiência terapêutica da espécie vegetal.

Em 2013, um estudo publicado por Soares e colaboradores evidenciou de forma clara o pensamento da população brasileira quanto à utilização de plantas medicinais. Indivíduos entrevistados justificaram o uso de plantas medicinais com os seguintes argumentos: “Eu sempre usei plantas medicinais, e você tem que acostumar as crianças a utilizá-las desde pequenas. As plantas sempre funcionaram para mim, e eu vou ao médico apenas quando não há nenhum outro jeito. Os medicamentos que você compra em drogarias te ajudam por um lado, mas te prejudicam por outro”; “Eu sempre usei plantas medicinais e também medicamentos convencionais, mas eu acho que é melhor usar plantas medicinais. Nós confiamos que isto [a planta] irá produzir o efeito esperado” e; “Um amigo indicou esta planta para mim, mas as plantas medicinais nunca fazem nenhum mal. Meu avô também as utiliza”. Estas respostas apresentam de forma clara como a população acredita que as plantas medicinais são produtos seguros e eficazes.

I.7 Segurança e risco do uso de plantas medicinais

Devido à atual grande procura por plantas medicinais ou produtos derivados, é necessária uma investigação de como estes produtos estão sendo oferecidos ao consumidor. Apesar de diversos estudos terem confirmado o efeito terapêutico de muitas plantas (FENELL *et al.*, 2004), a falta de padronização, a baixa qualidade, a adulteração e a incorreta utilização destes produtos comprometem a sua eficácia terapêutica, além de trazerem risco à saúde do consumidor (MELO *et al.*, 2007). Além disso, erros de diagnóstico, identificação incorreta de espécies de plantas e o preparo e dosagem incorretos podem ser perigosos, podendo levar a superdosagens, ineficiência terapêutica e reações adversas (WHO, 2002). O mau uso das

plantas medicinais pode comprometer também a eficácia de tratamentos convencionais, podendo reduzir ou potencializar seus efeitos e trazer reações indesejadas (CAPASSO *et al.*, 2000).

A RENISUS apresenta uma variedade de plantas medicinais para o uso popular, muitas das quais são utilizadas para a produção de fitoterápicos com registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). As plantas medicinais são obtidas pela população não apenas pelo cultivo próprio, como também pela comercialização destas *in natura* ou processadas, a granel ou embaladas. Estas plantas medicinais, além de não necessitarem de registro para a venda, são disponibilizadas apenas com informações sobre o nome popular e científico da espécie, não havendo uma exigência para informações quanto o modo de uso, indicações, dosagem e contra indicações. É importante ressaltar isso, visto que existem plantas medicinais que podem ser tóxicas em determinadas concentrações e formas de uso, havendo também a possibilidade de causar efeitos desconhecidos pela interação com medicamentos ou alimentos, ou ainda, efeitos relacionados à características do paciente, como idade, sexo, condições fisiológicas, genética, entre outros. Dessa forma, a ausência da requisição de informações na embalagem ou em um folheto informativo traz um potencial risco à saúde dos consumidores. Além disso, os efeitos adversos das plantas medicinais também podem advir da contaminação por agrotóxicos, metais pesados e microrganismos, ou por adulterações propositais e não declaradas, com substâncias farmacêuticas como corticoides, antidepressivos e anorexígenos (WHO, 2004). A avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil é escassa e inicial, carecendo de pesquisas e de controle da comercialização (VEIGA JUNIOR, PINTO & MACIEL, 2005).

I.7.1 Riscos conhecidos causados por plantas medicinais

Dentre os possíveis efeitos adversos conhecidos causados pelo uso de plantas medicinais, estão os efeitos teratogênicos, embriotóxicos e abortivos, devido alguns compostos das plantas poderem atravessar a placenta e chegar ao feto (BRASIL, 2002). Assim, o uso indiscriminado de plantas medicinais por gestantes é um problema de saúde pública, visto que estas podem fazer uso das plantas medicinais sem saberem os possíveis efeitos causados pela planta, com a possibilidade de também haver interação entre os compostos da planta e medicamentos alopáticos consumidos pela gestante, ou até efeitos da

própria planta que são desconhecidos pela sabedoria popular. O estudo de Veiga, Pinto e Maciel, de 2005, indica que algumas plantas medicinais podem estimular a motilidade uterina e provocar o aborto. Entre elas estão a angélica (*Angelica archangelica*) usada por sua atividade anti-coagulante; a sucuúba (*Himanthus sucuba*) usada no combate a amebíases, úlcera e gastrite; o alecrim (*Rosmarinus officinales*) que apresenta propriedades estimulantes, antioxidantes, antiespasmódicas, anti-sépticas, antifúngicas e antibacterianas (ADIGUZEL *et al.*, 2005); a arnica (*Arnica montana*) utilizada de forma tópica em contusões, entorces, hematomas e distensões musculares; a cânfora (*Cinnamomum canphora*) muito utilizada por suas propriedades anti-sépticas e sedativas; o confrei (*Symphytum officinale* L.) usado em úlceras, psoríase, queimaduras e fissuras; o eucalipto (*Eucalyptus globulus*) usado em inflamações pulmonares e mucosidade excessiva e o sene (*Cassia angustifolia* e *Cassia acutifolia*) usado como laxante.

Estudos mostraram que a arruda (*Ruta graveolens*) possui atividade anti-helmíntica, anti-hemorragica, antiespasmódica, porém também estimula fortes contrações uterinas, sendo abortiva e contra indicada durante a gravidez (MATOS, 2000; SOUSA *et al.*, 2004). Seu extrato aquoso também tem efeito embriotóxico e teratogênico (GONZALES *et al.*, 2006). Estes estudos são de grande importância, visto que a arruda é uma planta medicinal muito conhecida pela população brasileira, consumida em chás e utilizada em rituais religiosos, cabendo aos profissionais da área de saúde informar à população sobre o risco da utilização da arruda e de outras plantas medicinais abortivas durante a gravidez. Plantas laxantes antranóides, como aloe (*Aloe vera*), cáscara (*Rhamnus purshiana*), frangula (*Rhamnus frangula*) e ruibarbo (*Rheum rhabarbarum*) são consideradas seguras, entretanto um estudo aponta que estes vegetais, caso consumidos por período prolongado (10-30 anos), podem induzir efeitos mutagênicos e aumentar o risco de câncer colo-retal (ERNST & PITTLER, 2002).

As plantas medicinais também são muito utilizadas pela população com a finalidade de perda de peso e tratamento de obesidade. A efedra (*Ephedra sinica*), a fava-do-mar (*Fucus vesiculosus*) e a malabar tamarindo (*Garcinia combogia*), são amplamente utilizadas como coadjuvantes no tratamento da obesidade, entretanto, foram notificadas ocorrências de taquicardia pela utilização das duas primeiras – além do *Fucus* também ser citado como causador de hipertireoidismo – enquanto que a terceira recebeu uma notificação considerada grave pela ANVISA, visto que esta planta está relacionada a efeitos adversos como aplasia medular, infecção da orofaringe, pneumonia e hemorragia seguida de óbito (BALBINO &

DIAS, 2010). Entretanto, são poucas as notificações sobre reações adversas relacionadas aos produtos naturais, possivelmente pelo desinteresse da população em notificar os órgãos responsáveis pela farmacovigilância.

1.7.2 Riscos desconhecidos

De acordo com a Lei nº 5.991/73, as plantas medicinais podem ser comercializadas em farmácias e ervanárias, não necessitando de registro, devendo apenas serem acondicionadas de forma adequada e portando a classificação botânica (BRASIL, 1973). Apesar da OMS possuir diretrizes exigindo que nos rótulos das embalagens de produtos terapêuticos haja informações sobre indicação, modo de uso, precauções e efeitos adversos (quando houver) (WHO, 2007), estas informações não são legalmente exigidas para plantas medicinais comercializadas no Brasil. Assim, seguindo o que é requisitado, plantas medicinais são disponibilizadas para a população como produtos terapêuticos, sem que haja a indicação de seu uso medicinal, contra indicações ou forma de uso. Estas plantas podem ser encontradas em lojas de produtos naturais, sendo vendidas em embalagens plásticas contendo nome científico e popular apenas. Além disso, consumidores compram estes produtos para diversos fins, como preparação de poções, chás, pomadas, emplastos, banhos, óleos e outros, sendo assim utilizados por via oral e tópica. Dentre os consumidores destes produtos estão indivíduos saudáveis, indivíduos doentes, pacientes imunodeficientes, gestantes, crianças e idosos. Outro sério fator de risco – englobando não apenas crianças e idosos, mas também gestantes e pacientes com doenças crônicas – é devido a algumas plantas poderem causar efeitos metabólicos não desejáveis, que não serão informados no rótulo da embalagem, visto que não há esta exigência.

O uso de combinações de plantas medicinais para o tratamento de doenças é muito comum na medicina tradicional. A atuação sinérgica dos princípios ativos é responsável pelos efeitos benéficos dessas combinações. Entretanto, a maioria dos princípios ativos das plantas medicinais é desconhecida, enquanto que os poucos princípios ativos conhecidos muitas vezes não possuem seus mecanismos de ação completamente identificados, não se conhecendo seus possíveis efeitos. Com o atual uso de medicamentos alopáticos pela população, a utilização de uma ou mais plantas medicinais pode trazer reações adversas indesejadas, pela possibilidade dos componentes químicos das plantas e dos medicamentos alopáticos interagirem entre si de

forma sinérgica ou antagônica, gerando efeitos desconhecidos. Por exemplo, pode-se citar o caso de um paciente de 40 anos que por dois meses já usava medicamento para controle de ansiedade e distúrbios do sono (lorazepam) – sem ocorrer efeitos adversos – e após quatro dias ingerindo comprimidos de valeriana (*Valeriana officinalis*) e maracujá (*Passiflora incarnata*), surgiram fortes tremores nas mãos, tonturas e palpitações, seguidos por uma sonolência intensa. O diagnóstico foi atribuído a um possível sinergismo entre os medicamentos (ALEXANDRE, BAGATINI & SIMÕES, 2008a).

Alguns estudos vêm sendo realizados para avaliar as possíveis interações entre plantas medicinais e medicamentos, nos quais foram observados o aumento do efeito dos medicamentos diuréticos pelo dente-de-leão (*Taraxacum officinale*), da atividade de anti-depressivos pela erva-de-São-João (*Hypericum perforatum*), dos efeitos hipnóticos e ansiolíticos pelo maracujá (*Passiflora incarnata*) e interações dos extratos a base de alho (*Alho sativum*) com os medicamentos que compõem o coquetel anti-HIV (NEWALL, ANDERSON & PHILLIPSON, 1996; PISCITELLI, 2002; CORDEIRO, CHUNG & SACRAMENTO, 2005; ALEXANDRE, BAGATINI & SIMÕES, 2008b).

As reações adversas relacionadas a interações entre os compostos das plantas e os medicamentos alopáticos é um problema de grande importância para os idosos, que em geral convivem com um grande número de doenças e utilizam uma alta quantidade de medicamentos, aumentando assim os riscos de interações medicamentosas (BRUNO & ELLIS, 2005). O quadro da página seguinte (Quadro 2) apresenta potenciais interações medicamentosas, de acordo com os sintomas relatados por pacientes idosos que consumiram fitoterápicos acompanhados de medicamentos sintéticos. É importante salientar que, diferentemente dos fitoterápicos, as plantas medicinais não necessitam de registro na ANVISA e nem de informações importantes no rótulo para serem comercializadas. Isto cria riscos em potencial, visto que é possível haver interação medicamentosa e consumo de forma errônea ou contra indicada.

A substituição do medicamento alopático pela planta medicinal é outro problema advindo da falta de informação, ocorrendo principalmente em áreas rurais, onde a população possui menor condição financeira e maior facilidade de obter tais plantas. Esta substituição também pode ocorrer quando os pacientes julgam que o tratamento com medicamentos alopáticos não está apresentando efeito, sendo assim uma substituição perigosa, visto que existem doenças crônicas que exigem tratamentos por longos períodos de tempo, o que faz o paciente acreditar que o medicamento não está sendo eficiente (VEIGA JUNIOR, 2008).

Quadro 2: Interações medicamentosas potenciais observadas entre produtos fitoterápicos e medicamentos sintéticos consumidos por idosos.

Nome Popular	Nome Científico	Uso Tradicional	Interação com Fármaco	Efeitos Adversos
Castanha da Índia	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Varizes, edemas dos membros inferiores e hemorróidas.	Ticlopidina e ácido acetilsalicílico	Aumento do efeito antiagregante ou antiplaquetário
Espinheiro-branco	<i>Crataegus oxyacantha</i>	Problemas cardíacos	Hidroclorotiazida	Diminuição da pressão arterial, ocorrência de hemorragias
Ginkgo	<i>Ginkgo biloba</i>	Desordens da memória, distúrbios de atenção, diminuição da capacidade auditiva, vertigens e labirintite	Ácido acetilsalicílico, varfarina, ticlopidina, hidroclorotiazida, clortalidona e fenitoína	Aumento do tempo de sangramento, elevação da pressão arterial
Isoflavonas de soja	<i>Glycine max</i>	Ondas de calor e sudorese, controle da hipercolesterolemia	Estriol, levotiroxina sódica	Aumento do efeito do estrógeno, diminuição da absorção da tiroxina
Plantago	<i>Plantago ovata</i>	Constipação, perda de peso	Levotiroxina sódica	Diminuição da absorção da tiroxina
Sene	<i>Senna alexandrina</i>	Constipação, gases, fissura anal, hemorroidas	Dipirona sódica e hidroclorotiazida	Nefropatia e aumento da espoliação de potássio
Valeriana	<i>Valeriana officinalis</i>	Agitação, insônia	amitriptilina	Aumento do efeito sedativo da valeriana

Quadro adaptado de MARLIERE *et al.*, 2008 e BALBINO & DIAS, 2010.

1.8 Controle de qualidade

O controle de qualidade é um conceito muito abrangente que cobre questões que influenciam a qualidade de um produto. Pode-se dizer que o controle de qualidade é a totalidade de medidas tomadas com a finalidade de assegurar a qualidade de um produto de acordo com a sua necessidade. Diferentes produtos possuem diferentes necessidades de qualidade (WHO, 2007). Portanto, é importante considerar qual a via de administração do produto e quais são os potenciais consumidores. Sendo assim, produtos voltados para saúde devem sempre ter um controle de qualidade rigoroso, visto que os consumidores podem ser pacientes já debilitados por doenças. O controle de qualidade também deve ser mais rígido se o produto for consumido por crianças, idosos e gestantes. Segundo a OMS, o produtor deve assumir a responsabilidade pela qualidade do produto para assegurar que são adequados para o uso proposto, não colocando o consumidor em risco por eficácia, qualidade ou segurança inadequadas (WHO, 2007).

Boas práticas de fabricação são parte das medidas a serem tomadas para a garantia de qualidade, a qual assegura que o produto foi produzido de forma apropriada para seu uso. Para a produção de plantas medicinais, a OMS recomenda a execução de várias medidas de boas práticas, como exemplos: a não utilização de fezes humanas como fertilizantes, a realização de uma compostagem cuidadosa dos adubos e o cuidado no descarte de esgoto em áreas agrícolas. Entretanto, durante o processamento industrial das plantas medicinais, muitas vezes as boas práticas e o controle de qualidade não são executados corretamente, o que permite uma potencial contaminação do vegetal, podendo ser quanto à composição química do produto, à presença de herbicidas e agrotóxicos e ao nível de contaminação microbiológica. Dessa forma, um produto potencialmente contaminado é colocado à disposição da população como forma de tratamento terapêutico, sendo um risco à saúde pública. O processamento pouco higiênico constitui um problema a ser vencido, sendo necessária a atuação efetiva das autoridades competentes, visando a fiscalização, vigilância e controle de qualidade dos produtos vegetais comercializados, garantindo para a população uma alternativa terapêutica segura e de boa qualidade (BRANDÃO, FREIRE & VIANNA-SOARES, 1998).

A contaminação em plantas medicinais pode ser classificada em contaminação físico-química e contaminação biológica, sendo que as substâncias contaminantes devem ser evitadas e controladas através de medidas que garantam a qualidade da planta. A

contaminação físico-química pode ocorrer pela presença de metais tóxicos, poluentes orgânicos persistentes (por exemplo o DDT), radiação, toxinas biológicas (produzidas por bactérias e fungos), solventes orgânicos (acetona, metanol, etanol, butanol) e resíduos agroquímicos (inseticidas, herbicidas, fungicidas, agentes químicos e antivirais). Os contaminantes biológicos podem ser bactérias, fungos, parasitas (protozoários e helmintos), insetos e partes de insetos, ácaros, minhocas e urina de animais (WHO, 2011).

1.8.1 Controle microbiológico das plantas medicinais

O controle microbiológico das plantas medicinais é indispensável para garantir a qualidade do produto e minimizar os riscos para o consumidor. As plantas possuem uma grande variedade de fungos e bactérias em sua microbiota natural, sendo portanto esperado que parte destes microrganismos sejam encontrados no produto final. Entretanto, durante as etapas de pré e pós-colheita destes vegetais, uma maior carga microbiana pode ser adicionada às plantas. Na pré-colheita, diversos fatores podem causar o aumento da contaminação. Microrganismos podem ser transmitidos para a planta diretamente do solo, o qual possui uma alta carga e diversidade microbiana. Quando estes vegetais são plantados em solos com adubos, há um maior risco de contaminação, visto que adubos não compostados de forma adequada são fonte de bactérias entéricas que facilmente contaminam o vegetal tornando-o impróprio para consumo. A utilização de água na irrigação das plantações também requer atenção, pois a água também pode possuir uma alta carga de microrganismos. Assim, a qualidade da água usada na irrigação é imprescindível, pois, mesmo em plantações adubadas de forma correta, a irrigação com água imprópria pode levar a contaminação de toda uma plantação, causando grande perda para o produtor, e sendo um risco para população caso as plantas sejam comercializadas. Outros fatores, como a poeira, os insetos, os animais silvestres e domésticos e a má manipulação pelo homem também são responsáveis pela contaminação microbiana. Esta contaminação ainda pode ser intensificada com o tempo devido à possível multiplicação dos microrganismos patógenos e à produção de toxinas pelos mesmos, comprometendo o material vegetal e trazendo assim maiores riscos à saúde do consumidor (MIGLIATO *et al.*, 2007).

As doenças veiculadas por alimentos ainda são uma das principais causas de mortalidade na América Latina, sendo grande parte destas doenças causadas por

microrganismos patogênicos transmitidos principalmente pela rota fecal-oral, como as bactérias dos gêneros *Escherichia*, *Aerobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiela*, entre outros (BARBOSA *et al.*, 2010). No Brasil, do total de casos de mortalidade, 9,2% foram causados por doenças infecciosas, parasitárias e do aparelho digestivo, sendo o Norte e Nordeste as regiões mais afetadas (SHINOHARA *et al.*, 2008).

No Maranhão, um estudo realizado com amostras de aroreira (*Myracrodunon urundeuva*), boldo (*Peumus boldus*), cabacinha (*Luffa operculata*), capim-santo (*Cymbopogon citratus*), carqueja (*Baccharis trimera*), enxuga (*Alternanthera tenella*), jucá (*Caesalpinia férrea*), melão de São Caetano (*Momordica charantia*), ipê roxo (*Tabebuia avellaneda*), romã (*Punica granatum*), sene (*Senna alexandrina*) e sucupira (*Bowdichia virgilioides*) constatou que 62% apresentavam valores de umidade acima do recomendado, 86% continham impurezas acima do limite permitido e 81,5% possuíam contaminação microbiana (AMARAL *et al.*, 2003). Em 2005, um estudo de contaminação microbiana em drogas vegetais foi realizado em São Paulo, no qual foram avaliadas 91 amostras constituídas por 65 espécies vegetais distintas comercializadas na cidade de São Paulo, verificando que 93,2% não se enquadrava nos parâmetros farmacopeicos de aceitação. Além disso, detectaram a presença de espécies fúngicas produtoras de micotoxinas, como o *Aspergillus niger* (69,2%), *Aspergillus ochraceus* (33,8%), *Aspergillus fumigatus* (10,8%) e outras espécies de *Aspergillus* (32,3%) (BUGNO *et al.*, 2005). Esta contaminação das plantas medicinais por fungos pode levar à alterações e ou destruição de seus princípios ativos, diminuindo a eficácia terapêutica e aumentando o risco de contaminação por micotoxinas, tornando-as impróprias para o consumo (MATOS, 2000).

Em 2004, Zaroni e colaboradores detectaram 79% de plantas medicinais com contagem de microrganismos acima do permitido pela OMS. Em seus estudos, eles identificaram uma grande variedade de microrganismos, incluindo enterobactérias (96%), fungos (36%), e *P. aeruginosa* (24%) (ZARONI *et al.*, 2004). Apesar de existirem parâmetros específicos para a produção e comércio de produtos naturais, os profissionais da área da saúde e a comunidade científica têm se preocupado com a má qualidade, adulteração e incorreta utilização destes produtos, visto que estes fatores interferem na eficácia e na segurança do produto (MELO *et al.*, 2007). Bactérias da família *Bacillaceae*, presentes em plantas utilizadas na forma de chá, são resistentes às altas temperaturas atingidas no processo de infusão no preparo dos chás, o que aumenta a importância de se realizar um controle sanitário eficiente dessas espécies vegetais (KUNENE, HASTINGS & VON HOLY, 1999).

1.8.1.1 Limites de contaminação microbiana e microrganismos patógenos pesquisados

A OMS determina que espécies de *Salmonella* e *Shigella* não podem estar presentes em plantas medicinais para uso interno em nenhum estágio. Quanto ao controle de outros microrganismos, a OMS recomenda que se sigam as diretrizes das farmacopeias dos respectivos países (WHO, 2004). Segundo a Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010d), a contaminação microbiana de produtos pode acarretar na alteração das suas propriedades físicas e químicas, além de ser um risco de infecção para o usuário. Sendo assim, produtos farmacêuticos não estéreis de uso oral e tópico devem passar por controle de quantidade quanto à contaminação microbiológica.

As plantas medicinais podem ser preparadas e utilizadas de diversas formas, sendo possível encontrar em páginas da internet centenas de receitas para o preparo e uso destas plantas, como por infusão, maceração e até mesmo o seu consumo como condimento de pratos, sem que haja algum preparo prévio da planta. Dessa forma, os patógenos a serem pesquisados e os limites de contaminação microbiana devem ser determinados de uma forma lógica, considerando os possíveis riscos de infecções que a contaminação microbiana nestes produtos pode causar de acordo com as diferentes formas de administração.

Para este trabalho, os limites de contaminação microbiana e os microrganismos patogênicos pesquisados em plantas medicinais foram determinados de acordo com dois possíveis modos de preparo (preparo por extração a frio e produto para uso oral sem preparo prévio) e duas vias de administração (oral e tópica). Em uma tabela apresentada na Farmacopeia Brasileira de 2010, é informado que produtos destinados ao uso por via oral devem estar ausentes de *E. coli*, *S. aureus* e espécies de *Salmonella*, porém é tolerada a contaminação de até 10^2 bactérias Gram-negativas bile tolerantes por grama de produto. Para produtos destinados ao uso tópico, devem estar ausentes *S. aureus*, *P. aeruginosa* e – quando para aplicação vaginal – *Candida albicans*. Já a OMS exige a ausência de espécies de *Shigella* e *Salmonella* em produtos para uso oral. Além disso, a Farmacopeia Brasileira de 2010 informa que quando um produto se enquadra em mais de uma forma de administração, deve-se considerar os limites microbianos mais restritivos dentre os indicados. Neste trabalho entretanto, para fins de comparação, optou-se por considerar os limites de contaminação determinados para duas formas de preparo descritas acima (extração a frio e sem preparo prévio), portanto, foram selecionados dois limites microbianos diferentes para bactérias

aeróbias, bactérias Gram-negativas bile tolerantes e bolores e leveduras (WHO, 2004; BRASIL 2010d).

1.8.1.2 Microrganismos patogênicos

Como dito anteriormente, a OMS informa que as espécies de *Salmonella* e *Shigella* não podem estar presentes em plantas medicinais em nenhum estágio. Já a Farmacopeia Brasileira informa que dependendo do tipo de produto e do seu uso, certos microrganismos patogênicos não podem estar presentes. Como não há exigência específica para plantas medicinais, este trabalho optou por considerar as possíveis formas de uso do produto, incluindo portanto os patógenos indicados para pesquisa em cada caso. Nessas condições, os seguintes microrganismos devem estar ausentes: espécies de *Salmonella*, espécies de *Shigella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. Bactérias Gram-negativas bile tolerantes são permitidas até certa quantidade (WHO, 2004; BRASIL 2010d).

A seguir, uma breve descrição dos microrganismos:

1) Bactérias Gram-negativas bile tolerantes – Não existe uma definição específica para este grupo de microrganismos, abrangendo uma grande variedade de espécies de bactérias. A Farmacopeia Brasileira indica que os microrganismos de importância deste grupo, na avaliação da qualidade de produtos, são os da família *Enterobacteriaceae*. Esta família é uma das mais importantes conhecidas pelo homem, constituída de um grande grupo de bactérias Gram-negativas anaeróbias facultativas (com algumas exceções), nas quais estão incluídos importantes patógenos causadores de doenças de origem alimentar, como *Escherichia coli* e *Yersinia enterocolitica* e bactérias dos gêneros *Salmonella*, *Shigella*, *Cronobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*. Adicionalmente, alguns membros desta família também estão associados à deterioração de alimentos, causando inclusive doenças em plantas. Assim, os microrganismos da família *Enterobacteriaceae* são utilizados como indicadores da qualidade da água e de alimentos. A ausência destas bactérias nos alimentos proporciona uma garantia de que a higiene e o processamento do alimento foram realizados apropriadamente, enquanto que a presença destas bactérias indica um potencial problema ou falha no processo (BAYLIS *et al.*, 2011).

2) Espécies de *Salmonella* – bastonete Gram-negativo, flagelado, anaeróbio facultativo e intracelular, pertencente à família *Enterobacteriaceae*. As bactérias desta espécie são tipicamente adquiridas por via oral, sendo comumente isoladas de vegetais e frutas frescas (PUI *et al.*, 2011). A manifestação clínica da infecção por salmonela (salmonelose) pode ser dividida em quatro doenças padrões: febre tifoide, gastroenterite, bacteremia e outras complicações de salmoneloses não tifoïdes. Além disso, o indivíduo infectado também pode se tornar um portador crônico, carregando o microrganismo de forma assintomática, mas sendo uma fonte de transmissão. Casos de infecção crônica são preocupantes principalmente quando o indivíduo trabalha no setor alimentício, podendo assim contaminar os alimentos e transmitir o patógeno. A nível mundial, as espécies de *Salmonella* causam mais de um bilhão de casos de gastroenterite e três milhões de mortes anualmente (OCHMAN & GROISMAN, 1994; FIERER & GUINEY, 2001, BHUNIA, 2008).

3) *Escherichia coli* – bastonete Gram-negativo, flagelado e anaeróbio facultativo, também pertencente à família *Enterobacteriaceae*. É uma bactéria comensal que pode ser encontrada na microbiota intestinal de uma variedade de animais, incluindo o homem. Entretanto, nem todas as cepas são inofensivas, sendo as patogênicas capazes de causar doenças debilitantes em tecidos intestinais e extra intestinais, como gastroenterite, intoxicação alimentar, infecções nos tratos urinários e respiratórios, as vezes podendo levar ao óbito (BELANGER *et al.*, 2011). Pela *E. coli* fazer parte da microbiota intestinal de vários animais, sendo liberada nas fezes, é usada como indicador de contaminação fecal. A sua identificação em água e alimentos indica a baixa qualidade destes (KAPER, NATARO & MOLBY, 2004).

4) *Staphylococcus aureus* – coco Gram-positivo, imóvel e anaeróbio facultativo. Suas células são agrupadas em massas irregulares ou como cachos de uvas devido a sua divisão celular ocorrer em mais de um plano. É um microrganismos versátil e oportunista, capaz de persistir e se multiplicar em uma variedade de ambientes e causar uma ampla variedade de doenças em humanos e animais. Comumente encontrado como comensal associado à pele, glândulas e membranas mucosas, principalmente nas mucosas nasais, o *S. aureus* é um dos principais responsáveis por infecções hospitalares e comunitárias, causando doenças superficiais e invasivas, muitas vezes apresentando consequências severas e podendo levar ao óbito. As infecções podem ocorrer em locais como pele, tecidos moles, trato respiratório inferior e sangue, levando à patologias como dermatites, mastite, abscessos, pneumonias, osteomielite, endocardite e bacteremia. Adicionalmente, pela sua capacidade de produzir toxinas, pode causar doenças mediadas por toxinas, como a síndrome do choque tóxico,

síndrome da pele escaldada e intoxicação alimentar estafilocócica (CROSSLEY & ARCHER, 1997; LINDSAY & HOLDEN, 2004).

5) Espécies de *Shigella* – bastonete Gram-negativo, imóvel e anaeróbio facultativo, pertencente à família *Enterobacteriaceae*. O homem é seu único hospedeiro natural e a forma de transmissão predominante é pela rota fecal-oral. Esta bactéria causa doenças pela infecção do intestino e produção de toxinas, como diarreia aquosa, disenteria e inflamação do intestino. A infecção por *Shigella* também pode levar à complicações agudas e com risco de morte, como a síndrome metabólica, complicações intestinais (megacólon tóxico, prolapso retal, perfuração intestinal) e raramente sepse (BENNISH, 1991). A shigelose é relatada em humanos de todo o mundo, porém principalmente em países subdesenvolvidos, onde há menor controle de higiene e utilização de água imprópria para o uso ou consumo. A maior parte das infecções ocorre em crianças de 1 a 4 anos, e, em crianças desnutridas, a infecção normalmente ocorre num ciclo vicioso, onde a bactéria agrava o quadro de desnutrição e retardo do crescimento, seguida de uma nova contaminação (NIYOGI, 2005).

6) *Pseudomonas aeruginosa* – bastonete Gram-negativo, flagelado e aeróbio. É um microrganismo versátil e encontrado em diferentes ambientes, incluindo solo, água, animais e plantas. É considerado mais um patógeno secundário ou oportunista do que causador de infecções primárias em pacientes saudáveis, apesar disso, é um microrganismo de importância clínica, visto que é um dos principais patógenos causadores de infecções hospitalares em pacientes debilitados ou imunodeficientes. A maior parte das cepas de *P. aeruginosa* envolvidas em infecções são de bactérias invasivas e produtoras de toxinas (PIER & RAMPHAL, 2005) que podem causar doenças como pneumonia, queimaduras, feridas, infecções intestinais e urinárias, otite e ceratite (SILBY *et al.*, 2011).

7) *Candida albicans* – Fungo presente na microbiota intestinal e genitourinária em 70% dos humanos. É um patógeno oportunista, causando normalmente infecções brandas ou assintomáticas em indivíduos saudáveis e infecções mais severas em indivíduos com sistema imunológico debilitado. Os exemplos mais comuns de infecção por *C. albicans* são a candidíase orofaríngea e a candidíase vulvovaginal. Adicionalmente às infecções em mucosas, o microrganismo pode causar infecções sistêmicas e invasivas, que são infecções potencialmente letais, onde o fungo atravessa a barreira epitelial e atinge a corrente sanguínea (candidemia), podendo infectar quase todos os órgãos. Além disso, a *C. albicans* é o patógeno fúngico mais prevalente em humanos, sendo assim um fungo de grande importância médica (MICELI, DÍAZ & LEE, 2011; LIM *et al.*, 2012).

1.9 Espécies escolhidas para o estudo

Para este trabalho foram selecionadas 3 espécies de plantas medicinais. A seleção foi baseada nos seguintes critérios: a espécie deveria ser nativa dos biomas brasileiros, ser amplamente conhecida e utilizada pela população, possuir atividade terapêutica descrita pela literatura científica e ser recomendada pelo SUS, estando listada na RENISUS. Sendo assim, as espécies escolhidas foram:

1) *Baccharis trimera* – mais popularmente conhecida como carqueja, possui também outros nomes como bacanta, bacárida, cacaia-amarga, três-espigas e vassoura. Nativa do cerrado, esta planta cresce formando arbustos de até 80cm de altura, sendo suas hastes a parte utilizada para o consumo. O conhecimento popular a recomenda para o tratamento de diversos sintomas, como febre, diarreia, gastroenterites, asma, espasmos, estomatite, faringite, gengivite, impotência sexual masculina e constipação. Esta planta possui algumas atividades terapêuticas demonstradas por estudos, como antiúlcera, antioxidante (DIAS *et al.*, 2009), anti-inflamatória, analgésica (GENÉ *et al.*, 1996), antimutagênica (NAKASUGI & KOMAI, 1998) e hipoglicemiante (LORENZI & MATOS, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2005; BABOSA-FILHO *et al.*, 2005).

2) *Bauhinia forficata* – comumente chamada de pata-de-vaca, mas também conhecida como mororó e pé-de-boi, é uma árvore brasileira de médio porte nativa da Mata Atlântica e de outros biomas. Possui flores brancas, e suas folhas são em formato semelhante a sola da pata de uma vaca, o que motivou a escolha do seu nome. O conhecimento popular credita à espécie as propriedades como antidiarreica, diurética, hipocolesterolmiante, hipoglicêmica, laxante e vermífuga. Estudos demonstram que a pata-de-vaca possui atividade hipoglicemiante, hipolipidêmica (LINO *et al.*, 2004), antioxidante, antimicrobiana (SILVA & FILHO, 2002) e apoptótica (LIM *et al.*, 2006).

3) *Tabebuia avellanadae* – o ipê-roxo, é nativo da Mata Atlântica sendo também conhecido como pau-d'arco, devido os indígenas utilizarem de sua madeira para a confecção de arcos. Espécie de árvore de grande porte podendo chegar até 30m de altura dentro da mata e dá flores em tons de rosas e roxos. Segundo o conhecimento popular, a casca do caule e as folhas são indicadas como antifúngicas, antimutagênicas, antibacterianas, antiinflamatórias, sendo também recomendadas para o tratamento de artrite, candidíase, anemia, diabetes, problemas ovarianos, lupus, mal de parkinson, osteomielite, psoríase e úlceras. Estudos demonstram que seus compostos possuem atividades anti-inflamatória, antimicrobiana,

antineoplásica e analgésica (STERNERT, KHALAF & RIMPLER, 1995; PANIZZA, 1997; FALKENBERG & SIMÕES, 1999; MIRANDA *et al.*, 2001).

2 JUSTIFICATIVA

O aumento da demanda por plantas medicinais, o lema de que “o que é natural não faz mal”, a ausência de requisição de informações importantes no rótulo, o possível descumprimento das boas práticas de fabricação e a falta de um controle de qualidade eficaz formam um conjunto de fatores que contribuem para a disponibilidade de plantas medicinais fora dos padrões de qualidade necessários para consumo. Por sua origem natural, há um grande potencial de contaminação microbiana em plantas medicinais, o que pode alterar a sua composição química e destruir seus princípios ativos, comprometendo a sua eficácia terapêutica e tornando o produto mais uma fonte de doença do que de saúde. É importante ressaltar que as plantas medicinais também são consumidas por crianças, idosos, gestantes e pacientes imunodeficientes, agravando os riscos de uso e podendo trazer problemas severos.

Adicionalmente, devido ao Sistema Único de Saúde recomendar e indicar o consumo plantas medicinais para seus pacientes, gera-se na população um sentimento de segurança, no sentido de que o consumo da planta não poderá causar mal. Os pacientes que recebem prescrições de plantas medicinais pelo SUS são em sua maioria, de baixa renda, que não possuem condições financeiras para comprar fármacos sintéticos e muitas vezes residem em locais com condições sanitárias precárias, o que corrobora na dificuldade de manutenção da saúde. Assim, uma população que desconsidera possibilidade de efeitos adversos decorrentes do consumo de plantas medicinais, compra e consome plantas medicinais comercializadas em embalagens que não informam as indicações, contra indicações, métodos de preparo ou efeitos adversos.

Dessa forma, são disponibilizados para a população, produtos terapêuticos com a função de curar ou tratar doenças e sintomas, que entretanto, podem causar maiores danos à saúde do consumidor, o qual muitas vezes já é um paciente debilitado.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo principal avaliar se as plantas medicinais disponibilizadas à venda possuem a qualidade microbiológica exigida pela OMS e pela Farmacopeia Brasileira. Espera-se que este trabalho possa servir como uma fonte fomentadora para o debate sobre se há ou não a necessidade de se adotar exigências mais criteriosas quanto ao controle da qualidade microbiológica destes produtos, à fiscalização do cumprimento de boas práticas pelos produtores e aos requisitos de informações na rotulagem dos produtos.

3.2 Objetivos específicos

- Pesquisar e quantificar a presença de bactérias aeróbias, bactérias Gram-negativas bile-tolerantes, bolores e leveduras em *Baccharis trimera*, *Bauhinia forficata* e *Tabebuia avellanedae*.
- Pesquisar e identificar os seguintes microrganismos patogênicos: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, espécies de *Salmonella* e espécies de *Shigella* em *Baccharis trimera*, *Bauhinia forficata* e *Tabebuia avellanedae*.
- Realizar uma avaliação sobre a legislação sanitária quanto à plantas medicinais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

As metodologias dos ensaios microbiológicos realizados neste trabalho foram baseadas nos dos métodos preconizados pela Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010d), pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2004) e pelo *Manual of Clinical Microbiology* (MURRAY *et al.*, 2007). Todos os meios de cultura foram preparados pela Central de Meio de Cultura do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira de 2010.

4.1 Amostragem e preparo

Foram analisadas no total 15 amostras, sendo de 3 diferentes espécies de plantas medicinais. De cada espécie, foram analisadas 5 amostras de diferentes lotes (quando informado) e fabricantes, num total de 4 fabricantes. As espécies estudadas foram: *Baccharis trimera* (carqueja), *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) e *Tabebuia avellanedae* (ipê-roxo), codificadas como C, PV e IR, respectivamente. As amostras utilizadas foram plantas medicinais secas e embaladas, vendidas em farmácias e ervanárias. Antes de se realizar a compra, os produtos foram conferidos para garantir que não havia nenhuma abertura ou rasgadura na embalagem. O prazo de validade foi conferido para garantir que o produto estivesse dentro da validade durante o período de análise. As plantas foram compradas em ervanárias (não foram encontradas farmácias vendendo plantas medicinais), armazenadas de acordo com a orientação do fabricante (manter o produto em ambiente seco e arejado) e transportadas até o laboratório assim que possível. O processamento da amostra foi realizado o mais rápido possível após a chegada da mesma no laboratório. Antes do início de cada processo, realizou-se uma inspeção cuidadosa da embalagem para detectar qualquer possível irregularidade, verificando se havia algum fator que impossibilitaria a realização da análise. Não havendo irregularidades, foi iniciada a análise. A metodologia descrita a seguir foi realizada para cada uma das 15 amostras.

Primeiramente, a embalagem do produto foi desinfetada com solução de álcool etílico 70% (v/v). Para a realização dos testes, foram retirados 10g de pequenas partículas de folhas e cascas de caule e adicionados em um erlenmeyer contendo 90ml de caldo de caseína-soja. Para fins de didática, este erlenmeyer será denominado frasco A1. O frasco A1 foi

homogeneizado vigorosamente, obtendo-se assim uma diluição 1:10. A partir do frasco A1, foram realizadas diluições sucessivas até 1:100.000 em tubos contendo 9ml de caldo caseína-soja, que foram utilizados para os testes em até 20 minutos após o preparo. Adicionalmente, foram transferidos 10ml do frasco A1 para um segundo erlenmeyer com 90ml de caldo caseína-soja (o qual será chamado frasco A2), o qual foi incubado $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 24h para posteriormente servir para pesquisa de patógenos. As técnicas foram realizadas de forma asséptica, tanto na amostragem quanto na execução das análises, realizando-as em cabine de segurança biológica.

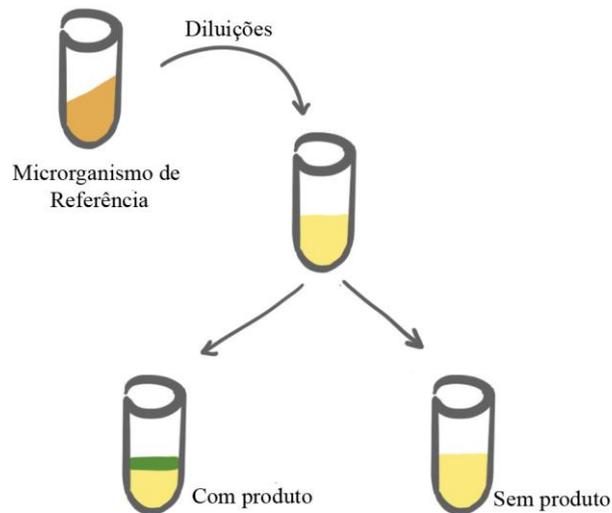
4.2 Verificação da capacidade inibitória de crescimento bacteriano

Para cada amostra, foi realizada a verificação da presença de substâncias inibidoras do crescimento microbiano, ou seja, que podem interferir na avaliação microbiológica dos produtos. Para isso, a partir do crescimento de microrganismos de referência* em ágar caseína-soja, foram preparados inóculos de cada microrganismo em diluições decimais utilizando tampão cloreto de sódio-peptona pH 7,0 para se obter uma suspensão que contivesse, aproximadamente, 100 células viáveis por ml. No preparo do inóculo de *Aspergillus brasiliensis*, foi adicionado à solução tampão 0,05% de polissorbato 80. A partir destas suspensões, foram feitos os subcultivos em tubos contendo 5ml de caldo caseína-soja, utilizando alça de níquel-cromo de 3mm. Os tubos de todos os microrganismos foram incubados a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h, exceto os tubos onde foram inoculados a *Candida albicans* e o *Aspergillus brasiliensis*, onde o primeiro foi incubado a $22,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 2 a 3 dias, e o segundo foi incubado a $22,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ de 5 a 7 dias. Após o crescimento dos microrganismos, retirou-se 1ml da suspensão do tubo, que foi transferido para um tubo contendo caldo 9ml de caldo caseína-soja com a amostra na diluição 1:10. Para o controle, transferiu-se 1ml da mesma suspensão para outro tubo com 9ml de caldo caseína-soja sem a amostra. Este processo foi realizado separadamente com cada microrganismo de referência. Um esquema simplificado deste método é apresentado na Figura 1.

***Microrganismos de referência:** *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028,

Staphylococcus aureus ATCC 6538, *Clostridium sporegenes* ATCC 11437 e *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Figura 1: Esquema simplificado da metodologia de verificação da capacidade inibitória de crescimento microbiano.



4.2.1 Procedimentos para a inativação da atividade inibitória

Caso constatada a atividade inibitória na amostra, deve-se realizar uma etapa para inativar ou retirar a substância inibitória. Para isto, executa-se um dos métodos descritos a seguir.

1º - Método de diluição

O volume do meio de cultura a ser utilizado é aumentado mantendo-se a mesma quantidade da amostra. O ensaio é repetido até que se consiga determinar a relação ideal entre a concentração da amostra e o volume do meio suficiente para eliminar a atividade inibitória.

2º - Método de inativação

Substâncias neutralizantes são adicionadas ao meio de cultura em quantidade suficiente para a inativação da substância presente na amostra. A substância neutralizante a

ser utilizada depende da composição do produto. A Farmacopeia Brasileira apresenta uma lista de substâncias de atividade antimicrobiana e os neutralizantes a serem utilizados.

3º - Associação dos métodos da diluição e inativação

O volume do meio utilizado é aumentado e suplementado com a substância neutralizante.

4º - Método de filtração por membrana

São realizadas filtrações sucessivas com o objetivo de se retirar as substâncias inibitórias presentes na amostra.

4.3 Contagem de microrganismos viáveis totais

Foi estimado o número total de bactérias aeróbicas, bolores e leveduras através do método de contagem em placa com semeadura pelo método em profundidade. As diluições escolhidas para contagem foram decididas baseando-se em estudos anteriores que demonstraram a necessidade da realização de altas diluições para contagem de microrganismos nestes produtos, visto que são produtos geralmente contaminados com altas cargas microbianas. As amostras foram preparadas como descrito na seção 4.1.

1 – Contagem de bactérias aeróbicas

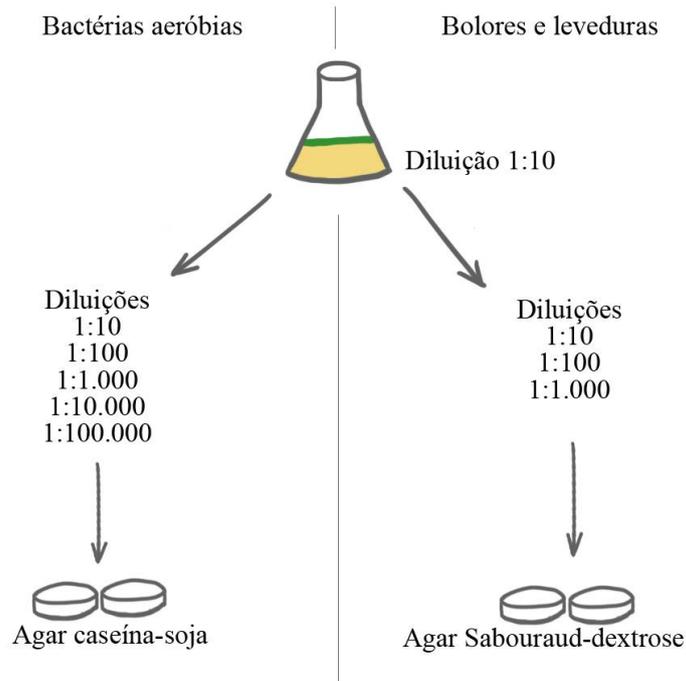
De diluições até 1:100.000 da amostra, foram retiradas alíquotas de 1ml e transferidas, em duplicata, para placas de Petri vazias. Após isso, foram adicionados 20ml de ágar caseína-soja a aproximadamente 45°C. As alíquotas e o ágar foram homogeneizados nas placas através de movimentos rotatórios. Após solidificar, as placas foram invertidas e incubadas a 32,5°C ± 2,5°C por até 5 dias. Um esquema simplificado deste método é apresentado na Figura 2.

2 – Contagem de bolores e leveduras

De diluições até 1:10.000 da amostra, foram retiradas alíquotas de 1ml, em duplicata, e transferidas para placas de Petri vazias. Após isso, foram adicionados 20ml de ágar

Sabouraud-dextrose ou ágar batata dextrose acidificado com ácido tartárico a 10% à aproximadamente 45°C. As alíquotas e o ágar foram homogeneizados por movimentos rotatórios. Após solidificar, as placas foram invertidas e incubadas a 22,5°C ± 2,5°C por até 7 dias. Um esquema simplificado deste método é apresentado na Figura 2.

Figura 2: Esquema simplificado da metodologia de preparo das placas para contagem de bactérias aeróbias e bolores e leveduras.



Contagem de Colônias

Após o período de incubação necessário, foi realizada a contagem do número de colônias utilizando-se um contador de colônias. As placas de ágar caseína-soja que apresentaram até 300 colônias e as placas de ágar Sabouraud-dextrose ou ágar batata dextrose que apresentaram até 100 colônias foram selecionadas para a contagem de microrganismos viáveis totais.

Para calcular o número aproximado de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por ml (UFC/ml) foi utilizada a seguinte fórmula:

$$N = \frac{(\sum Pi)}{(\sum Vi)} D$$

Onde:

N = Número de UFC/g ou mL

D = inverso do fator de diluição utilizado

$\sum Pi$ = Somatório do número de colônias observadas em duas placas

$\sum Vi$ = Somatório do volume de amostra em duas placas

Na ausência de crescimento nas placas de todas as diluições, registra-se a contagem como sendo menor que uma vez a menor diluição (<10UFC/g ou ml).

Como as plantas medicinais possuem diversas formas de uso, incluindo consumo oral por infusões, uso tópico e consumo oral sem preparo prévio, neste estudo optou-se por utilizar limites microbianos para duas formas de uso diferentes, para fins de comparação de resultados. Conforme a Farmacopeia Brasileira de 2010 (BRASIL, 2010d), as formas de uso escolhidas e seus respectivos limites microbianos foram:

Drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a frio – limite máximo de 2×10^5 UFC/g para bactérias aeróbias e 2×10^3 UFC/g para bolores e leveduras.

Preparação para uso oral contendo matéria-prima de origem natural – limite máximo de 2×10^4 UFC/g para bactérias aeróbias e 2×10^2 UFC/g para bolores e leveduras.

4.4 Pesquisa de patógenos

Como plantas medicinais são produtos utilizados de diversas formas e não possuem informações de modo de uso, os microrganismos patógenos pesquisados foram decididos de acordo com as possíveis vias de administração do produto. A OMS informa que em todos os produtos devem estar ausentes espécies de *Shigella* e *Salmonella*. A Farmacopeia Brasileira

requer a ausência de *E. coli* e limite de 10^2 bactérias GNBT em preparações para uso oral, limite de 10^3 bactérias GNBT em drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a frio, ausência de *S. aureus* e *P. aeruginosa* para preparações para uso tópico e também ausência de *Candida albicans* em preparações vaginais. Sendo assim, os patógenos pesquisados foram: bactérias GNBT, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Candida albicans*, espécies de *Salmonella* e espécies de *Shigella*. Os testes para a identificação e os controles positivos e negativos utilizados foram executados conforme a metodologia do *Manual of Clinical Microbiology* (MURRAY *et al.*, 2007).

4.4.1 Pesquisa e Quantificação de bactérias Gram-negativas bile tolerantes

Para esta análise, foram retirados 10ml do frasco A1 e transferidos para um outro frasco contendo 90ml de caldo caseína-soja. Esse frasco foi homogeneizado e incubado a $22,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$, por 2 a 5h. Após isso, é realizada a semeadura em placa de Petri contendo Agar Violeta Neutro Bile Glicose e incubada a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 24h. Para a contagem, são realizadas diluições em três tubos contendo 9ml de Caldo de Enriquecimento de Enterobactérias segundo Mossel para se obter 0,1; 0,01 e 0,001g do produto. Estes três tubos são incubados a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 24 a 48h. Para cada tubo que apresente crescimento, é realizada subcultura em placa de Petri contendo Agar Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose, que deve ser incubada a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 24h.

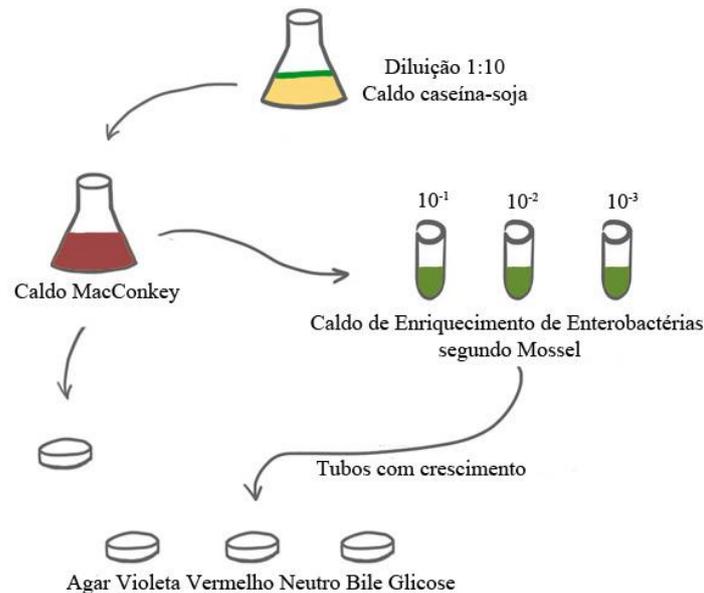
Na placa, o crescimento de colônias bem desenvolvidas de bactérias Gram-negativas, geralmente vermelhas ou avermelhadas, é indicativo do crescimento do microrganismo no tubo de diluição respectivo à placa (resultado positivo). Um esquema simplificado deste método é apresentado na Figura 3.

Os limites de contaminação para o teste são:

Drogas vegetais que serão submetidas à processos extrativos a frio – limite máximo de 10^3 bactérias por grama de produto.

Preparação para uso oral contendo matéria-prima de origem natural – limite máximo de 10^2 bactérias por grama de produto.

Figura 3: Esquema simplificado da metodologia de pesquisa e quantificação de Bactérias Gram-negativas bile tolerantes.



Os resultados foram determinados segundo a Tabela 1:

Tabela 1: Interpretação dos resultados do teste quantitativo para bactérias gram-negativas bile tolerantes.

Resultados para a quantidade de produto de			Número provável de bactérias por grama ou mililitro do produto
0,1g ou 0,1ml	0,01 g ou 0,01ml	0,001g ou 0,001ml	
+	+	+	Mais de 10^3
+	+	-	Menos de 10^3 e mais de 10^2
+	-	-	Menos de 10^2 e mais de 10
-	-	-	Menos de 10

Adaptado da Farmacopeia Brasileira 5ª Edição (BRASIL, 2010d)

4.4.2 Pesquisa e identificação de *Pseudomonas aeruginosa*

A partir do frasco A2 (enriquecimento em caldo caseína-soja na diluição 1:10), transfere-se uma alçada para ágar Cetrimide e semeada por esgotamento. A placa é incubada a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 72h. Cada colônia com aspecto morfológico diferente é transferida para placa contendo ágar tripticaseína soja inclinado e incubada a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a

24h. As culturas bacterianas que crescem em ágar tripticaseína de soja inclinado são submetidas aos seguintes ensaios:

– **Coloração de Gram**

A partir das culturas, são realizados esfregaços fixados em lâmina, e submetidos ao método de coloração de Gram. Ao ser observada em microscópio, a presença de bastonetes Gram negativos é considerada resultado positivo para o teste.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00230 (ATCC 9027)

Controle negativo – *Staphylococcus aureus* INCQS 00039 (ATCC 6538)

– **Citocromo oxidase**

O crescimento bacteriano é transferido com alça bacteriológica de platina ou bastão de madeira estéril para uma tira de papel de filtro impregnada com solução de N,N dimetil-p-fenilenodiamino. O desenvolvimento de coloração rosa à púrpura em 10 a 30 segundos indica resultado positivo e a ausência de coloração indica resultado negativo. A maioria das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* são positivas para este ensaio.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00230 (ATCC 9027)

Controle negativo – *Escherichia coli* INCQS 00219 (ATCC 8739)

– **Detecção de fluoresceína**

Transfere-se uma alçada das culturas para um tubo contendo ágar para detecção de fluoresceína, e este é incubado a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h. A fluorescência do ágar é examinada sob luz ultravioleta no comprimento de onda de 254nm. A observação de fluorescência na cor azul é considerada resultado positivo. A maioria das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* produzem fluoresceína.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00230 (ATCC 9027)

Controle negativo – *Staphylococcus aureus* INCQS 00039 (ATCC 6538)

– Detecção de piocianina

Transfere-se 1ml de clorofórmio para a superfície de uma placa de ágar Cetrimide contendo a cultura suspeita de ser *P. aeruginosa*, previamente incubada durante 24h. O clorofórmio é então removido para um tubo de ensaio de 13mm x 100mm para a análise de sua coloração. A observação de coloração azul indica a presença de piocianina e resultado positivo. A maioria das cepas de *P. aeruginosa* são positivas para esta prova.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00230 (ATCC 9027)

Controle negativo – *Staphylococcus aureus* INCQS 00039 (ATCC 6538)

– Crescimento a $42 \pm 1^\circ\text{C}$

Transfere-se uma alçada da cultura para tubo contendo caldo infusão de cérebro e coração. O tubo é incubado a $42^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ em banho termostático durante $48 \pm 3\text{h}$. A presença de crescimento no tubo é considerada resultado positivo. As cepas de *Pseudomonas aeruginosa* apresentam crescimento a 42°C .

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00230 (ATCC 9027)

Controle negativo – *Staphylococcus aureus* INCQS 00039 (ATCC 6538)

4.4.3 Pesquisa e identificação de *Staphylococcus aureus*

A partir do frasco A2 (enriquecimento em caldo caseína-soja na diluição 1:10), transfere-se uma alçada para ágar Manitol Salgado, semeando por esgotamento e incubando a $32,5^\circ\text{C} \pm 2,5^\circ\text{C}$ por 48 ± 3 horas. O crescimento de colônias típicas de *S. aureus* é verificado pela observação de colônias amarelas ou brancas rodeadas por uma zona amarela. As colônias típicas são repicadas para tubos contendo ágar tripticaseína de soja inclinado e incubadas a $32,5^\circ\text{C} \pm 2,5^\circ\text{C}$ por 18 a 24h.

As culturas bacterianas que crescem em ágar tripticaseína de soja inclinado são submetidas aos seguintes ensaios:

– Coloração de Gram

Os esfregaços das culturas fixadas em lâmina são submetidos ao método de coloração de Gram. Pela observação em microscópio, a presença de cocos Gram positivos isolados ou em agrupamentos semelhantes a cachos de uvas indica resultado positivo.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Staphylococcus aureus* INCQS 00039 (ATCC 6538)

Controle negativo – *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00230 (ATCC 9027)

– Desoxirribonuclease

As culturas que apresentam características morfotintoriais de *S. aureus* são repicadas para placas de Petri contendo ágar desoxirribonuclease e incubadas a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h. Após a incubação, é adicionado 1ml de ácido clorídrico 1N na superfície do meio de cultura. A formação de halo transparente ao redor do crescimento indica resultado positivo. A maioria das cepas de *S. aureus* são positivas para este ensaio.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Staphylococcus aureus* INCQS 00039 (ATCC 6538)

Controle negativo – *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00230 (ATCC 9027)

– Coagulase

As colônias com as características morfotintoriais de *S. aureus* são repicadas para tubos contendo caldo infusão de cérebro e coração. Os tubos são incubados a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h. Após isso, transfere-se 0,3ml da cultura em caldo para um tubo 13mm x 100mm contendo 0,3ml de plasma de coelho com EDTA, a solução é homogeneizada e incubada em banho termostático a $47,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$. A formação de coágulo rígido que não se desloca quando o tubo é invertido indica produção de coagulase, sendo este resultado positivo. As cepas de *S. aureus* são positivas para este ensaio.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Staphylococcus aureus* INCQS 00039 (ATCC 6538)

Controle negativo – *Staphylococcus epidermidis* INCQS 00198 (SSI 5)

- Provas auxiliares

As culturas com resultados positivos para os três testes anteriores são submetidas aos seguintes ensaios:

– Prova da catalase

De uma cultura previamente incubada em ágar inclinado tripticaseína de soja por 18 a 24h, transfere-se uma alçada, com o auxílio de uma alça de níquel-cromo, para uma lâmina de vidro limpa e desengordurada. Sobre este material coletado, é adicionada uma gota de peróxido de hidrogênio a 30%. A formação de bolhas indica a presença da enzima catalase, sendo este resultado positivo. As cepas de *S. aureus* são positivas para este ensaio.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Staphylococcus aureus* INCQS 00039 (ATCC 6538)

Controle negativo – *Streptococcus mutans* INCQS 00446 NCTC 10449 (ATCC 25175)

– Utilização anaeróbica da glicose

Inocula-se, em profundidade, uma alçada do crescimento em ágar inclinado tripticaseína de soja, em tubo contendo 3ml de caldo para fermentação de glicose. Após isso o meio é coberto com 0,3ml de óleo mineral estéril e incubado a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48h. A mudança da cor do meio de avermelhado para amarelo indica a fermentação da glicose, sendo este o resultado positivo do teste. A maioria das cepas de *S. aureus* são positivas para esta prova.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Staphylococcus aureus* INCQS 00039 (ATCC 6538)

Controle negativo – *Brevundimonas diminuta* INCQS 00070 (ATCC 11568)

4.4.4 Pesquisa e identificação de espécies de *Salmonella*

A partir do frasco A2 (enriquecimento em caldo caseína soja na diluição 1:10), transfere-se uma alíquota de 0,1ml do material enriquecido para um tubo contendo 10ml de Caldo Rappaport Vassiliadis e este é incubado a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h. Após o período de incubação, são realizadas subculturas em placas contendo meio seletivo e indicador ágar

Xilose Lisina Desoxicolato que são incubadas a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 48h. O crescimento de colônias bem desenvolvidas, vermelhas com ou sem centro negro indica a presença provável de espécies de *Salmonella*.

As colônias típicas são repicadas para tubos contendo ágar tripticaseína de soja inclinado e incubadas a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h, sendo submetidas às seguintes provas:

– Coloração de Gram

Esfregaços das culturas fixadas em lâmina são submetidos ao método de coloração de Gram. Ao ser observada em microscópio, a presença de bastonetes Gram negativos indica resultado positivo.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Salmonella typhimurium* INCQS 00150 (ATCC 14028)

Controle negativo – *Bacillus subtilis* INCQS 00001 (ATCC 6633)

– Utilização de açúcares e produção de gás

A cultura suspeita é semeada no meio de ágar tríplex açúcar ferro em profundidade e são feitas estrias na superfície inclinada utilizando uma agulha bacteriológica. O meio é incubado a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h. As cepas de espécies de *Salmonella* desenvolvem-se neste meio tornando a superfície alcalina (vermelha) e a base ácida (amarela) com ou sem produção de gás e formação de precipitado negro pela produção de H_2S . Sendo assim, a alteração da cor do meio para vermelho na superfície e amarelo na base indica resultado positivo.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Salmonella typhimurium* INCQS 00150 (ATCC 14028)

Controle negativo – *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00230 (ATCC 9027)

– Descarboxilação da lisina, arginina e ornitina

Uma alçada da cultura suspeita é inoculada em caldo lisina, arginina e ornitina, separadamente. Os tubos são cobertos, inclusive o controle, com 0,3ml de óleo mineral estéril, sendo incubados a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 24 a 96h. As cepas de espécies de *Salmonella* descarboxilizam estes substratos, alterando a cor do meio para púrpura. Sendo assim, mudança da cor do meio para púrpura indica resultado positivo.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Salmonella typhimurium* INCQS 00150 (ATCC 14028)

Controle negativo para lisina – *Enterobacter cloacae* INCQS 00074 (ATCC 13047)

Controle negativo para arginina – *Morganella morganii* INCQS 0082 (ATCC 8019)

Controle negativo para ornitina – *Enterobacter aerogenes* INCQS 000145 (ATCC 13048)

– Produção de urease

A cultura suspeita é semeada no meio de ágar uréia, onde são realizadas estrias na superfície inclinada. O tubo foi incubado a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48h. As cepas de espécies de *Salmonella* não alteram a cor do meio por serem urease negativas. A ausência de alteração da cor do meio é considerada resultado positivo para espécies de *Salmonella*.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Salmonella typhimurium* INCQS 00150 (ATCC 14028)

Controle negativo – *Escherichia coli* INCQS 00219 (ATCC 8739)

4.4.5 Pesquisa e identificação de *Escherichia coli*

A partir do frasco A2 (enriquecimento em caldo caseína soja na diluição 1:10), é transferido 1ml para tubo contendo 9ml de Caldo MacConkey e incubado a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48h. Após isso, transfere-se uma alçada para ágar MacConkey, sendo semeada por esgotamento. A placa é incubada a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48h. As colônias de *E. coli* neste meio se apresentam vermelhas e circundadas por um halo de precipitação. As colônias típicas são selecionadas e semeadas em tubos contendo ágar tripticaseína de soja inclinado e incubadas a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h.

As culturas bacterianas que crescem no ágar inclinado tripticaseína de soja são submetidas às seguintes provas:

– Coloração de Gram

Os esfregaços das culturas fixadas em lâmina são submetidos ao método de coloração de Gram. Ao observar em microscópio, a presença de bastonetes Gram negativos indica resultado positivo.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Escherichia coli* INCQS 00219 (ATCC 8739)

Controle negativo – *Bacillus subtilis* INCQS 00001 (ATCC 6633)

– Morfologia colonial em ágar eosina azul de metileno

As culturas suspeitas são semeadas por esgotamento em placas contendo ágar eosina azul de metileno e posteriormente incubadas a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h. O crescimento de colônias escuras com ou sem brilho metálico indica resultado positivo.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Escherichia coli* INCQS 00219 (ATCC 8739)

Controle negativo – *Enterobacter cloacae* INCQS 00074 (ATCC 13047)

– Prova do indol

Semeia-se um tubo contendo caldo triptona e este é incubado a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h. Após isso, é adicionado 0,5ml de reagente de Kovacs. O desenvolvimento de coloração vermelha na superfície do meio indica reação positiva. A maioria das cepas de *E. coli* são indol positivas.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Escherichia coli* INCQS 00219 (ATCC 8739)

Controle negativo – *Enterobacter cloacae* INCQS 00074 (ATCC 13047)

– Prova de Voges-Proskauer

Um tubo contendo caldo vermelho de metila-Voges Proskauer é semeado e incubado a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 48 ± 3 horas. Após isso, transfere-se 1ml da cultura para um tubo 13mm x 100mm e o restante da cultura é reservado. Neste tubo, é adicionado 0,6ml de solução de alfa-naftol a 5% e 0,2ml de hidróxido de potássio (KOH) a 40% e em seguida é realizada a agitação do tubo. Após 2h, realiza-se a leitura. As cepas de *E. coli* não desenvolvem a cor rósea nesta prova. Sendo assim, a ausência de coloração rósea é considerada positivo para *E. coli*.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Escherichia coli* INCQS 00219 (ATCC 8739)

Controle negativo – *Enterobacter cloacae* INCQS 00074 (ATCC 13047)

– Prova do vermelho de metila

O restante da cultura crescida em caldo vermelho de metila-Voges Proskauer é incubado por mais 48 ± 3 h a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$. Após isso são adicionadas 5 gotas de solução vermelho de metila. O desenvolvimento de cor vermelha indica reação positiva. As cepas de *E. coli* são positivas para esta prova.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Escherichia coli* INCQS 00219 (ATCC 8739)

Controle negativo – *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00230 (ATCC 9027)

– Utilização do citrato como única fonte de carbono

Com o auxílio de uma agulha bacteriológica, um leve inóculo das culturas suspeitas é semeado no meio ágar citrato de Simmons, estriando levemente a superfície inclinada do meio. O tubo é incubado a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por até 96h. Neste meio, as cepas de *E. coli* crescem sem alterar a cor do meio para azul. Sendo assim, a ausência de alteração da cor do meio para azul é considerada resultado positivo para *E. coli*.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Escherichia coli* INCQS 00219 (ATCC 8739)

Controle negativo – *Enterobacter cloacae* INCQS 00074 (ATCC 13047)

– Prova da redução de nitrato

Inocula-se uma alçada das culturas suspeitas em um tubo contendo caldo nitrato, o qual é incubado a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h. Após o período de incubação, adicionou-se 1ml dos reagentes A (α -naftilamina 0,5% ou dimetil-L-naftilamina 0,6%) e B (ácido sulfanílico 0,8%). As cepas de *E. coli* são positivas para esta prova. Sendo assim, caso a cor do meio seja alterada para vermelho dentro de 2 minutos, indicando que o nitrato foi reduzido a nitrito, é considerado resultado positivo para *E. coli*. No caso de a cor do meio não alterar de incolor para vermelho dentro de 2 minutos, é adicionado aproximadamente 20mg de pó de zinco para a confirmação do teste. Havendo alteração da cor do meio após a adição do zinco indica resultado negativo.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Escherichia coli* INCQS 00219 (ATCC 8739)

Controle negativo – *Salmonella typhimurium* INCQS 00150 (ATCC 14028)

4.4.6 Pesquisa e identificação de *Candida albicans*

A partir do frasco A2 (enriquecimento em caldo caseína-soja na diluição 1:10), transferem-se 10ml para outro frasco com 90ml de Caldo Sabouraud Dextrose, o qual é incubado a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 3 a 5 dias. Após isso, deste crescimento é transferida uma alçada para placa contendo ágar Sabouraud Dextrose. A placa é incubada a $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 5 a 7 dias. O crescimento de colônias brancas em ágar Sabouraud indica a presença provável de *Candida albicans*.

– Caracterização morfológica

Os esfregaços das culturas fixadas em lâmina são submetidos ao método de coloração de Gram. Ao observar em microscópio, a presença de células Gram positivas ovaladas e com brotamento indica resultado positivo para *C. albicans*.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Candida albicans* INCQS 40006 (ATCC 10231)

Controle negativo – *Bacillus subtilis* INCQS 00001 (ATCC 6633)

– Observação de clamidósporos

São realizadas 3 estrias paralelas da cultura sobre a superfície do meio de ágar milho com 1% de tween 80 em placas de Petri. Sobre estas estrias são colocadas lamínulas para microscopia estéreis. As placas são incubadas à temperatura de $22,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 48h. Após isso, realiza-se a observação das lamínulas ao microscópio. As amostras que apresentam hifas com formação de um ou dois clamidósporos terminais são consideradas *Candida albicans*.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Candida albicans* INCQS 40006 (ATCC 10231)

Controle negativo – *Bacillus subtilis* INCQS 00001 (ATCC 6633)

IV.4.7 Pesquisa e identificação de espécies de *Shigella*

A partir do frasco A2 (enriquecimento em caldo caseína-soja na diluição 1:10), são transferidas duas alçadas para uma placa de Petri contendo ágar MacConkey suplementado

com telurito de potássio (1µg/ml), e esta é incubada a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24h. O crescimento de colônias convexas, incolores e com tamanho de 2 a 3mm são consideradas suspeitas de espécies de *Shigella*.

– **Prova do ágar tríplice açúcar ferro**

Com a agulha, as colônias suspeitas de *Shigella* são transferidas para tubos contendo ágar tríplice açúcar ferro inclinado, fazendo-se uma picada até o fundo do tubo e estrias na superfície inclinada do meio. Os tubos são incubados a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ *overnight*. Após a incubação, os tubos que apresentam o fundo amarelo (ácido) e a superfície vermelha (alcalino) indicam a presença de espécies de *Shigella*.

Os microrganismos controles utilizados para esta identificação, foram:

Controle positivo – *Shigella sonnei* INCQS 00153 (ATCC 25931)

Controle negativo – *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 00230 (ATCC 9027)

5 RESULTADOS

Na realização do teste de verificação da capacidade inibitória de crescimento microbiano, todos os tubos contendo as amostras de plantas medicinais apresentaram crescimento dos microrganismos de referência, permitindo observar que as espécies estudadas não inibem a multiplicação dos microrganismos nas condições do teste (Tabela 2). Portanto, não houve necessidade de se realizar os procedimentos para eliminação de atividade inibitória. Com estes resultados, foi dada continuidade à realização dos testes microbiológicos.

Pelos resultados dos testes de contagem de microrganismos viáveis totais, pode-se concluir que todas as amostras possuíam contaminação microbiana. A contaminação por bactérias aeróbias variou entre 5×10^3 UFC/g e $1,2 \times 10^8$ UFC/g (Tabela 2). Enquanto que, na maior parte dos testes para quantificação da contaminação por bolores e leveduras, o crescimento microbiano ocorreu em toda a superfície da placa ou na sua maior parte, de forma que não era possível visualizar a delimitação das colônias para a realização da contagem. Nos testes onde isto ocorreu até a placa de diluição 10^{-3} , a contagem foi considerada apenas como maior que 10^3 . Considerando as placas onde foi viável realizar a contagem das colônias, a contaminação variou entre 3×10^1 UFC/g e $4,8 \times 10^4$ UFC/g (Tabela 2).

Todas as quinze amostras apresentaram contaminação por bactérias Gram-negativas bile tolerantes (GNBT). No teste de quantificação destas bactérias, quatorze amostras apresentaram crescimento de colônias nas placas de Agar Violeta Neutro Bile Glicose correspondentes até a diluição contendo 0,001g de produto, o que indicou contaminação maior que 10^3 bactérias GNBT por grama de produto. Apenas uma amostra (C5) não apresentou crescimento nas placas das diluições, o que indicou contaminação menor que 10 bactérias GNBT por grama de produto. Esta amostra foi testada uma segunda vez para confirmação do resultado, o qual foi confirmado (Tabela 2).

Além de bactérias Gram-negativas bile tolerantes, foram pesquisadas seis espécies de microrganismos patogênicos que deveriam estar ausentes. Destas seis espécies, três foram identificadas: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. *E. coli* foi identificada em sete amostras, enquanto *S. aureus* e *P. aeruginosa* foram identificados em três amostras cada. Duas amostras apresentaram contaminação pelas três espécies e por bactérias

GNBT concomitantemente (PV2 e C1). Não foi observada a presença de *Candida albicans*, espécies de *Shigella* ou *Salmonella* nas amostras (Tabela 2).

Tabela 2: Resultados dos testes de verificação da capacidade inibitória de crescimento microbiano, pesquisa de patógenos e quantificação de microrganismos.

Amostras	Capacidade inibitória	Quantidade de microrganismos viáveis por grama de produto			Outros Patógenos Identificados ^b
		Bactérias aeróbias (UFC/g)	Bolores e Leveduras (UFC/g)	GNBT ^a	
PV1	N	3×10^7	$3,7 \times 10^4$	$> 10^3$	<i>E. coli</i>
PV2	N	3×10^7	$> 10^3$	$> 10^3$	<i>E. coli, P. aeruginosa, S. aureus</i>
PV3	N	$1,5 \times 10^6$	$> 10^3$	$> 10^3$	-
PV4	N	$6,5 \times 10^5$	$> 10^3$	$> 10^3$	<i>P. aeruginosa</i>
PV5	N	5×10^3	3×10^1	$> 10^3$	-
IR1	N	$3,6 \times 10^4$	$4,5 \times 10^3$	$> 10^3$	<i>E. coli</i>
IR2	N	1×10^6	$> 10^3$	$> 10^3$	<i>E. coli</i>
IR3	N	$2,2 \times 10^4$	6×10^3	$> 10^3$	<i>S. aureus</i>
IR4	N	$1,8 \times 10^5$	$4,8 \times 10^4$	$> 10^3$	-
IR5	N	1×10^7	$> 10^3$	$> 10^3$	<i>E. coli</i>
C1	N	$1,2 \times 10^8$	$> 10^3$	$> 10^3$	<i>E. coli, P. aeruginosa, S. aureus</i>
C2	N	$1,1 \times 10^5$	$> 10^3$	$> 10^3$	-
C3	N	4×10^5	$> 10^3$	$> 10^3$	<i>E. coli</i>
C4	N	5×10^5	$> 10^3$	$> 10^3$	-
C5	N	$2,5 \times 10^5$	$> 10^3$	< 10	-

a- Bactérias Gram-negativas bile tolerantes; b- Outros patógenos além de das bactérias GNBT; N – negativo (ausência de capacidade inibitória); UFC – Unidades Formadoras de Colônias; PV- Pata-de-Vaca; IR- Ipê-roxo; C- Carqueja

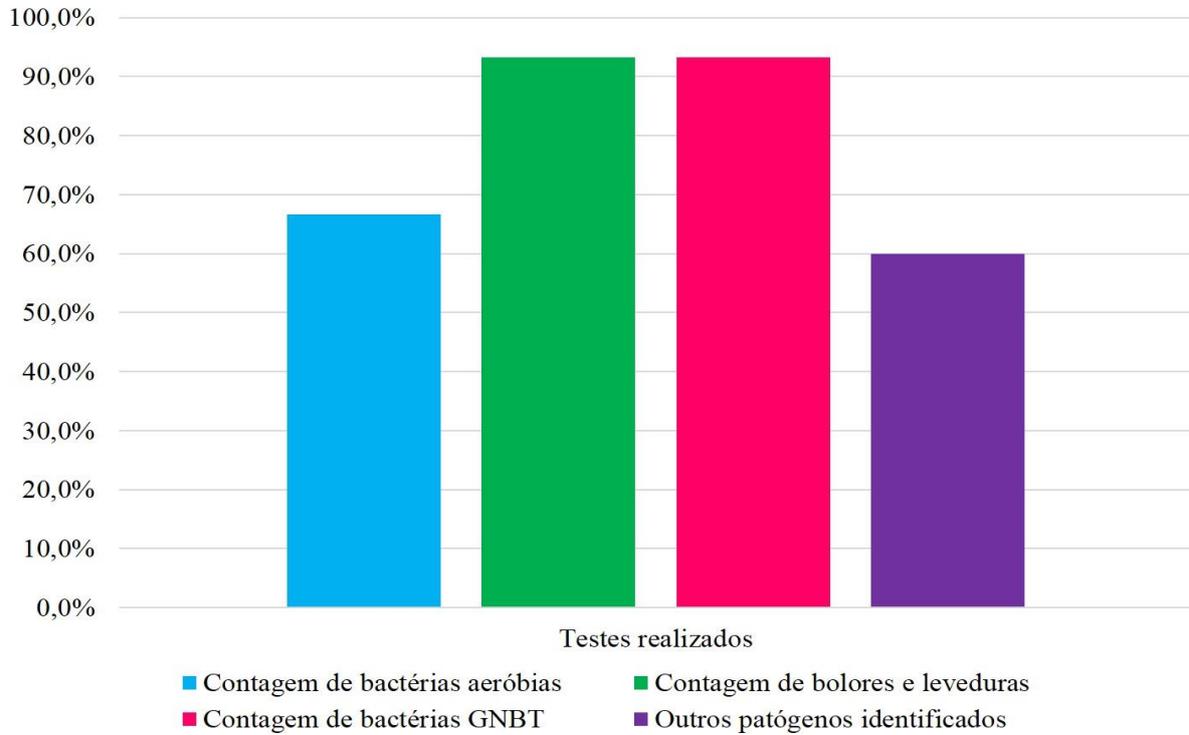
Considerando-se os limites microbianos determinados para a forma de preparo por processo extrativo a frio (Tabela 3, Gráficos 1 e 2), dez (66,6%) das quinze amostras estavam acima dos limites de contaminação por bactérias aeróbias, quatorze (93,3%) estavam acima dos limites de contaminação por bolores e leveduras e quatorze (93,3%) estavam acima dos limites de contaminação por bactérias Gram-negativas bile tolerantes. Baseando-se nestes limites, nenhuma amostra foi aprovada nos quatro testes simultaneamente.

Tabela 3: Resultados das amostras de acordo com os limites microbianos para o modo de preparo por processo extrativo a frio e patógenos pesquisados que se aplicam ao produto.

Amostras	Contagem em UFC/g de produto			Outros Patógenos Identificados
	Bactérias aeróbias	Bolores e Leveduras	GNBT	
PV1	R	R	R	R
PV2	R	R	R	R
PV3	R	R	R	A
PV4	R	R	R	R
PV5	A	A	R	A
IR1	A	R	R	R
IR2	R	R	R	R
IR3	A	R	R	R
IR4	A	R	R	A
IR5	R	R	R	R
C1	R	R	R	R
C2	A	R	R	A
C3	R	R	R	R
C4	R	R	R	A
C5	R	R	A	A
Espécies	Percentagem de reprovação em cada teste			
PV	80%	80%	100%	60%
IR	40%	100%	100%	80%
C	80%	100%	80%	40%
Total	66,6%	93,3%	93,3%	60%

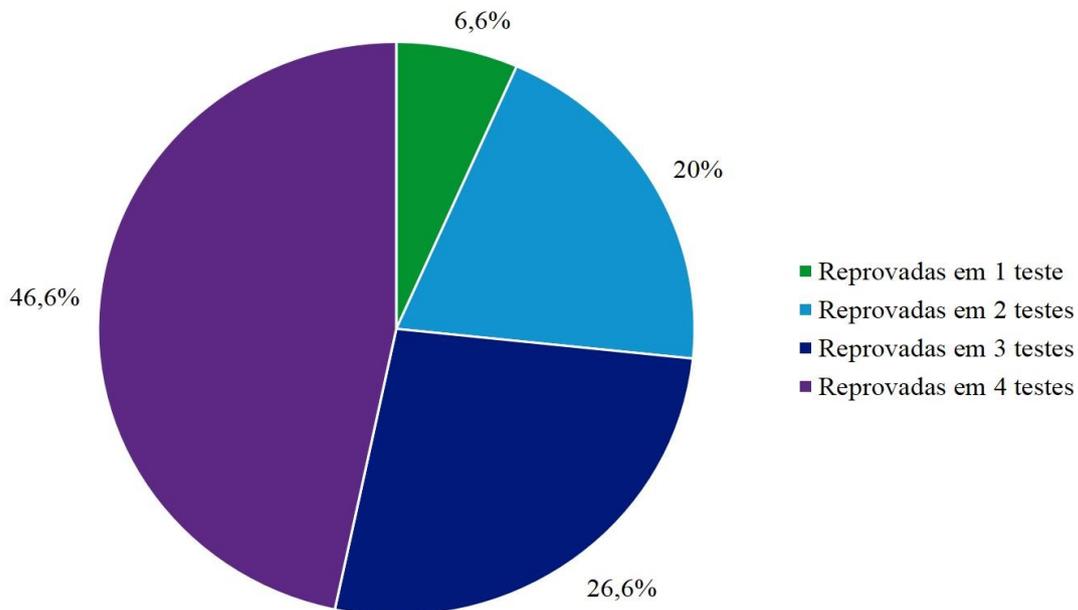
PV- Pata-de-vaca; IR- Ipê-roxo; C- Carqueja; A – Amostra aprovada no teste; R – Amostra reprovaada no teste

Gráfico 1: Gráfico de percentagem de amostras de plantas medicinais reprovadas pelos testes de contagem de bactérias aeróbias, contagem de bolores e leveduras, contagem de bactérias Gram-negativas bile tolerantes e identificação de outros patógenos de acordo com os limites microbianos para extração a frio.



* Gram-negativas bile tolerantes; ** além das bactérias GNBT

Gráfico 2: Gráfico de percentagem de amostras de plantas medicinais reprovadas pela quantidade de testes (contagem de bactérias aeróbias, contagem de bolores e leveduras, contagem de bactérias Gram-negativas bile tolerantes e identificação de outros patógenos) de acordo com os limites microbianos para extração a frio.



Considerando os limites microbianos determinados para produtos de uso oral sem preparo prévio (Tabela 4), apenas uma amostra (PV5) das quinze foi aprovada quanto à carga de contaminação por bactérias aeróbias e bolores e leveduras, entretanto a mesma é reprovada no limite de contaminação por bactérias GNBT. Baseando-se nestes limites, nenhuma amostra foi aprovada nos quatro testes simultaneamente.

Tabela 4: Resultados das amostras de acordo com os limites microbianos e patógenos a serem pesquisados para produtos de uso oral sem preparo prévio.

Amostras	Contagem em UFC/g de produto			Outros Patógenos Identificados
	Bactérias aeróbias	Bolores e Leveduras	GNBT	
PV1	R	R	R	R
PV2	R	R	R	R
PV3	R	R	R	A
PV4	R	R	R	R
PV5	A	A	R	A
IR1	R	R	R	R
IR2	R	R	R	R
IR3	R	R	R	R
IR4	R	R	R	A
IR5	R	R	R	R
C1	R	R	R	R
C2	R	R	R	A
C3	R	R	R	R
C4	R	R	R	A
C5	R	R	A	A
Espécies	Percentagem de reprovação em cada teste			
PV	80%	80%	100%	60%
IR	100%	100%	100%	80%
C	100%	100%	80%	40%
Total	93,3%	93,3%	93,3%	60%

PV- Pata-de-vaca; IR- Ipê-roxo; C- Carqueja; A – Amostra aprovada no teste; R – Amostra reprovada no teste

6 DISCUSSÃO

Com a recomendação do uso de plantas medicinais pelo SUS e o contínuo aumento da utilização destes produtos, é essencial que haja uma avaliação da legislação, conferindo se a mesma regulamenta e exige qualidade e segurança para estes produtos. A contaminação microbiana pode comprometer a atividade terapêutica das plantas medicinais pela inativação de seus agentes terapêuticos, causar alterações físicas na aparência da planta e prejudicar a saúde de um consumidor possivelmente já debilitado.

6.1 Incoerências e contradições na Farmacopeia Brasileira

A Farmacopeia Brasileira de 2010 apresenta, em sua seção sobre ensaios microbiológicos, algumas falhas e incoerências que prejudicam a elaboração de estudos de análise da qualidade microbiológica de produtos não estéreis. Em sua página nº 252, é apresentada uma tabela de título “Limites microbianos para produtos não estéreis”, a qual é dividida em vias de administração de produtos e os respectivos limites microbianos que se aplicam a estas vias. Apesar de tabela citar especificamente “vias de administração”, também são apresentados na tabela limites microbianos para produtos independentemente de sua via de administração. Isto constitui o primeiro problema observável nesta tabela, pois existem produtos que se encaixam em dois ou mais casos, tornando a consulta à tabela confusa e deixando-a à mercê de interpretação. Adicionalmente, a tabela cita o produto “droga vegetal”, mas não esclarece se deve-se considerar que plantas medicinais também se encaixam neste caso, o que seria importante esclarecer, visto que apesar de serem iguais, plantas medicinais e drogas vegetais são considerados produtos diferentes, sendo regulados por leis diferentes. Além disso, a Farmacopeia Brasileira de 2010 cita os microrganismos da espécie *Clostridium* como patógenos, informando a metodologia a ser seguida para a pesquisa do mesmo. Entretanto, apesar de ser citado no texto, a tabela não apresenta nenhuma informação sobre em quais produtos deve-se pesquisar espécies de *Clostridium* e quais os limites de contaminação para este importante microrganismo, ignorando completamente a existência do mesmo.

Outro problema desta tabela, é a existência de uma variação nos limites que aparenta não ser lógica. Por exemplo, a tabela informa que para produtos do tipo “preparação para uso

oral” os limites microbianos são 10^2 para bactérias aeróbias, 10^1 para bolores e leveduras e o único patógeno que deve estar ausente é a *E. coli*. Entretanto, na mesma tabela é apresentado que, para produtos do tipo “preparação para uso oral contendo matéria-prima de origem natural”, os limites de bactérias aeróbias e bolores e leveduras são duas vezes mais brandos, para bactérias GNBT há uma tolerância de 10^2 /g e os patógenos que devem estar ausentes são *E. coli* e *S. aureus* em 1g e *Salmonella* em 10g. A questão que deseja-se levantar sobre este assunto é: Por que um comprimido sintético pode estar contaminado com *Salmonella* e um comprimido de matéria-prima natural não? Por que um comprimido pode estar contaminado com *S. aureus* e bactérias GNBT e o outro não? Esta variação não possui lógica, visto que a via de administração é o que determinará se o microrganismo poderá ou não causar a infecção. Seria portanto mais lógico, considerar que os produtos não estéreis não devem estar contaminados por microrganismos para os quais a via de administração seja uma porta de entrada para o patógeno. Se *Salmonella*, *E. coli* e *S. aureus* são microrganismos que causam patologias intestinais, estes não devem ser permitidos em produtos destinados à via oral, independentemente da composição do produto.

A incoerência da tabela quanto à variação dos limites não se restringe apenas à via de administração oral. Outra inconsistência dessa natureza é apresentada quanto à produtos de via tópica. A extração a frio de plantas medicinais e drogas vegetais é realizada principalmente quando há o intuito de produzir pomadas ou emplastos com a planta para serem usados de forma tópica. Sendo assim, o produto “drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a frio”, e o produto “preparação para uso tópico”, descritos na tabela, deveriam estar de acordo quanto aos microrganismos patogênicos que devem estar ausentes, visto que ambos se aplicam a casos de uso tópico. Apesar disso, não é isso o que ocorre. A tabela informa que, para “preparações para uso tópico” os patógenos *S. aureus* e *P. aeruginosa* devem estar ausentes, enquanto que, para “drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a frio” esses microrganismos são permitidos, havendo limites apenas para *E. coli*, *Salmonella* e bactérias GNBT. Se plantas medicinais e drogas vegetais extraídas a frio são normalmente utilizadas para via tópica, por que os patógenos *S. aureus* e *P. aeruginosa* – ambos importantes causadores de infecções na pele – são permitidos?

O que se deseja esclarecer é que, se é considerado necessário que um microrganismo esteja ausente de um produto que entrará em contato com o intestino, deve-se exigir que este microrganismo esteja ausente de todos os produtos que entrarão em contato com o intestino. Por exemplo, se uma pomada de composição sintética, para tratar feridas na pele, não deve

conter *S. aureus* e *P. aeruginosa*, por que uma planta medicinal para a produção de pomadas parar tratar feridas na pele pode conter esses microrganismos? Portanto, as falhas apresentadas na tabela da Farmacopeia Brasileira de 2010 são contradições, visto que em uma mesma tabela se apresentam requisitos diferentes para produtos com a mesma via de administração.

O preparo de plantas medicinais e drogas vegetais por maceração (processo extrativo a frio) é utilizado para se extrair as propriedades medicinais da planta conservando seus compostos químicos. Receitas tradicionais indicam o uso do extrato obtido por maceração para o consumo por via oral ou uso tópico. O procedimento de extração é realizado deixando-se a planta imersa em água ou álcool durante 24h até 4 semanas. A utilização de água neste processo impulsionará não apenas a extração das propriedades da planta, como também o aumento da carga microbiana, visto que o fornecimento de água tornará o ambiente mais favorável para a multiplicação dos microrganismos. Um estudo demonstrou que o processo de maceração induz a propagação dos microrganismos, podendo levar a planta que está dentro dos limites de contaminação a ficar acima dos limites permitidos (KNEIFEL, CZECH & KOPP, 2002). Considerando-se isto, é importante que a planta não esteja carregada de uma alta carga de contaminação microbiana e nem de patógenos, pois estes entrarão em processo de multiplicação durante a extração. Sendo assim, seria lógico que a Farmacopeia Brasileira determinasse limites baixos de contaminação e requisitasse a ausência de patógenos nestes produtos. Entretanto isto não ocorre. Nos requisitos de qualidade para plantas preparadas por processos extrativos a frio uma variedade de patógenos são permitidos: *Salmonella*, bactérias GNBT, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *C. albicans* e limite altos de contaminação de (10^5 bactérias aeróbias totais e de 10^3 bolores e leveduras). Esta é mais uma incoerência da Farmacopeia Brasileira de 2010, que não considera que o processo extrativo a frio exige uma maior rigorosidade de qualidade, pois este processo estimula o crescimento dos microrganismos, e o extrato obtido possuirá uma carga microbiana mais alta do que a que planta carregava anteriormente.

6.2 Falha na legislação brasileira de plantas medicinais

Atualmente, apenas uma única linha na Lei 5.991 de 1973 regulamenta o produto planta medicinal (BRASIL, 1973). Além de antiga, esta Lei teve muitos dos seus Artigos

revogados, e seu Artigo sobre plantas medicinais não faz exigências de informações importantes para o consumidor constarem no produto. Enquanto isso, existe a RDC 10 de 2010 para regulamentar as drogas vegetais, a qual determina as definições de termos relacionados ao produto, a padronização das medidas de referência, informa sobre a notificação do produto à ANVISA, requisita uma lista de diversos testes de controle de qualidade, normas de embalagem e apresentação de informações obrigatórias. Esta grande diferença na legislação destes produtos demonstra o descaso que existe em relação ao tema de plantas medicinais, levando o produto a ser regulamentado de forma precária e insuficiente, colocando as plantas medicinais numa posição de produto que existe no mercado, mas não existe para a legislação (BRASIL, 2010b).

Um importante questionamento a ser levantado é qual a razão de se manter o Artigo 7º da Lei 5.991/73, que regulamenta as plantas medicinais, considerando que existe atualmente a RDC Nº 10 de 2010, criada com o objetivo de regulamentar as plantas medicinais comercializadas sob a forma de drogas vegetais, exigindo maior controle de qualidade e informações do produto para o paciente. O Artigo que regulamenta plantas medicinais permite que as plantas medicinais sejam comercializadas como produto “planta medicinal” ao invés de “droga vegetal”. Devido a isto, os produtores de plantas medicinais optam por disponibilizar seus vegetais como produto “planta medicinal”, pois assim terão menos trabalho com requisições de qualidade e de informações ao consumidor (BRASIL, 2010b).

6.3 Indicadores a partir dos resultados obtidos

O teste de contagem de bactérias aeróbias é utilizado como indicador para a obtenção de informações gerais sobre a qualidade microbiológica de produtos, pois altos níveis de cargas bacterianas indicam que há uma deficiência ou baixa condição higiênico-sanitária na produção (SILVA *et al.*, 2007). Portanto, a alta taxa de reprovação das amostras no teste de contagem de bactérias aeróbias demonstra a falta de qualidade na condição sanitária na produção de plantas medicinais. A contaminação fúngica em produtos de origem vegetal ocorre principalmente durante o processo de secagem, pelo processo inadequado ou estocagem em ambiente com umidade relativamente alta com temperaturas favoráveis ao crescimento fúngico. O uso de plantas medicinais com contaminação fúngica acima dos limites estabelecidos geram um potencial risco de infecções fúngicas e outras complicações

derivadas do possível acúmulo de micotoxinas produzidas por fungos como *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus flavus*. Muitos estudos evidenciaram a presença de micotoxinas em preparações de vegetais (LUTOMSKI & KEDZIA, 1980; CANDLISH *et al.*, 2001). No teste de contagem de bolores e leveduras, muitas placas apresentaram crescimento fúngico em toda a superfície, inclusive na placas de diluição de 10^{-3} , impossibilitando uma contagem exata. Nestes casos portanto, deve-se considerar que a carga de contaminação por fungos é, possivelmente, maior que a maior contagem exata apresentada na tabela ($4,8 \times 10^4$ UFC/g), a qual foi obtida de placas que eram viáveis para contagem de colônias.

A pesquisa e quantificação de bactérias Gram negativas bile tolerantes é utilizada pois os microrganismos da família *Enterobacteriaceae* são importantes indicadores de precariedade higiênica, processamento inadequado ou contaminação pós-processo, mas não necessariamente de contaminação fecal. Patógenos dessa família são potenciais causadores de doenças de origem alimentar, gerando o risco do consumidor desenvolver infecções do trato intestinal (BAYLIS *et al.*, 2011). A presença de *E. coli* é forte indicação de contaminação fecal, e sua identificação nas amostras indica também a possibilidade da presença de outros patógenos veiculados por fezes humanas ou animais, tais como vírus, outras bactérias patogênicas, cistos de protozoários e ovos de helmintos (KAPER, NATARO & MOLBY, 2004, WHO 2011). *S. aureus* e *P. aeruginosa* são microrganismos encontrados na pele e presença destes nas amostras está associada com a manipulação humana, evidenciando o descumprimento das boas práticas de fabricação. Adicionalmente, são patógenos causadores de doenças em vários órgãos, incluindo pele e intestino. Assim, plantas medicinais contaminadas por estes microrganismos não devem ser utilizadas por via oral ou por via tópica (CROSSLEY & ARCHER, 1997; LINDSAY & HOLDEN, 2004; PIER & RAMPHAL, 2005; WHO, 2011).

6.4 Limites escolhidos

Nenhuma das quinze amostras apresentou resultado satisfatório para o consumo sem preparo prévio ou por extração por maceração. As amostras foram consideradas impróprias para o consumo em ambos os casos de acordo com os limites microbiológicos estabelecidos pela farmacopeia brasileira. Quatorze amostras foram reprovadas mesmo considerando apenas

os testes de contagem de bactérias aeróbias e bolores e leveduras. A única amostra que é aprovada em ambos os testes, é reprovada na contagem de bactérias GNBT.

Apesar da identificação de *P. aeruginosa* e *S. aureus* nas amostras, os limites de contaminação para preparação para uso oral não requisitam a pesquisa de *P. aeruginosa*, o que levaria a aprovação da amostra PV4 caso esta não estivesse reprovada em outros testes. Quanto aos limites microbianos para drogas vegetais extraídas a frio, não há requisição de pesquisa de ambos patógenos, o que permitiria a aprovação das amostras PV4 e IR3 caso estas não estivessem reprovadas em outros testes. Estes são exemplos de como as requisições farmacopeicas não abrangem todas as situações, ignorando a existência de microrganismos patogênicos causadores de severas doenças em humanos e que deveriam estar ausentes destes produtos.

6.5 Contextualização com outros estudos

A literatura científica sobre a qualidade microbiológica de plantas medicinais ainda é escassa, havendo poucos estudos disponíveis para comparação. Além disso, as diferenças na nomenclatura dos produtos em outros países e, no Brasil, a utilização dos nomes dos produtos de forma errada (por conta da confusão dos termos planta medicinal, droga vegetal e fitoterápico) foram fatores que dificultaram a realização de comparação exata dos resultados obtidos neste estudo com os resultados de outros estudos.

Um estudo realizado no Paquistão informou que as amostras de plantas medicinais estudadas estavam contaminadas com *Salmonella typhi* (42,7%), *E. coli* (23,9%), *C. albicans* (26%) e *S. aureus* (9,3%) (MALIK, HUSSAIN & MAHMOOD, 2014). Na Índia, um estudo realizado em 2013 identificou *E. coli*, *P. aeruginosa*, espécies de *Shigella* e *Salmonella* em plantas medicinais (RAJAPANDIYAN, SHANTHI & VIDYA, 2013). Um outro estudo realizado por diversos países europeus em 2013 identificou *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* em 82%, 27% e 18% em amostras de plantas medicinais, respectivamente (BABA-MOUSSA *et al.*, 2013). Apesar de *Clostridium* não ser um patógeno citado na tabela de limites microbianos da Farmacopeia Brasileira de 2010, um estudo realizado na Áustria identificou *Clostridium perfringens* em 19 de 138 amostras de plantas medicinais (CZECH, KNEIFEL & KOPP, 2001). Já em Portugal, *Clostridium perfringens* foi detectado em 83,9% das amostras de plantas medicinais investigadas (MARTINS *et al.*, 2001). Um estudo realizado na

Argentina identificou *Clostridium botulinum* em 7,5% de 200 amostras de ervas e chás de camomila, detectando uma maior carga do patógeno nas amostras de ervas do que nas de chás (BIANCO *et al.*, 2008).

No Brasil, um estudo feito por Bugno e colaboradores em 2005 realizou a pesquisa de diversos microrganismos em espécies vegetais, e apontou que das 91 amostras estudadas, 58,5% possuíam populações bacterianas e 63,1% possuíam populações fúngicas superiores aos limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira de 1988 (BRASIL, 1988), regente à época. Além disso, detectaram espécies de *Klebsiella* em 60,0%, espécies de *Enterobacter* em 52,3%, *E. coli* em 26,2%, *Bacillus cereus* em 9,2%, *Staphylococcus* em 3,1% e *P. aeruginosa* em apenas 1,5%. Em relação aos fungos, realizaram pesquisa de espécies fúngicas conhecidas por sua capacidade em produzir micotoxinas, detectando *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus fumigatus* e outras espécies de *Aspergillus* em 69,2%, 33,8%, 10,8% e 32,3% das amostras, respectivamente, e *Penicillium citrinum*, *Penicillium chrysogenum*, espécies de *Trichoderma* e *Alternaria* em 43,1%, 16,9%, 3,1% e 1,5% das espécies vegetais estudadas, respectivamente. Em seus resultados, apontam que 81,5% das espécies vegetais estudadas podem ser consideradas insatisfatórias por apresentarem pelo menos uma das espécies consideradas como indicadores de risco, e que, considerando as especificações da Farmacopeia Brasileira de 1988, 92,3% das amostras estavam em desacordo com um ou mais parâmetros microbiológicos.

Outro estudo brasileiro realizado no estado do Paraná analisou 72 amostras de plantas medicinais, encontrando contaminações de 2×10^2 UFC/g a $1,7 \times 10^7$ UFC/g por bactérias aeróbias e de 1×10^2 UFC/g a $8,4 \times 10^6$ UFC/g por bolores e leveduras. Foi detectada também a presença de enterobactérias em 95,8% das amostras, com 22,2% de contaminação por *E. coli*. Outros bacilos Gram negativos encontrados foram *E. agglomerans*, *E. cloacae*, *E. aerogeneses*, *E. gergoviae*, *C. amalonaticus*, *K. rhino*, e *A. hinshawii*. 23,6% das amostras também estavam contaminadas por *P. aeruginosa* (ZARONI *et al.*, 2004).

Os resultados encontrados nestes estudos estão de acordo com os obtidos no presente trabalho, podendo-se observar que a contaminação microbiana em plantas medicinais é variável, podendo atingir altas cargas de contaminação. Além disso, os microrganismos *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* foram encontrados em plantas medicinais em vários estudos, enquanto que *C. albicans*, espécies de *Salmonella* e *Shigella* são menos relatados.

6.6 Caracterização das empresas responsáveis pelas amostras

Algumas irregularidades foram observadas nas embalagens dos produtos adquiridos para a análise. Não cabe a este estudo citar as marcas analisadas, portanto elas serão nomeadas A, B, C e D. O Cadastro Nacional de Pessoa Jurídica (CNPJ) informado no rótulo dos produtos foi consultado através do site do Ministério da Fazenda. Todas as empresas apresentaram CNPJ válido e com situação cadastral ativa. Através desta consulta, obteve-se a descrição das atividades econômicas das empresas. A seguir, uma breve descrição das empresas e detalhes concernentes à vigilância sanitária:

– Empresa A

Fabricação de frutas cristalizadas, balas e semelhantes. Comércio varejista de doces, balas, bombons e semelhantes. Desta empresa, utilizou-se amostras de pata de vaca, carqueja e ipê roxo. A quantidade de produto na embalagem era o dobro ou mais do que o peso em gramas informado no rótulo. Apresentava a informação “Produto isento de registro conforme: Lei 5.991/1973, RDC 48/2004, RDCs 267, 276, 277, 278/2005”, onde apenas deveria constar a Lei 5.991/1973. As RDCs citadas dispõem, respectivamente, sobre fitoterápicos; chás; especiarias, temperos e molhos; café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis; e categorias de alimentos e embalagens dispensados de registro (BRASIL, 2004; BRASIL, 2005a; BRASIL, 2005b; BRASIL, 2005c; BRASIL, 2005d).

– Empresa B

Fabricação de cosméticos, produtos de perfumaria e de higiene pessoal. Fabricação de produtos para infusão (chá, mate, etc.). Fabricação de outros produtos alimentícios não especificados anteriormente. Fabricação de preparações farmacêuticas. Fabricação de medicamentos fitoterápicos para uso humano. Desta empresa utilizou-se amostras de ipê roxo. O logo da empresa possui a palavra “fitoterápico”, sendo estampado em todos os produtos da empresa, apesar de a maior parte dos produtos serem medicamentos fitoterápicos. Informa a RDC 278/2005 como a justificativa da ausência de registro (BRASIL, 2005d). Apresenta as instruções de preparo “ferver a planta por pelo menos 5 minutos e abafar por 10 minutos”. No site da empresa, havia uma seção de informações sobre a utilização das plantas medicinais. Ao selecionar o nome de qualquer planta, o site informava outro endereço eletrônico para

obter informações. No endereço eletrônico citado, a planta que foi comprada da empresa (ipê roxo) não estava listada.

– **Empresa C**

Fabricação de outros produtos alimentícios não especificados anteriormente. Fabricação de alimentos e pratos prontos. Desta empresa utilizou-se amostras de carqueja. A quantidade de produto na embalagem era maior do que o peso em gramas informado no rótulo. A embalagem não cita a ausência de registro. Não apresenta informação sobre o lote. Apresenta a frase “não contém glúten”. Apresenta as instruções de preparo “despejar água fervente sobre as ervas secas ou frescas, cobrir, deixar descansar por 10 minutos e depois coar”.

– **Empresa D**

Comércio atacadista de produtos alimentícios em geral e outros produtos alimentícios não especificados anteriormente. Desta empresa utilizou-se amostras de pata de vaca e carqueja. Informa que o produto é isento de registro conforme um decreto com data errada, além de ser um decreto revogado. Não apresenta informação sobre o lote. Não apresenta o nome científico da espécie. Apresenta no rótulo a figura de uma criança bebendo em uma caneca com a palavra “chá”, as frases “chá 100% natural” e “ervas naturais” e erro de ortografia no nome do produto “carqueija”. Uma das amostras dessa marca continha um pedaço de papelão dentro da embalagem.

7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo permitiram as seguintes observações:

1) As plantas medicinais apresentam alta carga de contaminação microbiana, carregando uma diversidade de patógenos com potencial risco de infecção e intoxicação.

2) Estes produtos não são seguros para o uso oral ou tópico pois estão potencialmente contaminados com microrganismos para os quais a via de administração é a porta de entrada do patógeno, conferindo ainda maior risco à saúde por não conterem informações de preparo e uso e serem consumidos por pacientes de diversas faixas etárias e grupos de risco.

3) É necessário que seja implementado um melhor controle de qualidade, com o cumprimento das boas práticas de fabricação, visando assegurar a qualidade microbiológica do produto.

4) A Farmacopeia Brasileira de 2010 necessita de revisão, pois requisições mais sensatas e informações mais claras favoreceriam a elaboração e desenvolvimento de estudos de vigilância sanitária e promoveriam a comercialização de produtos com mais segurança e qualidade.

5) Uma revisão e renovação da legislação de plantas medicinais poderia melhorar o quadro atual, ao exigir um produto com maiores informações para o consumidor, podendo assim diminuir os riscos.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento do uso de plantas medicinais no Brasil, aliado à aprovação e implementação de Políticas Nacionais para a integração do uso das plantas medicinais na Saúde, tornam necessários que estes produtos sejam disponibilizados aos consumidores com qualidade, segurança e eficácia garantidos. Entretanto, atualmente estes produtos estão marginalizados pela legislação, carecendo de maiores requisições e melhor regulamentação para assegurar a comercialização de plantas medicinais de qualidade. A atenção legislativa insuficiente quanto às plantas medicinais tem como consequência a falta de cuidados no cultivo, coleta e processamento das mesmas, interferindo diretamente na sua qualidade final, podendo inclusive acarretar na perda de suas propriedades terapêuticas. Assim, produtos para fins medicinais são comercializados para pacientes de diversas faixas etárias e grupos de risco, sem que haja uma real segurança de sua qualidade e eficácia, apresentando um potencial risco de infecção e intoxicação para o consumidor. Portanto, as plantas medicinais são um importante tema de saúde pública a ser tratado, necessitando de discussão para que haja algum progresso.

Adicionalmente, uma revisão da Farmacopeia Brasileira de 2010 quanto aos problemas citados neste estudo seria de grande valia não apenas para o tema tratado neste trabalho, mas para possibilitar a realização de um melhor controle de qualidade e demandar a fabricação de produtos mais seguros. Especificações mais adequadas e informações mais claras favoreceriam a elaboração e desenvolvimento de estudos de vigilância sanitária e promoveriam a comercialização de produtos com mais segurança e qualidade.

REFERÊNCIAS

- ADIGUZEL A., GULLUCE, M., SENGUL, M. OGUTCU, H., SAHIN, F. & KARAMAN, I. Antimicrobial effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae) extract. **Turkish Journal of Biology**, v.29, p.155-160, 2005.
- ALEXANDRE, R. F., BAGATINI, F. & SIMÕES, C. M. O. Interações entre fármacos e medicamentos fitoterápicos à base de ginkgo ou ginseng. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.1, p.117-126, 2008b.
- ALEXANDRE, R. F., BAGATINI, F. & SIMÕES, C. M. O. Potenciais interações entre fármacos e produtos à base de valeriana ou alho. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.3, p. 455-463, 2008a.
- AMARAL, F. M. M., COUTINHO, D. F., RIBEIRO, M. N. S. & OLIVEIRA, M. A. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luís/ Maranhão. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.13, n.1, p.27-30, 2003.
- BABA-MOUSSA, F., ADJANOHOUN, A., ANIHOUVI, V. B., AHOUANDJNOU, H., SANNI, S., OMANSEN, T. F., KOTCHONI, S. O., TOUKOUROU, F. & BABA-MOUSSA L. Quality-Based Microbial Contamination Analysis of Nutraceuticals. **International Research Journal of Biological Sciences**, v. 2, n.1, p.46-51, 2013.
- BALBINO E. E. & DIAS M. F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.6 p.992-1000, 2010.
- BARBOSA, C. K. R., COSTA, J. P. R., BONFIM, F. P. G., ALMEIDA, A. C. & MARTINS, E. R. Qualidade microbiológica de plantas medicinais cultivadas e comercializadas em Montes Claros - MG. **Revista Biotemas**, v.23, n.1, p.77- 81, 2010.
- BARBOSA-FILHO, J. M., VASCONCELOS, T. H. C., ALENCAR, A. A., BATISTA, L. M., OLIVEIRA, R. A. G., GUEDES, D. N., FALCÃO, S. H., MOURA, M. D., DINIZ M. F. F. M. & MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n.4, p.392-413, 2005.
- BAYLIS, C., UYTENDAELE, M., JOOSTEN, H. & DAVIES, A. The *Enterobacteriaceae* and their Significance to the Food Industry. **ILSI Europe Report Series**, 2011.

BELANGER, L., GARENAUX, A., HAREL, J., BOULIANNE, M., NADEAU, E. & DOZOIS, C. M. *Escherichia coli* from animal reservoirs as potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.62, n.1, p.1-10, 2011.

BENNISH, M.L. Potentially lethal complications of shigellosis. **Review of Infectious Diseases**, v.13, n.4, p.319-324, 1991.

BERG, M. E. Plantas medicinais na Amazônia – Contribuição ao seu conhecimento sistemático. Belém, **Museu Paraense Emílio Goeldi**, 207p., 1993.

BHUNIA, A. K. Foodborne microbial pathogens: Mechanisms and pathogenesis. **United States of America: Springer Science + Business Media, LLC**, 2008.

BIANCO, M. I., LUQUEZ, C., DE JONG, L. I. T. & FERNANDEZ, R. A. Presence of *Clostridium botulinum* spores in *Matricaria chamomilla* (chamomile) and its relationship with infant botulism. **International Journal of Food Microbiology**, v.121, n.3, p.357-360, 2008.

BRANDAO, M. G. L., FREIRE, N. & VIANNA-SOARES, C. D. Vigilância de fitoterápicos em Minas Gerais. Verificação da qualidade de diferentes amostras comerciais de camomila. **Cadernos de Saúde Pública**, v.14, n.3, p. 613-616, 1998.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 971 de 03 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 04mai, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**. Brasília. 2009b.

BRASIL, Decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 2006c.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**. Brasília, 2006d.

BRASIL. Decreto Lei nº 986 de 21 de outubro de 1969. Institui normas básicas sobre alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. 21. out., p.008935 3, 1969.

BRASIL, Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a Vigilância Sanitária a que ficam sujeitos os Medicamentos, as Drogas, os Insumos Farmacêuticos e Correlatos, Cosméticos, Saneantes e Outros Produtos, e dá outras Providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. 24.set, p.012647, Seção1, 1976.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Portaria nº 1.660, de 22 de julho de 2009**. Institui o Sistema de Notificação e Investigação em Vigilância Sanitária - VIGIPOS, no âmbito do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, como parte integrante do Sistema Único de Saúde - SUS. 2009c. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/da57ae004b948770aa0cbaaf8fded4db/Portaria_MS_1660_22_de_julho_de_2009.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em 24 jan 2015

BRASIL, Ministério da Saúde. **Resolução - RDC Nº 10, de 9 de Março de 2010**. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. 2010b.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Resolução RDC Nº 17, de 16 de Abril de 2010**. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. 2010c.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, 4ª ed., v. 1. Atheneu Editora, São Paulo, 1988.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº 48, de 16 de março de 2004**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº 267, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o “REGULAMENTO TÉCNICO DE ESPÉCIES VEGETAIS PARA O PREPARO DE CHÁS”. 2005a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº 276, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o “REGULAMENTO TÉCNICO PARA ESPECIARIAS, TEMPEROS E MOLHOS”. 2005b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº 277, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o “REGULAMENTO TÉCNICO PARA CAFÉ, CEVADA, CHÁ, ERVA-MATE E PRODUTOS SOLÚVEIS”. 2005c.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC N° 278, de 22 de setembro de 2005**. Aprova as categorias de Alimentos e Embalagens Dispensados e com Obrigatoriedade de Registro.” 2005d.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, 5. ed, v. 1. Brasília: Anvisa, 2010d.

BRASIL. Lei n° 5.991 de 17 de Dezembro de 1973. Dispõe sobre o Controle Sanitário do Comércio de Drogas, Medicamentos, Insumos Farmacêuticos e Correlatos, e dá outras Providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 1973.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria Interministerial n° 2.960, de 9 de dezembro de 2008**. Aprova o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria n° 886, de 20 de Abril de 2010**. Institui a Farmácia Viva no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). 2010a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº18, de 3 de Abril de 2013**. Dispõe sobre as boas práticas de processamento e armazenamento de plantas medicinais, preparação e dispensação de produtos magistrais e oficinais de plantas medicinais e fitoterápicos em farmácias vivas no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS**. Brasília, 92 p., 2006b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **RENISUS - Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**. Espécies vegetais. DAF/SCTIE/MS - RENISUS – 2009a.

BRASIL. **Resolução SES n°.1757, de 18 de fevereiro de 2002**. Contra-indica o uso de Plantas Medicinais no Âmbito do Estado do Rio de Janeiro e dá outras providências. Diário Oficial do Estado do Rio de Janeiro, v.27, n.33, parte I, 2002.

BRUNING, M. C. R., MOSEGUI, G. B. G. & VIANNA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.17, n.10, p.2675-2685, 2012.

BRUNO, J. J. & ELLIS, J. J. Herbal use among US elderly: 2002 National Health Interview Survey. **Annals of Pharmacotherapy**, v.39, n.4, p.643-648, 2005.

BUGNO, A., BUZZO, A. A., NAKAMURA, C. T., PEREIRA, T. C., MATOS, D. & PINTO, T. J. A. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.14, n.4, 2005.

CANDLISH, A. A. G., PEARSON, S. M., AIDOO, K. E., SMITH, J. E., KELLY, B. & IRVINE, H. A survey of ethnic foods for microbial quality and aflatoxin content. **Food Additives Contaminants**, v.18, n.2, p.129-136, 2001.

CAPASSO, F. The medicinal plants in our time. **Bolletino Chimico Farmaceutico**. Milano, v.125, n.9, p.322-327, 1986.

CAPASSO, R., IZZO, A. A., PINTO, L., BIFULCO, T., VITOBELLO, C. & MASCOLO, N. Phytotherapy and quality of herbal medicines. **Fitoterapia**, v.71, supl.1, p.58-65, 2000.

CORDEIRO, C. H. G., CHUNG, M. C. & SACRAMENTO, L. V. S. Interações medicamentosas de fitoterápicos e fármacos: *Hypericum perforatum* e *Piper methysticum*, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n.3, 2005.

CROSSLEY, K. B. & ARCHER, G. L. **The Staphylococci in human disease**. Churchill Livingstone, 1997.

CZECH, E., KNEIFEL, W. & KOPP, B. Microbiological status of commercially available medicinal herbal drugs – a screening study. **Planta Medica**, v.67, n.3, p.263-269, 2001.

DA SILVA, K. L. & FILHO, V. C. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química Nova**, v.25, n.3, p.449-454, 2002.

DIAS, L. F. T., MELO, E. S., HERNANDES, L. S. & BACCHI, E. M. Atividades antiúlcera e antioxidante *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.1b, 2009.

DIAS, T. A. Medicinal plants in Brazil. In: **Newsletter-G-15 Gene Banks for Medicinal & Aromatic Plants**, n.7-8, p.4, 1995.

ERNST, E. & PITTLER, M. H. Risks associated with herbal medicinal products. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, v.152, n.7-8, p.183-189, 2002.

FALKENBERG, M. B., SIMÕES, C. M. O. Quinonas. In: SIMÕES, C. N. O. et al (Org.). **Farmacognosia - da planta ao medicamento**. Porto Alegre. UFRGS/UFSC, 821p, 1999.

FENNELL, C. W., LINDSEY, K. L., MCGAW, L. J., SPARG, S. G., STARFFORD, G. I., ELGORASHI, E. E., GRACE, O. M. & VAN STADEN, J. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicology. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 94, n.2-3, p.205-217, 2004.

FIERER, J. & GUINEY, D. G. Diverse virulence traits underlying different clinical outcomes of Salmonella infection. **The Journal of Clinical Investigation**, v.107, n.7, p.775-780, 2001.

FOWLER, A., KOUTSIONI, Y. & SOMMER, V. Leaf-swallowing in Nigerian chimpanzees: evidence for assumed self-medication. **Primates**, v.48, n.1, p.73-76, 2007.

GENÉ, R. M., CARTAÑA, C., ADZET, T., MARÍN, E., PARELLA, T. & CAÑIQUERAL, S. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Baccharis trimera*. Identification of its active constituents. **Planta Medica**, New York, v.62, n.3, p.232-235, 1996.

GONZALES, J. R., BENAVIDES, V., ROJAS, R. & PINO, J. Efecto embriotóxico y teratogênico de *Ruta chalepensis* L. «ruda», en ratón (*Mus musculus*). **Revista Peruana de Biología**, v.13, n.3, p.223-225, 2006.

GREGORY, J. H. Evolution of Pharmacy. In: **GENNARO A. R. Remington: The Science and Practice of Pharmacy**, 20th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkens, Chapter I, 2000.

HAN, J. Traditional Chinese medicine and the search for new antineoplastic drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, v.24, n.1, p.1-17, 1988.

HOSTETTMANN, K., QUEIROZ, E. F. & VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EDUFSCAR, 152 p., 2003.

HSU, Y. J., LEE, T. H., CHANG, C. L., HUANG, Y. T. & YANG, W.C. Anti-hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens pilosa* water extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.122, n.2, p.379-383, 2009.

KAPER, J. B., NATARO, J. P. & MOLBY, H. L. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v.2, n.2, p.123-140, 2004.

KNEIFEL, W., CZECH, E. & KOPP, B. Microbial contamination of medicinal plants - a review. **Planta Medica**, v.68, n.1, p.5-15, 2002.

KUNENE, N. F., HASTINGS, J. W. & VON HOLY, A. Bacterial populations associated with a sorghum-based fermented weaning cereal. **International Journal of Food Microbiology**, v.49, n.1-2, p.75-83, 1999.

KUO, C. L., CHI, C. W. & LIU, T. Y. The anti-inflammatory potential of berberine in vitro and in vivo. **Cancer Letters**, v.203, n.2, p.127-137, 2004.

LÉVI-STRAUSS, C. A ciência do concreto. In: **O pensamento selvagem**. Campinas: Papyrus, p.15-50, 1989.

LIM, C. S., ROSLI, R., SEOW, H. F., CHONG, P. P. Candida and invasive candidiasis: back to basics. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v.31, n.1, p.21-31, 2012.

LIM, H., KIM, M. K., LIM, Y., CHO, Y. & LEE, C. Inhibition of cell-cycle progression in HeLa cells by HY52, a novel cyclindependent kinase inhibitor isolated from *Bauhinia forficata*. **Cancer Letters**, v.233, n.1, p.89-97, 2006.

LINDSAY, J. A. & HOLDEN, M. T. *Staphylococcus aureus*: superbug super genome? **Trends in Microbiology**, v.12, n.8, p.378-385, 2004.

LINO, C. D. E. S., DIÓGENES, J. P., PEREIRA, B. A., FARIA, R. A., ANDRADE NETO, M., ALVES, R. S., DE QUEIROZ, M. G., DE SOUZA, F. C. & VIANA, G. S. Antidiabetic activity of *Bauhinia forficata* extracts in alloxan-diabetic rats. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.27, n.1, p.125-127, 2004.

LORENZI, H. & MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

LU, Y. & CHEN, D. F. Analysis of *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera*. **Journal of Chromatography A**, v.1216, n.11, p.1980-1990, 2009.

LUTOMSKI, J. & KEDZIA, B. Mycoflora of crude drugs: Estimation of mould contaminations and their toxicity. **Planta Medica**, v.40, n.2, p.212-217, 1980.

MALIK, F, SHAHZAD, H. & MAHMOOD, S. Appraisal of medicinal plants used in alternative systems of medicines for microbial contamination, physiochemical parameters and heavy metals. **Pakistan Journal of Botany**, v.46, n.2, p.645-658, 2014.

MARLIERE, L. D. P., RIBEIRO, A. Q., BRANDÃO, M. G. L., KLEN, C. H. & ACURCIO, F. A. Utilização de fitoterápicos por idosos: resultados de um inquérito domiciliar em Belo Horizonte (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol.18, supl., p.754-760, 2008.

MARQUES, F. C. Fito 2000 – Lima, Peru. **Boletim da Associação Catarinense de Plantas Mediciniais**. No prelo 2001.

MARTINS, E. R., CASTRO, D. M., CASTELLANI, D. C. & DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa, Editora Universidade Federal de Viçosa, 220p., 2003.

MARTINS, H. M., MARTINS, M. L., DIAS, M. I. & BERNARDO, F. Evaluation of microbiological quality of medicinal plants used in natural infusions. **International Journal of Food Microbiology**, v.68, n.1-2, p.149-153, 2001.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil**. 2ª ed. Editora Universidade Federal do Ceará, 344p, 2000.

MELO, J. G., MARTINS, J. D. G. R., AMORIM, E. L. C. & ALBURQUERQUE, U. P. Qualidade de produtos à base de plantas medicinais comercializadas no Brasil: castanha da índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.)Stapf.) e centela (*Centela asiatica* (L.) Urban) **Acta Botânica Brasílica**, v.21, n.1, 2007.

MICELI, M. H., DÍAZ, J. A. & LEE, S. A. Emerging opportunistic yeast infections. **The Lancet Infectious Diseases**, v.11, n.2, p.142 -151, 2011.

MIGLIATO, K. F., MOREIRA, R. R. D., MELLO, J. C. P., SACRAMENTO, L. V. S., CORREA, M. A. & SALGADO, H. R. N. Controle de qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skells. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p.94-101, 2007.

MIRANDA, F. G. G., VILAR, J. C., ALVES, I. A. N., CALVALCANTI, S. C. & ANTONIOLLI, A. R. Antinociceptive and antiedematogenic properties and acute toxicity of *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb. inner bark aqueous extract. **BMC Pharmacology**, v.1, n.6, 2001.

MORGAN, K. **Medicine of the Gods: Basic Principles of Ayurvedic Medicine**, 2000.

MURRAY, P. R., BARON, E. J., JORGENSEN, J. H., LANDRY, M. L. & PFALLER, M. A. **Manual of clinical microbiology**. 9ed. Washington D.C., American Society of Microbiology, 2007.

NAKASUGI, T. & KOMAI, K. Antimutagens in the TTPlian folk medicinal plant Carqueja (*Baccharis trimera* Less.). **Journal of Agricultural Food Chemistry**. Washington, D.C., v.46, n.7, p.2560-2564, 1998.

NEWALL, C. A., ANDERSON, L. A. & PHILLIPSON, J. D. Herbal Medicines: A guide for health-care professionals. **London: The Pharmaceutical Press**, 1996.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. **Journal of Natural Products**, v.7, n.3, p.461-477, 2007.

NIYOGI, S. K. Shigellosis. **Journal of Microbiology**, v.43, n.2, p.133-143, 2005.

OCHMAN, H. & GROISMAN, E. A. The origin and evolution of species differences in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. **EXS**, v.69, p.479-493, 1994.

OLIVEIRA, A. C. P., ENDRINGER, D. C., AMORIM, L. A., DAS GRAÇAS L. BRANDÃO M. & COELHO, M. M. Effect of the extracts and fractions of *Baccharis trimera* and *Syzygium cumini* on glycaemia of diabetic and non-diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.102, n.3, p.465-469, 2005.

PANIZZA, S. **Plantas que curam: Cheiro de mato**. São Paulo. IBRASA, 279p, 1997

PANOSSIAN, A. & WIKMAN, G. Pharmacology of *Schisandra chinensis* Bail: an overview of Russian research and uses in medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v.118, n.2, p.183-212, 2008.

PIER G & RAMPHAL R. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Mandell G, Bennett J, Dolin R, eds, **Principles and practice of infectious diseases**. Philadelphia, PA: Elsevier Churchill Livingstone, 2587–2615, 2005.

PISCITELLI, S. C. The effect of garlic supplements on the pharmacokinetics of saquinavir. **Clinical Infectious Diseases**, v.34, n.2, p.234-238, 2002.

PUI, C. F., WONG, W. C., CHAI, L. C., NILLIAN, E., GHAZALI, F. M., CHEAH, Y. K., NAKAGUCHI, Y., NISHIBUCHI, M. & RADU, S. Simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Typhimurium in sliced fruits using multiplex PCR. **Food Control**, 22, n.2, p.337-342, 2011.

RAJAPANDIYAN, K., SHANTHI, S. & VIDYA, S. Assessment of microbial quality in marketed herbal drugs sold in Trichy city. **International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences**, v.3, n.3, p.894-898, 2013.

RAMAN, R. & KANDULA, S. Zoopharmacognosy: self-medication in wild animals. **Resonance**, v.13, p.245-253, 2008.

SAITO, H. Regulation of herbal medicines in Japan. **Pharmacological Research**, v.41, n.5, p.515–519, 2000.

SHINOHARA, N. K. S., BARROS, V. B., JIMENEZ, S. M. C., MACHADO, E. C. L., DUTRA, R. A. F. & FILHO, J. L. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência e Saúde Coletiva**, v.13, n.5, 2008.

SILBY, M.W., WINSTANLEY, C., GODFREY, S.A., LEVY, S.B. & JACKSON, R.W. *Pseudomonas* genomes: Diverse and adaptable. **FEMS Microbiology Reviews**, v.35, n.4, p.652-680, 2011.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V. C. A, SILVEIRA, N. F. A., TANIWAKI, M. H., SANTOS, R. F. S. & GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 536p. 2007.

SOARES, J. A. R., GALDURÓZ, J. C; F., MARQUES, L. C., KATO, E. T., MACRINI, T. & RODRIGUES, E. Possible Adverse Reactions to Herbal Products: A Study with Individuals Who Resort To Popular Medicine in the City of Diadema, SP, Brazil. **Phytotherapy Research**, v.28, n.3, p.405-411, 2013.

SOUSA, M. P., MATOS, M. E. O., MATOS, F. J. A., MACHADO, M. I. L. & CRAVEIRO, A. A. **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras**. 2.ed. Fortaleza, Editora Universidade Federal do Ceará, 448p, 2004.

STEIRNERT, J., KHALAF, H. & RIMPLER, M. HPLC separation and determination of naphtho-[2,3,6]-furan-4,9-diones and related compounds in extracts of *Tabebuia avellanedae* (*Bignoniaceae*). **Journal of Chromatography**, v.693, p.281-287, 1995.

SUMNER, J. **The Natural History of Medicinal Plants**. Timber Press, USA, 2000.

TOBINAGA, S., SHARMA, M. K., AALBERSBERG, W.G., WATANABE, K., IGUCHI, K., NARUI, K., SASATSU, M. & WAKI, S. Isolation and identification of a potent antimalarial and antibacterial polyacetylene from *Bidens pilosa*. **Planta Medica**, v.75, n.6, p.624-628, 2009.

TOLEDO, A. C. O., HIRATA, L. L., BUFFON, M. C. M, MIGUEL, M. D. & MIGUEL, O. G. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta**, v.21, n.1-2, p.7-13, 2003.

TOMAZZONI, M. I., NEGRELLE, R. R. B. & CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto Contexto Enfermagem**, v.15, n.1, p.115-121, 2006.

VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.2, p.308-313, 2008.

VEIGA JUNIOR, V., PINTO, A. & MACIEL M. A. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v.28, n.3, 519-528, 2005.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **For assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues**. Geneva, 2011.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines on good manufacturing practices [GMP] for herbal medicines**. Geneva, 2007.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The importance of Pharmacovigilance - Safety Monitoring of Medicinal Products**. Geneva, 2002.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines on safety monitoring of herbal medicines in pharmacovigilance systems.** Geneva, 2004.

WINSLOW, L. C. & KROLL, D. J. Herbs as medicines. **Archives of Internal Medicine**, v.158, n.20, p.2192-2199, 1998.

WONG, A. & CASTRO, E. G. R. Aspectos toxicológicos dos fitoterápicos. **Arquivos Brasileiros de Fitomedicina Científica**, v.1, p.96-102, 2003.

YAN, D., JIN, C., XIAO, X. H. & DONG, X. P. Antimicrobial properties of berberines alkaloids in *Coptis chinensis* Franch by microcalorimetry. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**. v.70, n.6, p.845-849, 2008.

YUNES, R. A., PEDROSA, R. C. & CECHINEL FILHO. V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v.24, n.1, p.147-152, 2001.

ZARONI, M., PONTAROLO, R., ABRAHÃO, W. S. M., FÁVERO, M. L. D., CORREA JÚNIOR, C. & STREMEL, D P. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas n Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, n.1, p.29-39, 2004.