

- **Reagentes**

Água destilada, estéril

Kit para identificação de bactérias Gram negativas, enterobactérias, API 20 E[®], bioMérieux

Kit para identificação de bactérias Gram negativas, não enterobactérias, API 20 NE[®], bioMérieux

Óleo mineral, Newprov, estéril

Plasma de coelho, liofilizado, Newprov

Reagentes para coloração de Gram, Laborclin

Solução salina a 0,9%, estéril

Tiras para teste de oxidase, Laborclin

- **Insumos**

Agulha bacteriológica

Alça para inoculação

Placas de Petri, 15 x 100 mm, estéreis

Ponteiras descartáveis, com capacidade para 100 µL, estéreis

Ponteiras descartáveis, com capacidade para 1000 µL, estéreis

Tubos de ensaio, 16 x 160 mm, estéreis

- **Equipamentos**

Estufa bacteriológica, 35 ± 1 °C, Fanem

Estufa bacteriológica, 42 ± 1 °C, Fanem

Pipetador monocanal, volume variável de 10 a 100 µL, Boeco

Pipetador monocanal, volume variável de 100 a 1000 µL, Boeco

- Cepas-padrão

Escherichia coli ATCC 11229

Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442

Salmonella Choleraesuis ATCC 10708

Staphylococcus aureus ATCC 6538

Identificação de fungos

- Meios de cultura

Agar Dextrose Batata, Difco

Agar Sabouraud com cloranfenicol, Difco

- Insumos

Agulha bacteriológica

Placas de Petri, 15 x 100 mm, estéreis

Tubo 0,5 da escala de McFarland

- Equipamentos

Incubadora BOD, 26 ± 1 °C, Fanem

2.2.3 – Métodos

2.2.3.1 – Validação do método para enumeração de bactérias aeróbias, bolores e leveduras – técnica de plaqueamento em profundidade

A técnica de plaqueamento em profundidade (*pour plate*) foi utilizada para a enumeração de bactérias aeróbias e de bolores e leveduras, conforme descrita em compêndios oficiais (FBras, 1988; USP, 2005; WHO, 1998).

Para verificar a presença de compostos com ação antimicrobiana, inerentes à amostra, capazes de interferir no crescimento microbiano, foi executada a validação da técnica de plaqueamento em profundidade para enumeração de bactérias aeróbias e de bolores e leveduras (USP, 2005).

Para este estudo, porções de 100 g de cada tipo de droga vegetal foram encaminhadas para descontaminação por irradiação, com dose de 10 KGy, na Empresa Brasileira de Radiações (EMBRARAD).

A partir de cultura-estoque das cepas padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella Choleraesuis* ATCC 10708, *Escherichia coli* ATCC 11229 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, foram realizados subcultivos em tubos contendo Agar Caseína de soja inclinado, incubados a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ por 48 horas e a partir de cultura-estoque das cepas padrão de *Candida albicans* ATCC 10231 e de *Aspergillus niger* ATCC 16404, foram realizados subcultivos em Agar Sabouraud com cloranfenicol (0,5%), incubados a $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$ por 7 dias. Após o período de

incubação, o crescimento microbiano foi recolhido em solução salina 0,9% estéril e a suspensão obtida foi ajustada com solução salina 0,9% estéril, utilizando o tubo 0,5 da escala de McFarland como referência. Estas suspensões padronizadas (contendo aproximadamente 10^6 UFC/mL) foram mantidas sob refrigeração e, no momento de serem utilizadas na validação, foram ajustadas em solução salina 0,9% estéril para conterem aproximadamente 100 UFC/mL.

Porções de 10 g de cada amostra foram adicionadas a 90 mL de Água Peptonada Tamponada, seguindo-se de homogeneização, em agitador tipo vórtex, por dois minutos. Aliquotas de 1 mL foram transferidas para o centro de seis séries de duas placas de Petri, (15 x 100) mm. Sobre a amostra, foi adicionada 0,5 mL de cada suspensão microbiana ajustada para conter aproximadamente 100 UFC/mL. Após homogeneização, foram adicionados 25 mL de Agar Caseína de soja, para a detecção de bactérias e 25 mL de Agar Sabouraud com cloranfenicol (0,5%), para a detecção de fungos. A incubação foi realizada a temperaturas de (35 ± 1) °C, por 48 horas, para contagem de bactérias e de (26 ± 1) °C, por 7 dias, para contagem de fungos.

Para o controle, o mesmo procedimento foi executado utilizando 1 mL de solução salina 0,9% estéril, em lugar da amostra.

2.2.3.2 – Avaliação da qualidade microbiológica

Todas as amostras foram submetidas aos ensaios, realizados em triplicata.

2.2.3.2.1 – Preparação das amostras

Porções de 10 g de cada amostra foram adicionadas a 90 mL de Água Peptonada Tamponada, seguindo-se de homogeneização, em agitador tipo vórtex, por dois minutos. A partir desta diluição inicial foram executadas diluições decimais seriadas até 10^{-8} , também em Água Peptonada Tamponada, com homogeneização em agitador tipo vórtex, por um minuto.

2.2.3.2.2 – Enumeração de bactérias aeróbias, bolores e leveduras

A técnica de plaqueamento em profundidade (*pour plate*) foi utilizada para a enumeração de bactérias aeróbias e de bolores e leveduras, conforme descrita em compêndios oficiais (FBras, 1988; USP, 2005; WHO, 1998).

Alíquotas de 1 mL de cada uma das diluições da amostra foram transferidas para o centro de quatro placas de Petri, (15 x 100) mm, sendo que sobre duas

destas placas foram adicionados 25 mL de Agar Caseína de soja, para a contagem de bactérias e sobre outras duas, 25 mL de Agar Sabouraud com cloranfenicol (0,5%), para a contagem de fungos. Após homogeneização das placas e solidificação do agar, as placas foram incubadas, em posição invertida, a temperatura de $(35 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, por 48 horas, para contagem de bactérias e a temperatura de $(26 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, 7 dias, para contagem de bolores e leveduras.

2.2.3.2.3 – Enumeração de bactérias do grupo dos coliformes e de *Escherichia coli*

A técnica dos Tubos Múltiplos foi utilizada para a determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes, totais e termotolerantes, e de *Escherichia coli* (APHA, 2001; FDA, 2001; WHO, 1998).

Para o teste presuntivo de coliformes totais, três alíquotas de 10 mL da diluição inicial da amostra foram transferidas para séries de tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril sulfato triptose com concentração dupla com tubos de Durham e três alíquotas de 1 mL e de 0,1 mL da diluição inicial da amostra foram transferidas para séries de tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril sulfato triptose com tubos de Durham. Todos os tubos foram incubados a $(35 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, por 48 horas. Para o teste confirmatório de coliformes totais, foram tomados os tubos que apresentaram turvação e produção de gás e transferida uma alçada de cada cultura para tubos de

ensaio contendo 10 mL de Caldo Verde brilhante bile 2% com lactose com tubos de Durham. Os tubos foram incubados a $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 48 horas.

Para a contagem de coliformes termotolerantes, foram tomados os tubos de Caldo Lauril sulfato triptose e de Caldo Verde brilhante bile 2% com lactose que apresentaram turvação e produção de gás e transferida uma alçada para tubos de ensaio contendo 10 mL de Caldo EC com tubos de Durham, incubados a $(45 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, por 24 horas.

Para a contagem de *Escherichia coli*, foram tomados os tubos de Caldo EC que apresentaram turvação e produção de gás e transferida uma alçada para placas de Petri contendo Agar Eosina Azul de metileno, incubadas a $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 24 horas.

Em todos os testes foram utilizados como controles os seguintes microrganismos: *Proteus mirabilis* CDC 305, *Escherichia coli* ATCC 11229 e *Enterobacter aerogenes* IAL 106.

2.2.3.2.4 – Identificação de bactérias

A identificação de bactérias foi executada, após a incubação da diluição inicial da amostra a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ por 48 horas, conforme indicado em compêndios oficiais (FBras, 1988; USP, 2005), abrangendo a pesquisa para *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp, *Escherichia coli* e outras enterobactérias, como *Klebsiella* spp e *Enterobacter* spp, além da pesquisa de *Bacillus cereus* e bactérias Gram negativas não fermentadoras (APHA, 2001; FDA, 2001; HOLT, 2000).

Para garantir a validade dos resultados obtidos, todos os testes foram realizados acompanhados de controles positivos e controles negativos.

A) Pesquisa para *Staphylococcus aureus*

A partir do material enriquecido, foram transferidas alçadas para placas contendo Agar Baird Parker e para placas contendo Agar Vogel Johnson, empregando-se a técnica de semeadura por esgotamento, sendo então as placas incubadas a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 48 horas.

Após o período de incubação, foi verificada a presença de colônias típicas de *Staphylococcus aureus*, colônias circulares pretas circundadas por zona opaca e/ou halo transparente, no Agar Baird Parker e colônias pretas circundadas por zona amarela, no Agar Vogel Johnson.

As colônias suspeitas foram repicadas em tubos contendo Agar Caseína de soja inclinado, incubadas a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 24 horas e submetidas à avaliação micromorfológica após coloração de Gram e às provas de detecção de DNase, de detecção de coagulase e à prova de fermentação de manitol em alta concentração de cloreto de sódio.

B) Pesquisa para *Pseudomonas aeruginosa*

A partir do material enriquecido, foram transferidas alçadas para placas contendo Agar Cetrimida, empregando-se a técnica de semeadura por esgotamento, sendo então incubadas a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 48 horas.

Após o período de incubação, cada colônia com aspecto morfológico típico, geralmente de cor esverdeada, foi repicada em tubos contendo Agar Caseína soja inclinado e em tubos contendo Meio de Rugai e Araújo modificado, seguindo-se nova incubação a $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$, por 18 a 24 horas.

As colônias suspeitas repicadas em Agar Caseína de soja inclinado foram submetidas à avaliação micromorfológica após coloração de Gram e às provas de detecção oxidase, de detecção de piocianina e de fluoresceína e à prova de crescimento a 42°C .

As culturas suspeitas repicadas em Meio de Rugai e Araújo modificado que não provocaram alteração no meio, indicando serem bactérias Gram negativas não fermentadoras de açúcares, foram submetidas a identificação por série bioquímica, empregando-se o sistema API 20 NE[®], utilizado conforme as instruções constantes na bula do material.

C) Pesquisa para *Salmonella* spp

A partir do material enriquecido, foram transferidas alíquotas de 1 mL da cultura para tubo contendo 10 mL de Caldo selenito-cistina e alíquotas de 0,1 mL para tubo contendo 10 mL de Caldo Rappaport-Vassiliadis. Os tubos foram homogeneizados e incubados a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 48 horas.

Após o período de incubação, foram transferidas alçadas de cada uma das culturas, previamente homogeneizadas, para a superfície de meios seletivos Agar Xilose Lisina Desoxicolato, Agar Verde brilhante e Agar Salmonella-Shigella,

empregando-se a técnica de semeadura por esgotamento, sendo então as placas incubadas a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 24 horas.

Após a incubação, foi verificada a presença de colônias típicas de *Salmonella* spp, colônias vermelhas com ou sem centro preto, no Agar Xilose Lisina Desoxicolato; colônias vermelhas ou rosas com halo vermelho em Agar Verde brilhante e, colônias incolores com ou sem centro preto em Agar Salmonella-Shigella.

Todas as colônias suspeitas foram repicadas em tubos contendo Agar Caseína de soja inclinado e em tubos contendo Meio de Rugai e Araújo modificado, seguindo-se nova incubação a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 18 a 24 horas

As colônias suspeitas repicadas em Agar Caseína de soja inclinado foram submetidas à avaliação micromorfológica após coloração de Gram e à determinação antigênica.

As culturas suspeitas repicadas em Meio de Rugai e Araújo modificado que provocaram alteração característica de *Salmonella* spp, foram também submetidas à determinação antigênica.

D) Pesquisa para *Escherichia coli*

A partir do material enriquecido, foram transferidas alçadas para placas contendo Agar MacConkey, para placas contendo Agar Eosina Azul de metileno e placas contendo Agar Verde brilhante, empregando-se a técnica de semeadura por esgotamento, sendo então incubadas a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 24 horas.

Após período de incubação, as colônias típicas de *Escherichia coli*, escuras com ou sem brilho metálico, no Agar Eosina Azul de metileno e no Agar Verde

brilhante, e de coloração vermelho tijolo no Agar MacConkey, foram semeadas em tubos Agar Caseína de soja inclinado e em tubos contendo Meio de Rugai e Araújo modificado, seguindo-se de nova incubação a (36 ± 1) °C, por 18 a 24 horas.

As colônias suspeitas repicadas em Agar Caseína de soja inclinado foram submetidas à avaliação micromorfológica após coloração de Gram e à prova de detecção de oxidase.

As culturas repicadas em Meio de Rugai e Araújo modificado que provocaram alteração característica de *Escherichia coli* foram submetidas a identificação por série bioquímica, empregando-se o sistema API 20 E[®], utilizado conforme as instruções constantes na bula do material.

E) Pesquisa para outras enterobactérias

A partir do material enriquecido, foram transferidas alçadas para placas contendo Agar MacConkey, para placas contendo Agar Eosina Azul de metileno e placas contendo Agar Verde brilhante, empregando-se a técnica de semeadura por esgotamento, sendo então incubadas a (36 ± 1) °C, por 24 horas.

Após período de incubação, cada colônia com aspecto morfológico diferente foi semeada em tubos Agar Caseína de soja inclinado e em tubos contendo Meio de Rugai e Araújo modificado, seguindo-se de nova incubação a (36 ± 1) °C, por 18 a 24 horas.

As colônias repicadas em Agar Caseína de soja inclinado foram submetidas à avaliação micromorfológica após coloração de Gram e à prova de detecção de oxidase.

As culturas repicadas em Meio de Rugai e Araújo modificado que provocaram alteração característica de bactérias Gram negativas fermentadoras de açúcares foram submetidas a identificação por série bioquímica, empregando-se o sistema API 20 E[®], utilizado conforme as instruções constantes na bula do material.

F) Pesquisa para bactérias Gram negativas não fermentadoras

A partir do material enriquecido, foram transferidas alçadas para placas contendo Agar MacConkey, para placas contendo Agar Eosina Azul de metileno, para placas contendo Agar Verde brilhante, empregando-se a técnica de semeadura por esgotamento, sendo então incubadas a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 24 horas e para placas contendo Agar Cetrimida, empregando-se a técnica de semeadura por esgotamento, sendo então incubadas a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 48 horas.

Após período de incubação, cada colônia com aspecto morfológico diferente foi semeada em tubos Agar Caseína de soja inclinado e em tubos contendo Meio de Rugai e Araújo modificado, seguindo-se de nova incubação a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 18 a 24 horas.

As colônias repicadas em Agar Caseína de soja inclinado foram submetidas à avaliação micromorfológica após coloração de Gram e à prova de detecção de oxidase.

As culturas repicadas em Meio de Rugai modificado que não provocaram alteração no meio, caracterizando a presença de bactérias Gram negativas não fermentadoras de açúcares, foram submetidas a identificação por série bioquímica,

empregando-se o sistema API 20 NE[®], utilizado conforme as instruções constantes na bula do material.

G) Pesquisa para *Bacillus cereus*

A partir do material enriquecido, foram transferidas alçadas para placas contendo Agar MYP, empregando-se a técnica de semeadura por esgotamento, sendo então incubadas a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 24 horas.

Após o período de incubação, foi verificada a presença de colônias típicas, rosadas com halo de precipitação de lecitina, que foram semeadas em tubos contendo Agar Caseína de soja inclinado, seguindo-se de nova incubação a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, por 18 a 24 horas e então submetidas à avaliação micromorfológica após coloração de Gram e às prova de detecção de oxidase, de redução do nitrato, de utilização aeróbia e anaeróbia da glicose e da hidrólise de gelatina.

2.2.3.2.5 – Identificação de fungos

A identificação de fungos foi executada após isolamento das colônias observadas nas placas de enumeração de bolores e leveduras.

Cada colônia representativa de todos os tipos morfológicamente diferentes foi repicada sobre a superfície de Agar Sabouraud com cloranfenicol (0,5%) e sobre a superfície de Agar Dextrose Batata e incubada a $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$ por 10 dias.

A identificação das colônias inoculadas em Agar Dextrose Batata, realizada na Seção de Micologia do Instituto Adolfo Lutz, pela observação das características macromorfológicas de colônias gigantes (aspecto da colônia, pigmentação, textura e velocidade de crescimento) e das características micromorfológicas (visualização de estruturas como hifas, conidióforos, conídios e esporos), seguindo esquemas taxonômicos.

Para a identificação do gênero *Aspergillus* e do gênero *Penicillium*, foram utilizados os esquemas taxonômicos de Raper e Fennel (1965) e Pitt (1979), respectivamente.

2.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 – Validação do método para enumeração de bactérias aeróbias, bolores e leveduras

As Tabelas 2.2 e 2.3 apresenta os resultados obtidos na validação do método de enumeração microbiana, referentes à recuperação dos microrganismos utilizados.

TABELA 2.2 – Taxas de Recuperação (R) de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Choleraesuis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, obtidas na validação de metodologia de contagem microbiana

Planta	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Salmonella Choleraesuis</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	UFC	R(%)	UFC	R(%)	UFC	R(%)	UFC	R(%)
Controle	62,5		58,9		65,5		62,9	
Abutua	59,1	94,6	55,1	93,5	62,1	94,8	55,7	88,6
Agoniada	58,7	93,9	54,6	92,7	61,3	93,6	56,8	90,3
Alcachofra	58,5	93,6	53,9	91,5	60,4	92,2	57,8	91,9
Alfazema	57,0	91,2	52,6	89,3	61,5	93,9	55,1	87,6
Alteia	57,2	91,5	51,9	88,1	63,0	96,2	56,4	89,7
Angélica	58,0	92,8	53,4	90,7	59,8	91,3	56,2	89,3
Aquiléia	56,0	89,6	54,5	92,5	59,4	90,7	56,7	90,1
Bardana	57,4	91,8	53,8	91,3	60,4	92,2	57,5	91,4
Boldo-do-Chile	56,2	89,9	54,6	92,7	61,7	94,2	55,9	88,9
Calumba	55,4	88,6	53,6	91,0	62,1	94,8	56,8	90,3
Camédrio	57,2	91,5	52,5	89,1	61,4	93,7	56,3	89,5
Camomila	58,4	93,4	51,7	87,7	61,8	94,4	56,9	90,5
Capim-limão	56,2	89,9	52,8	89,6	61,5	93,9	57,2	90,9
Cardo-santo	55,4	88,6	52,4	89,0	59,8	91,3	56,9	90,5
Caroba	56,4	90,2	54,4	92,4	58,9	89,9	56,4	89,7
Carqueja	57,8	92,5	55,1	93,5	57,9	88,4	58,7	93,3
Carvalho	57,2	91,5	52,6	89,3	58,6	89,5	56,1	89,2
Cáscara-sagrada	54,9	87,8	54,2	92,0	59,3	90,5	57,0	90,6
Castanha-da-Índia	55,9	89,4	53,4	90,7	61,4	93,7	56,7	90,1
Catuaba	57,1	91,4	54,4	92,4	59,7	91,1	57,2	90,9
Cavalinha	56,2	89,9	52,6	89,3	61,2	93,4	56,9	90,5
Centaurea Menor	55,2	88,3	51,7	87,8	61,4	93,7	54,9	87,3
Chá-de-Bugre	57,1	91,4	54,7	92,9	59,4	90,7	56,4	89,7
Chá-verde	58,2	93,1	54,1	91,9	61,8	94,4	55,9	88,9
Chapéu-de-couro	58,4	93,4	52,5	89,1	60,1	91,8	57,1	90,8

continua

Continuação da Tabela 2.2

Planta	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Salmonella Choleraesuis</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	UFC	R(%)	UFC	R(%)	UFC	R(%)	UFC	R(%)
Cipó-prata	56,8	90,9	53,2	90,3	60,1	91,8	54,9	87,3
Condurango	57,2	91,5	52,4	89,0	57,5	87,8	57,6	91,6
Erva-doce	57,6	92,2	52,1	88,5	57,2	87,3	56,9	90,5
Erva-mate	58,9	94,2	54,1	91,9	56,9	86,9	55,9	88,9
Escamônea	57,1	91,4	53,6	91,0	58,5	89,3	57,1	90,8
Espinheira Santa	55,6	89,0	52,3	88,8	59,8	91,3	56,8	90,3
Estigma de milho	57,3	91,7	54,1	91,9	59,4	90,7	56,1	89,2
Fava tonca	57,1	91,4	52,4	89,0	57,7	88,1	55,8	88,7
Frângula	56,8	90,9	53,3	90,5	58,4	89,2	54,9	87,3
Fucus	56,9	91,0	55,6	94,4	60,4	92,2	56,2	89,3
Funcho	57,9	92,6	52,7	89,5	61,8	94,4	57,4	91,3
Ginkgo biloba	58,2	93,1	53,9	91,5	57,6	87,9	57,9	92,1
Guaraná	58,6	93,8	52,6	89,3	56,9	86,9	56,4	89,7
Hipérico	57,5	92,0	51,6	87,6	56,4	86,1	55,6	88,4
Hissopo	56,2	89,9	53,7	91,2	57,8	88,2	54,8	87,1
Ipê Roxo	57,1	91,4	54,2	92,0	56,9	86,9	54,9	87,3
Jaborandi	55,4	88,6	52,6	89,3	57,2	87,3	55,6	88,4
Jalapa	55,9	89,4	53,1	90,2	59,2	90,4	55,9	88,9
Jasmim	56,4	90,2	54,5	92,5	58,2	88,9	56,4	89,7
Jurubeba	57,6	92,2	52,9	89,8	56,5	86,3	57,2	90,9
Losna	58,1	93,0	51,7	87,8	59,1	90,2	58,1	92,4
Macela	57,6	92,2	53,4	90,7	61,5	93,9	57,6	91,6
Malva	57,1	91,4	51,7	87,8	57,1	87,2	56,4	89,7
Marapuama	55,8	89,3	52,7	89,5	59,1	90,2	56,2	89,3
Melissa	57,8	92,5	54,6	92,7	60,1	91,8	57,5	91,4
Pfáffia	58,1	93,0	51,6	87,6	59,8	91,3	58,1	92,4
Quássia	57,2	91,5	54,9	93,2	57,3	87,5	54,2	86,2
Quebra-pedra	56,4	90,2	51,6	87,6	56,8	86,7	54,9	87,3
Quina amarela	56,9	91,0	51,4	87,3	57,9	88,4	55,7	88,6

continua

Continuação da Tabela 2.2

Planta	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Salmonella Choleraesuis</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	UFC	R(%)	UFC	R(%)	UFC	R(%)	UFC	R(%)
Ratânia	56,7	90,7	52,6	89,3	56,9	86,9	56,8	90,3
Ruibarbo	55,8	89,3	52,3	88,8	57,8	88,2	54,9	87,3
Sabugueiro	56,9	91,0	52,6	89,3	60,5	92,4	55,6	88,4
Sene	57,2	91,5	51,9	88,1	60,5	92,4	56,1	89,2
Stévia	58,6	93,8	54,1	91,9	61,4	93,4	57,1	90,8
Sucupira	58,1	93,0	53,8	91,3	60,2	91,9	58,6	93,2
Tília	57,6	92,2	52,9	89,8	58,1	88,7	56,7	90,1
Urucum	56,9	91,0	53,1	90,2	59,2	90,4	57,2	90,9
Uva ursi	57,8	92,5	52,9	89,8	59,6	91,0	58,0	92,2
Valeriana	56,1	89,8	51,8	87,9	60,5	92,4	54,9	87,3
Verbasco	57,0	91,2	52,6	89,3	58,2	88,9	57,8	91,9

TABELA 2.3 – Taxas de Recuperação (R) de *Candida albicans* e *Aspergillus niger*, obtidas na validação de metodologia de contagem microbiana

Planta	<i>Candida Albicans</i>		<i>Aspergillus niger</i>	
	UFC	R(%)	UFC	R(%)
Controle	62,9		62,3	
Abutua	58,1	92,4	58,5	93,9
Agoniada	58,8	93,5	58,1	93,3
Alcachofra	58,6	83,2	57,6	92,5
Alfazema	57,2	90,9	57,4	92,1
Alteia	56,8	90,3	57,2	91,8
Angélica	57,1	90,8	56,8	91,2
Aquiléia	57,2	90,9	57,1	91,7
Bardana	57,8	91,9	56,0	89,9
Boldo-do-Chile	58,1	92,4	55,4	88,9
Calumba	58,6	93,2	56,1	90,0
Camédrio	55,8	87,3	55,4	88,9
Camomila	57,1	90,8	55,8	89,6
Capim-limão	56,3	89,5	55,6	89,2
Cardo-santo	54,8	88,7	57,1	91,7
Caroba	56,3	89,5	55,8	89,6
Carqueja	56,7	90,1	55,6	89,2
Carvalho	57,5	91,4	56,7	91,0
Cáscara-sagrada	56,8	90,3	56,2	90,2
Castanha-da-Índia	57,1	90,8	56,8	91,2
Catuaba	58,2	92,5	55,9	89,7
Cavalinha	56,7	90,1	55,8	89,6
Centaurea Menor	56,4	89,7	56,0	89,9
Chá-de-Bugre	57,1	90,8	55,9	89,7
Chá-verde	57,9	92,1	55,3	88,8
Chapéu-de-couro	58,1	92,4	57,6	92,5

continua

Continuação da Tabela 2.3

Planta	<i>Candida Albicans</i>		<i>Aspergillus niger</i>	
	UFC	R(%)	UFC	R(%)
Cipó-prata	56,9	90,5	56,9	91,3
Condurango	56,8	90,3	57,8	92,8
Erva-doce	55,7	88,6	54,9	88,1
Erva-mate	56,8	90,3	55,8	89,6
Escamônea	56,7	90,1	56,2	90,2
Espinheira Santa	56,2	89,3	56,2	90,2
Estigma de milho	55,9	88,9	57,1	91,7
Fava tonca	56,5	89,8	55,8	89,6
Frângula	57,0	90,6	56,2	90,2
Fucus	57,6	91,6	56,8	91,2
Funcho	57,9	92,1	55,9	89,7
Ginkgo biloba	57,2	90,9	55,4	88,9
Guaraná	56,8	90,3	56,8	91,2
Hipérico	57,2	90,9	57,3	92,0
Hissopo	58,1	92,4	56,3	90,4
Ipê Roxo	56,2	89,3	55,8	89,6
Jaborandi	56,6	90,0	55,3	88,8
Jalapa	55,8	88,7	54,6	87,6
Jasmim	55,9	88,9	55,4	88,9
Jurubeba	57,1	90,8	54,9	88,1
Losna	56,8	90,3	55,6	89,2
Macela	57,4	91,3	57,6	92,5
Malva	58,2	92,5	58,2	93,4
Marapuama	56,4	89,7	56,7	91,0
Melissa	57,6	91,6	55,9	89,7
Pfáffia	56,8	90,3	55,8	89,6
Quássia	57,4	91,2	56,7	91,0
Quebra-pedra	56,7	90,1	56,8	91,2
Quina amarela	58,2	92,5	57,6	92,5

continua

Continuação da Tabela 2.3

Planta	<i>Candida albicans</i>		<i>Aspergillus Niger</i>	
	UFC	R(%)	UFC	R(%)
Ratânia	57,9	92,1	58,4	93,7
Ruibarbo	57,2	90,9	55,8	89,6
Sabugueiro	56,6	90,0	54,8	88,0
Sene	56,1	89,2	55,3	88,8
Stévia	56,8	90,3	55,8	89,6
Sucupira	57,3	91,1	56,8	91,2
Tília	55,9	88,9	57,2	91,8
Urucum	56,2	89,3	57,1	91,7
Uva ursi	56,8	90,3	56,4	90,5
Valeriana	56,4	89,7	55,8	89,6
Verbasco	57,1	90,8	58,5	90,9

De acordo com compêndios oficiais (USP, 2005), para garantir a ausência de atividade antimicrobiana é indicada por taxas de recuperação microbiana superiores a 70%. Os resultados obtidos indicaram taxas de recuperação superiores a 86,1% em todos os ensaios, indicando a validade da técnica de enumeração a empregada.

2.3.2 – Avaliação quantitativa da qualidade microbiológica

Foram calculadas as populações médias obtidas na enumeração microbiana em cada uma das amostras de drogas vegetais, sendo os resultados apresentados na Tabela 2.4.

TABELA 2.4 – Valores médios obtidos na enumeração de microrganismos

Planta	Fornecedor	Bactérias Aeróbias (UFC/g)	Coliformes Totais (NMP/g)	Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	Bolores e leveduras (UFC/g)
Abutua	A	$3,0 \times 10^2$	< 0,5	< 0,5	< 0,5	$8,4 \times 10^2$
Agoniada	A	$1,2 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$2,3 \times 10^3$
Alcachofra	B	$1,9 \times 10^5$	0,3	0,3	< 0,2	$1,6 \times 10^3$
Alcachofra	C	$7,7 \times 10^4$	0,3	0,3	< 0,2	$7,3 \times 10^3$
Alcachofra	D	$3,7 \times 10^3$	$2,4 \times 10^2$	1,5	< 0,2	$2,1 \times 10^3$
Alfazema	A	$1,5 \times 10^3$	2,3	0,3	< 0,3	35
Alfazema	E	$5,5 \times 10^2$	0,3	< 0,3	< 0,3	< 10
Alteia	D	$3,2 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$1,0 \times 10^2$
Angélica	C	$9,6 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	31
Aquiléia	A	$1,5 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$3,9 \times 10^2$
Bardana	B	$2,1 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 10
Boldo-do-Chile	A	$6,4 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$2,9 \times 10^2$
Boldo-do-Chile	E	$9,1 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$2,8 \times 10^2$
Calumba	A	$2,0 \times 10^2$	2,3	< 0,3	< 0,3	$1,2 \times 10^4$
Camédrio	A	$4,9 \times 10^4$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$1,6 \times 10^3$
Camomila	C	$2,9 \times 10^6$	$2,4 \times 10^2$	7,5	< 0,3	$2,6 \times 10^3$
Camomila	D	41	< 0,3	< 0,3	< 0,3	17
Camomila	E	18	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 10
Capim-limão	E	$5,4 \times 10^6$	$> 2,4 \times 10^2$	$> 2,4 \times 10^2$	46	$4,0 \times 10^5$
Cardo-santo	A	$9,9 \times 10^3$	46	< 0,3	< 0,3	$1,7 \times 10^2$
Caroba	B	$2,3 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$3,1 \times 10^2$
Carqueja	A	$1,4 \times 10^6$	$2,4 \times 10^2$	46	7,5	$4,6 \times 10^4$
Carqueja	E	$7,7 \times 10^2$	21	< 0,3	< 0,3	$1,9 \times 10^2$
Carvalho	A	86	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$1,1 \times 10^2$
Cáscara-sagrada	A	$5,1 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	45
Cáscara-sagrada	B	$1,6 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	42
Cáscara-sagrada	E	$3,9 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	21
Castanha-da-Índia	A	$1,6 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$2,4 \times 10^2$
Catuaba	A	$3,5 \times 10^3$	2,1	< 0,3	< 0,3	$6,1 \times 10^4$
Catuaba	E	$5,9 \times 10^2$	4,3	2,3	< 0,3	$3,0 \times 10^3$

continua

Continuação da Tabela 2.4

Planta	Fornecedor	Bactérias Aeróbias (UFC/g)	Coliformes Totais (NMP/g)	Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	Bolores e leveduras (UFC/g)
Cavalinha	A	$7,3 \times 10^5$	46	0,9	0,6	$2,6 \times 10^5$
Cavalinha	E	$1,7 \times 10^5$	46	1,5	0,6	$1,8 \times 10^2$
Centaurea Menor	A	$1,8 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$4,6 \times 10^2$
Chá-de-Bugre	D	$1,2 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$2,2 \times 10^2$
Chá-verde	E	$8,3 \times 10^3$	9,3	2,3	0,4	$1,1 \times 10^2$
Chapéu-de-couro	A	$3,0 \times 10^6$	87,7	1,4	0,4	$4,1 \times 10^4$
Chapéu-de-couro	B	$8,4 \times 10^4$	7,0	< 0,3	< 0,3	$2,8 \times 10^3$
Cipó-prata	B	$1,2 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$1,9 \times 10^3$
Condurango	A	$8,6 \times 10^4$	$1,1 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	21	$2,3 \times 10^3$
Erva-doce	E	$1,4 \times 10^6$	$> 2,4 \times 10^2$	15	< 0,3	$7,9 \times 10^2$
Erva-mate	E	$2,9 \times 10^3$	7,5	< 0,3	< 0,3	$1,9 \times 10^2$
Escamônea	A	$6,0 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$1,1 \times 10^2$
Espinheira Santa	B	$8,6 \times 10^1$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$1,5 \times 10^3$
Estigma de milho	B	$5,9 \times 10^5$	61	0,5	0,2	$1,6 \times 10^4$
Fava tonca	A	$5,0 \times 10^3$	0,7	< 0,3	< 0,3	45
Frândula	A	$4,1 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$1,2 \times 10^2$
Fucus	A	$2,8 \times 10^5$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$1,4 \times 10^2$
Fucus	B	< 10	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 10
Fucus	E	$2,1 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 10
Funcho	E	< 10	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 10
Ginkgo biloba	B	$8,2 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	85
Ginkgo biloba	C	$5,2 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	89
Ginkgo biloba	D	$1,9 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	66
Ginkgo biloba	E	$6,6 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	92
Guaraná	C	$9,5 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$6,4 \times 10^2$
Guaraná	D	$1,9 \times 10^4$	4,3	< 0,3	< 0,3	$1,3 \times 10^4$
Guaraná	E	$5,5 \times 10^5$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$1,7 \times 10^3$
Hipérico	A	$5,5 \times 10^4$	9,3	1,5	< 0,4	$3,3 \times 10^5$
Hissopo	A	$3,1 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$2,1 \times 10^2$
Ipê Roxo	A	$8,5 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$1,9 \times 10^4$

continua

Continuação da Tabela 2.4

Planta	Fornecedor	Bactérias Aeróbias (UFC/g)	Coliformes Totais (NMP/g)	Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	Bolores e leveduras (UFC/g)
Jaborandi	C	$1,0 \times 10^4$	< 0,2	< 0,2	< 0,2	$5,3 \times 10^2$
Jalapa	A	$6,4 \times 10^5$	$4,2 \times 10^2$	< 0,5	< 0,5	$1,1 \times 10^4$
Jalapa	E	$2,7 \times 10^5$	$1,1 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	$2,9 \times 10^4$
Jasmim	B	$3,7 \times 10^3$	< 0,2	< 0,2	< 0,2	$2,4 \times 10^2$
Jurubeba	A	$6,9 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 10
Losna	A	$7,7 \times 10^3$	2,3	< 0,2	< 0,2	$1,1 \times 10^4$
Macela	C	$7,7 \times 10^4$	$> 2,4 \times 10^2$	15	< 0,3	$2,9 \times 10^4$
Malva	C	$2,4 \times 10^5$	27	4,1	< 0,2	$1,8 \times 10^4$
Marapuama	D	$9,4 \times 10^2$	2,3	0,9	0,4	$7,6 \times 10^2$
Melissa	A	$2,6 \times 10^4$	4,9	0,4	< 0,2	$2,4 \times 10^3$
Melissa	E	$2,3 \times 10^2$	0,9	0,3	< 0,2	71
Pfáffia	E	$4,2 \times 10^4$	4,3	0,9	0,4	$1,0 \times 10^3$
Quássia	A	$1,9 \times 10^4$	1,3	0,8	< 0,8	87
Quássia	E	$4,1 \times 10^2$	0,4	< 0,3	< 0,3	21
Quebra-pedra	E	$5,1 \times 10^4$	2,3	< 0,3	< 0,3	$2,0 \times 10^5$
Quina amarela	A	$2,5 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$1,1 \times 10^2$
Ratânia	A	$5,3 \times 10^3$	$2,4 \times 10^2$	21	0,7	$2,1 \times 10^2$
Ruibarbo	A	$3,2 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	75
Sabugueiro	A	$7,4 \times 10^3$	0,3	< 0,3	< 0,3	$2,2 \times 10^2$
Sabugueiro	B	$1,0 \times 10^6$	0,7	0,4	< 0,3	$1,9 \times 10^2$
Sabugueiro	E	$2,1 \times 10^6$	0,5	0,4	< 0,3	$1,7 \times 10^2$
Sene	A	$4,5 \times 10^4$	$2,4 \times 10^2$	2,0	0,4	$5,1 \times 10^2$
Sene	E	$6,8 \times 10^3$	0,4	< 0,3	< 0,3	76
Stévia	A	$2,1 \times 10^4$	0,4	< 0,3	< 0,3	$1,8 \times 10^2$
Stévia	E	$4,6 \times 10^3$	9,3	1,5	0,7	$3,0 \times 10^2$
Sucupira	A	$1,7 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	23
Tília	A	$7,7 \times 10^3$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	$1,6 \times 10^3$
Urucum	A	$4,9 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	52
Uva ursi	A	$1,1 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	18
Valeriana	A	$7,1 \times 10^2$	< 0,3	< 0,3	< 0,3	10
Verbasco	B	$9,3 \times 10^5$	$> 1,7 \times 10^2$	76	< 0,2	$2,9 \times 10^3$

Considerando-se as especificações adotadas, máximo de 2×10^3 UFC de bactérias aeróbias/g e 2×10^2 UFC de bolores e leveduras/g, a Tabela 2.5 apresenta a distribuição das drogas vegetais de acordo com as populações obtidas na enumeração de bactérias aeróbias, coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli* e de bolores e leveduras, enquanto a Figura 2.2, a frequência de distribuição em função das populações de bactérias e fungos verificadas.

TABELA 2.5 – Distribuição das amostras de drogas vegetais de acordo a população microbiana obtida

Enumeração (UFC ou NMP/g)	Nº de drogas vegetais				
	Bactérias aeróbias	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes	<i>Escherichia coli</i>	Bolores e leveduras
$\leq 2 \times 10^1$	3	74	87	89	10
$2 \times 10^1 - 2 \times 10^2$	8	8	3	2	31
$2 \times 10^2 - 2 \times 10^3$	30	9	1	0	25
$2 \times 10^3 - 2 \times 10^4$	22	0	0	0	16
$2 \times 10^4 - 2 \times 10^5$	13	0	0	0	6
$2 \times 10^5 - 2 \times 10^6$	11	0	0	0	3
$> 2 \times 10^6$	4	0	0	0	0

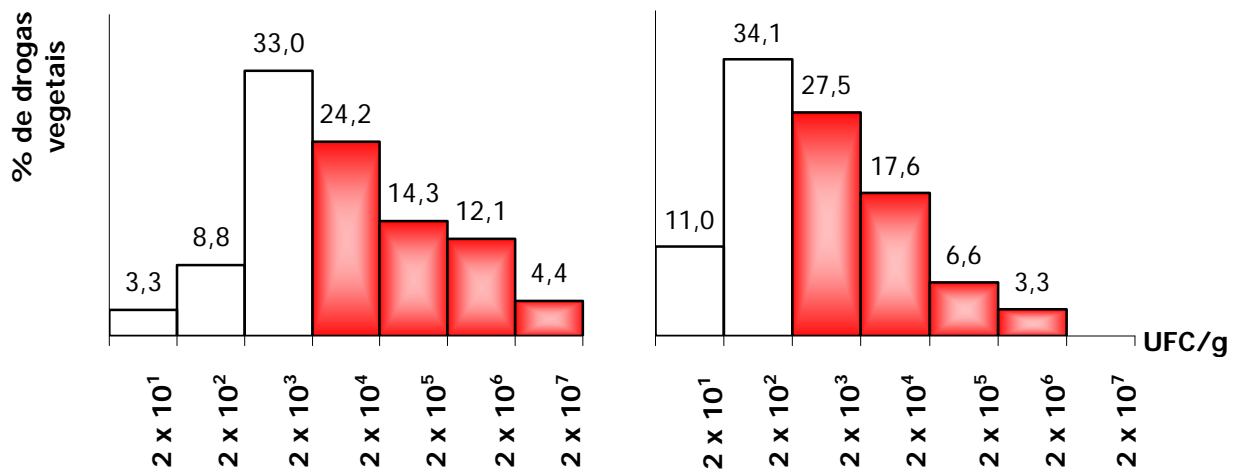


FIGURA 2.2 – Frequência de distribuição das amostras de drogas vegetais de acordo com a população média obtida na enumeração de bactérias (A) e de bolores e leveduras (B)

Observando-se os resultados obtidos, verificou-se que 55,0% das drogas vegetais analisadas apresentaram populações de bactérias superiores a 10^3 UFC/g e 55,0%, populações de fungos superiores a 10^2 UFC/g.

Em relação à contaminação por bactérias heterotróficas, Czech *et al* (2001) avaliaram a contaminação microbiana presente em 138 amostras de 31 espécies vegetais e detectaram populações médias superiores a 10^3 UFC/g em todas as amostras. Outros estudos sobre a qualidade microbiológica de drogas vegetais e preparações derivadas, como aqueles realizados por Alexander *et al* (1997), Kneifel e Berger (1994) e Fischer *et al* (1993) obtiveram contagens superiores a 2×10^3 UFC/g em 52,7%, 94,5% e 70,3% das amostras analisadas, respectivamente, enquanto Santos *et al* (1995) e Bermudez *et al* (1983) detectaram populações desta ordem em apenas 33,3% e 26,3% das amostras analisadas. Em estudo sobre a

qualidade microbiológica de 72 amostras de plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná, Zaroni *et al* (2004) verificaram que 45,8% das amostras apresentaram cargas entre 10^5 e 10^6 UFC/g.

Em relação à população fúngica, vários estudos indicam que contaminações superiores a 10^2 UFC/g ocorrem com frequência. Llewellyn *et al* (1992) detectaram populações entre 10^2 e 10^6 UFC/g em amostras de especiarias e ervas analisadas, enquanto que Zaroni *et al* (2004) detectaram estas mesmas cargas fúngicas em amostras de plantas medicinais, com maior frequência de amostras com cargas de 10^5 UFC/g. Bermudez *et al* (1983) detectaram contagens médias superiores a 10^{12} UFC/g em todas as amostras de matérias-primas naturais analisadas; populações superiores a 10^2 UFC/g foram detectadas em 93,5% das amostras de chás avaliadas por Martins *et al* (2001), e em 100% das amostras analisadas por El-Kady *et al* (1992) e por Halt (1998). Czech *et al* (2001), Garrido *et al* (1992) e Lutomski e Kedzia (1980) detectaram estas populações fúngicas em 90,3%, 87,5% e 90% das amostras, respectivamente.

Outros pesquisadores detectaram porcentagens menores de amostras contaminadas com populações superiores a 2×10^2 UFC/g, como Alexander *et al* (1997), Efuntoye (1996), Santos *et al* (1995) e Fischer *et al* (1993) que detectaram tais populações em 6,4%, 25%, 21,6% e 32,1% das amostras analisadas. Kneifel e Berger (1994) verificaram que 11% de 160 amostras, compostas por 55 tipos vegetais, apresentaram-se "altamente contaminadas", embora não cite os valores obtidos nas enumerações. Abou-Arab *et al* (1999) verificaram a presença de fungos em todas as amostras analisadas, no entanto, também não fazem menção à carga fúngica detectada.

Sessenta e sete amostras de drogas vegetais avaliadas (73,6%) apresentaram contagens superiores aos limites máximos estabelecidos, sendo que:

- 18,7% das amostras apresentaram populações superiores a 2×10^3 UFC de bactérias aeróbias/g: altéia, angélica, cardo-santo, cáscara-sagrada (fornecedor A), cavalinha (fornecedor E), chá-verde, erva-mate, fava tonka, fucus (fornecedores A e E), ginkgo biloba (fornecedores B e C), quássia (fornecedor A), sabugueiro (fornecedores B e E), sene (fornecedor E) e stévia (fornecedor A);
- 17,6% das amostras apresentaram populações superiores a 2×10^2 UFC de bolores e leveduras/g: abutua, agoniada, aquiléia, boldo-do-Chile (fornecedores A e E), calumba, caroba, castanha-da-Índia, catuaba (fornecedor E), centáurea, chá-de-bugre, cipó-prata, espinheira santa, guaraná (fornecedor C), ipê-roxo e marapuama;
- 37,4% das drogas vegetais apresentaram populações superiores para bactérias e para bolores e leveduras: alcachofra (fornecedores B, C e D), camédrio, camomila (fornecedor C), capim-limão, carqueja (fornecedor A), catuaba (fornecedor A), cavalinha (fornecedor A), chapéu-de-couro (fornecedores A e B), condurango, erva-doce, estigma de milho, guaraná (fornecedores D e E), hipérico, hissopo, jaborandi, jalapa (fornecedores A e E), jasmim, losna, macela, malva, melissa (fornecedor A), pfáffia, quebra-pedra, ratânia, sabugueiro (fornecedor A), sene (fornecedor A), stévia (fornecedor E), tília e verbasco.

Embora possam ser admitidos graus de contaminação maiores, elevadas cargas microbianas são indicativas da possibilidade de condições favoráveis à presença de microrganismos patogênicos ou potencialmente patogênicos.

2.3.3 – Avaliação qualitativa da qualidade microbiológica

Em relação à pesquisa e identificação de microrganismos específicos, as Tabelas 2.6 e 2.7 apresentam os microrganismos isolados em cada uma das 91 amostras de drogas vegetais analisadas.

TABELA 2.6 – Incidência de bactérias isoladas em drogas vegetais

Planta	Fornecedor	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella</i> spp	<i>Enterobacter</i> spp	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter</i> spp	<i>Citrobacter</i> spp	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas</i> spp	Bacilo Gram (-) não fermentador	<i>Staphylococcus</i> spp	Bacilo Gram (+) esporulado
Abutua	A	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Agoniada	A	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Alcachofra	B	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---
Alcachofra	C	---	1	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Alcachofra	D	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Alfazema	A	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Alfazema	E	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Altéia	D	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Angélica	C	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Aquiléia	A	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Bardana	B	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Boldo-do-Chile	A	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1
Boldo-do-Chile	E	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---
Calumba	A	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Camédrio	A	---	1	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Camomila	C	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---
Camomila	D	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Camomila	E	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Capim-limão	E	---	1	1	1	---	1	---	---	1	---	---	---	---	---
Cardo-santo	A	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Caroba	B	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Carqueja	A	---	1	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Carqueja	E	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Carvalho	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Cáscara-sagrada	A	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Cáscara-sagrada	B	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Cáscara-sagrada	E	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Castanha-da-Índia	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

continua

Continuação da Tabela 2.6

Planta	Fornecedor	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella</i> spp	<i>Enterobacter</i> spp	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter</i> spp	<i>Citrobacter</i> spp	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas</i> spp	Bacilo Gram (-) não fermentador	<i>Staphylococcus</i> spp	Bacilo Gram (+) esporulado
Catuaba	A	---	---	1	1	---	1	---	---	---	---	---	1	---	---
Catuaba	E	---	---	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Cavalinha	A	---	1	---	1	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---
Cavalinha	E	---	1	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Centáurea menor	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Chá-de-Bugre	D	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Chá-verde	E	---	1	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Chapéu-de-couro	A	---	1	1	1	1	---	---	---	---	---	---	1	---	---
Chapéu-de-couro	B	---	1	---	1	---	1	---	---	---	---	---	1	---	---
Cipó-prata	B	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Condurango	A	---	1	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Erva-doce	E	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Erva-mate	E	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Escamônea	A	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Espinheira Santa	B	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Estigma de milho	B	---	1	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Fava tonca	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Frângula	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Fucus	A	---	---	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	1
Fucus	B	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Fucus	E	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Funcho	E	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1
Ginkgo biloba	B	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ginkgo biloba	C	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ginkgo biloba	D	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1
Ginkgo biloba	E	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Guaraná	C	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Guaraná	D	---	---	1	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Guaraná	E	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---
Hipérico	A	---	---	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---

continua

Continuação da Tabela 2.6

Planta	Fornecedor	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella</i> spp	<i>Enterobacter</i> spp	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter</i> spp	<i>Citrobacter</i> spp	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas</i> spp	Bacilo Gram (-) não fermentador	<i>Staphylococcus</i> spp	Bacilo Gram (+) esporulado
Hissopo	A	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ipê Roxo	E	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Jaborandi	C	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Jalapa	A	---	---	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Jalapa	E	---	---	---	1	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---
Jasmim	B	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Jurubeba	A	---	---	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Losna	A	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Macela	C	---	---	1	1	1	---	---	---	---	---	---	1	---	---
Malva	C	1	---	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Marapuama	D	1	1	1	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Melissa	A	---	1	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Melissa	E	---	1	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Pfáffia	E	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1
Quássia	A	1	---	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Quássia	E	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Quebra-pedra	E	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Quina amarela	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ratânia	A	---	1	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ruibarbo	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Sabugueiro	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Sabugueiro	B	---	1	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Sabugueiro	E	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1
Sene	A	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Sene	E	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Stévia	A	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Stévia	E	---	1	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Sucupira	A	---	---	1	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---
Tília	A	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

continua

Continuação da Tabela 2.6

Planta	Fornecedor	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella</i> spp	<i>Enterobacter</i> spp	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter</i> spp	<i>Citrobacter</i> spp	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas</i> spp	Bacilo Gram (-) não fermentador	<i>Staphylococcus</i> spp	Bacilo Gram (+) esporulado
Urucum	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1
Uva ursi	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Valeriana	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Verbasco	B	---	---	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Total	91	6	22	45	46	4	20	1	1	1	1	2	3	2	7

TABELA 2.7 – Incidência de fungos isolados em drogas vegetais

Planta	Fornecedor	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus parasiticus</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus</i> spp	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Chaetomium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Mucor</i>	<i>Paecilomyces</i>	<i>Phoma</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Trichoderma</i>
Abutua	A	---	---	1	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Agoniada	A	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Alcachofra	B	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---
Alcachofra	C	1	---	---	1	1	1	1	1	1	---	---	---	---	---	---	---
Alcachofra	D	1	---	---	1	1	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Alfazema	A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Alfazema	E	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Altéia	D	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Angélica	C	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Aquiléia	A	---	---	---	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Bardana	B	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Boldo-do-Chile	A	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Boldo-do-Chile	E	---	---	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Calumba	A	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Camédrio	A	1	---	1	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Camomila	C	1	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Camomila	D	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Camomila	E	1	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Capim limão	E	---	---	---	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Cardo-santo	A	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Caroba	B	1	1	---	1	---	---	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---
Carqueja	A	1	1	---	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Carqueja	E	1	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Carvalho	A	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Cáscara-sagrada	A	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Cáscara-sagrada	B	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Cáscara-sagrada	E	1	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---

continua

Continuação da Tabela 2.7

Planta	Fornecedor	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus parasiticus</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus</i> spp	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Chaetomium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Mucor</i>	<i>Paecilomyces</i>	<i>Phoma</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Trichoderma</i>
Castanha-da-Índia	A	1	---	---	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Catuaba	A	1	---	---	1	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Catuaba	E	1	1	---	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Cavalinha	A	1	1	---	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Cavalinha	E	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Centáurea menor	A	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Chá-de-Bugre	D	1	---	---	1	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	1	---
Chá-verde	E	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Chapéu-de-couro	A	1	---	---	1	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Chapéu-de-couro	B	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Cipó-prata	B	---	---	---	1	---	1	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---
Condurango	A	1	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Erva-doce	E	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Erva-mate	E	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Escamônea	A	1	---	1	1	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	1	---
Espinheira Santa	B	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Estigma de milho	B	1	1	---	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Fava tonca	A	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Frângula	A	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Fucus	A	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Fucus	B	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Fucus	E	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Funcho	E	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ginkgo biloba	B	1	1	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Ginkgo biloba	C	1	1	1	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Ginkgo biloba	D	1	---	---	---	---	---	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---
Ginkgo biloba	E	1	---	1	---	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---

continua

Continuação da Tabela 2.7

Planta	Fornecedor	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus parasiticus</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus</i> spp	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Chaetomium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Mucor</i>	<i>Paecilomyces</i>	<i>Phoma</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Trichoderma</i>
Guaraná	C	1	---	1	1	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Guaraná	D	1	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Guaraná	E	1	---	1	1	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Hipérico	A	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Hissopo	A	1	---	1	1	1	---	1	---	---	---	1	---	---	---	1	---
Ipê Roxo	E	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Jaborandi	C	---	---	---	1	---	1	1	---	---	---	1	---	---	---	---	---
Jalapa	A	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Jalapa	E	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Jasmim	B	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Jurubeba	A	1	---	1	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Losna	A	1	---	---	---	---	1	1	---	---	---	1	---	1	---	---	---
Macela	C	1	---	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Malva	C	1	---	1	1	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	1
Marapuama	D	1	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Melissa	A	1	1	---	1	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Melissa	E	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Pfáffia	E	1	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Quássia	A	1	---	1	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	1	---	---
Quássia	E	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Quebra-pedra	E	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Quina amarela	A	1	---	---	1	1	1	1	---	---	---	---	---	---	---	1	---
Ratânia	A	1	---	1	1	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	1	---
Ruibarbo	A	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---
Sabugueiro	A	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	1	---
Sabugueiro	B	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---
Sabugueiro	E	---	---	---	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

continua

Continuação da Tabela 2.7

Planta	Fornecedor	Microorganismos																
		<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus parasiticus</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus spp</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Chaetomium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Mucor</i>	<i>Paecilomyces</i>	<i>Phoma</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Trichoderma</i>	
Sene	A	---	---	---	1	---	---	1	---	---	---	1	1	---	---	---	---	
Sene	E	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Stévia	A	1	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---	
Stévia	E	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---	---	---	---	
Sucupira	A	1	---	1	1	---	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	
Tília	A	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Urucum	A	---	---	---	1	---	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	1	
Uva ursi	A	1	---	1	1	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Valeriana	A	1	---	1	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Verbasco	B	1	---	---	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1	---	---	
Total		91	58	11	26	52	8	24	31	13	1	2	4	4	1	2	9	2

A Figura 2.3 representa a distribuição das drogas vegetais de acordo com o tipo de microrganismo detectado. As barras em vermelho indicam a ocorrência de microrganismos indicadores de risco para a via de administração oral (F Bras, 1988), enquanto que as barras em azul, a ocorrência de microrganismos que podem oferecer risco potencial à saúde.

Bacillus cereus (01); *Citrobacter* spp (02); *Escherichia coli* (03); *Enterobacter* spp (04); *Klebsiella* spp (05); *Staphylococcus* spp (06); *Acinetobacter* spp (07); *Pseudomonas* spp (08); *Stenotrophomonas* spp (09)

Aspergillus flavus (10); *Aspergillus parasiticus* (11); *Aspergillus ochraceus* (12); *Aspergillus niger* (13); *Aspergillus fumigatus* (14); Outros *Aspergillus* (15); *Penicillium citrinum* (16); *Penicillium chrysogenum* (17); *Alternaria* spp (18); *Chaetomium* spp (19); *Cladosporium* spp (20); *Mucor* spp (21); *Paecilomyces* spp (22); *Phoma* spp (23); *Rhizopus* spp (24) e *Trichoderma* spp (25)

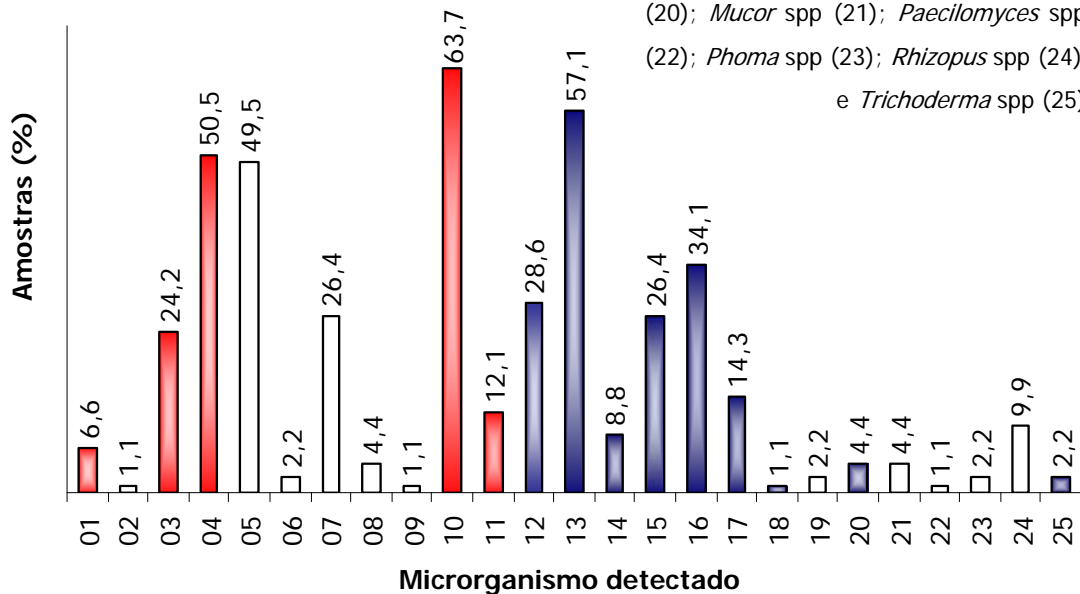


FIGURA 2.3 – Frequência de distribuição das amostras de drogas vegetais de acordo com o tipo de microrganismo detectado

Os resultados obtidos na pesquisa e identificação de microrganismos específicos indicam que *Salmonella* spp e *Staphylococcus aureus* não foram detectados em nenhuma das drogas vegetais analisadas, embora tenham sido detectados *Staphylococcus* spp em 2,2% das drogas vegetais, enquanto *Pseudomonas aeruginosa* foi detectada em apenas uma droga vegetal (1,1%). Estes resultados estão em conformidade com dados obtidos por Alexander *et al* (1997) e Santos *et al* (1995), que verificaram baixa ocorrência de *Pseudomonas aeruginosa* e ausência de *Salmonella* spp e *Staphylococcus aureus*, por Czech *et al* (2001) e

Kneifel e Berger (1994) que detectaram apenas *Staphylococcus* spp coagulase positiva em 0,7% e em 5% das amostras analisadas, respectivamente.

Embora os estudos de Alexander *et al* (1997) e de Czech *et al* (2001) tenham verificado baixa ocorrência de *Escherichia coli* (2% e 2,9%, respectivamente), neste estudo este microrganismo foi detectado em 24,2% das drogas vegetais, em conformidade com os resultados obtidos por Zaroni *et al* (2004), que detectaram *Escherichia coli* em 22,22% das amostras de plantas medicinais analisadas. A presença de *Enterobacter* spp e *Klebsiella* spp foi verificada em 50,5% e 49,5% das espécies vegetais, respectivamente, sendo estas ocorrências superiores às obtidas por Alexander *et al* (1997), que detectaram *Enterobacter* spp e *Klebsiella* spp em 29,5% e 3% das amostras, e por Santos *et al* (1995), que detectaram *Enterobacter* spp em 37,2% das amostras.

A presença de *Bacillus cereus* foi verificada em 6,6% das drogas vegetais analisadas, sendo este resultado próximo aos obtidos por Bermudez *et al* (1983) e por Santos *et al* (1995), que detectaram este microrganismo, respectivamente, em 6,0% e 3,9%. Por outro lado, Kneifel e Berger (1994), Czech *et al* (2001) e Martins *et al* (2001) detectaram a presença de *Bacillus cereus* em 49,4%, 75,4% e 96,8% das amostras analisadas, respectivamente, sendo que Martins *et al* (2001) verificaram contagens superiores a 10^3 UFC/g em 19,2% das amostras.

Embora as especificações farmacopêicas indiquem somente a pesquisa de *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, detectados em 63,7% e 12,1% das drogas vegetais, devido à preocupação com possível ocorrência de aflatoxinas, verificou-se a presença de outros gêneros e espécies fúngicas conhecidas por sua capacidade em produzir micotoxinas, como *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*,

Aspergillus fumigatus e outros *Aspergillus* spp, detectados em 57,1%, 28,6%, 8,8% e 26,4% das espécies vegetais, além de *Penicillium citrinum*, *Penicillium chrysogenum*, *Cladosporium* spp, *Trichoderma* spp e *Alternaria* spp, em 34,1%, 14,3%, 4,4%, 2,2% e 1,1% das drogas vegetais.

Os resultados representados na Figura 2.3, indicam micoflora obtida distribuída entre dez gêneros, sendo o predomínio verificado por *Aspergillus* e *Penicillium*. Além destes gêneros, em menor proporção, foi detectada a presença de *Rhizopus* (9,9%), *Cladosporium*, *Mucor* (4,4%), *Chaetomium*, *Phoma*, *Trichoderma* (2,2%), *Alternaria* e *Paecilomyces* (1,1%).

Entre o gênero *Aspergillus*, foram detectados *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus fumigatus*. E entre o gênero *Penicillium*, *Penicillium citrinum* e *Penicillium chrysogenum*.

São vários os estudos referentes à identificação de contaminantes fúngicos em produtos naturais e que apresentam os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* como os principais contaminantes fúngicos:

- Mandeel (2005) verificou o predomínio dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cladosporium* e *Trichoderma*.
- Rizzo *et al* (2004) verificaram que 52% das amostras analisadas estavam contaminadas com espécies do gênero *Aspergillus* e 17%, com espécies de *Fusarium*.
- Elshafie *et al* (2002) isolaram 20 espécies fúngicas, sendo que *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* spp, *Rhizopus* spp e *Syncephalastrum racemosum* foram detectadas com maior frequência, enquanto que Elshafie *et*

- al* (1999) detectaram *Aspergillus niger* com maior frequência, seguido de *Aspergillus flavus*, *Penicillium* spp e *Paecilomyces* spp.
- Martins *et al* (2001) verificaram o predomínio de *Fusarium* spp, *Penicillium* spp, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* (detectados, respectivamente, em 59,7%, 61,3%, 22,6% e 46,8% das amostras analisadas) além de *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus fumigatus*, *Absidia*, *Cladosporium*, *Mucor* e *Paecilomyces*.
 - Abou-Arab *et al* (1999) detectaram principalmente os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*.
 - Aziz *et al* (1998) verificaram a presença de 10 gêneros fúngicos, sendo que *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* e *Penicillium viridicatum* ocorreram com maior frequência.
 - Halt (1998) verificou a ocorrência, principalmente, dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, além de *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Alternaria*, *Cladosporium* e *Trichoderma*.
 - Efuntoye (1996) detectou a presença de 28 espécies fúngicas, sendo as principais *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme*, *Trichoderma viride*, *Penicillium expansum* e *Mucor fragilis*.
 - Santos *et al* (1995) detectaram *Aspergillus niger* e *Aspergillus ochraceus*, em 11,8% e 3,9% das amostras analisadas, além de *Penicillium*, *Cladosporium* e *Paecilomyces*, em 2% das amostras.
 - Entre os fungos isolados por Chourasia (1995), *Aspergillus* e *Fusarium* foram os principais gêneros detectados.
 - El-Kady *et al* (1992) detectaram o predomínio dos gêneros *Aspergillus* (com 25 espécies) e *Penicillium* (com 7 espécies), assim como Garrido *et al* (1992)

que isolaram *Aspergillus* e *Penicillium* em 49,3% e 15,7%, respectivamente e os gêneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Pullularia*, *Sporendonema*, *Syncephalastrum* e *Tricothecium* com frequências menores de 5%.

- Roy e Kumari (1991) isolaram predominantemente *Aspergillus flavus* e *Penicillium citrinum* (em 30% e 15% das amostras, respectivamente), além de *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Fusarium moniliforme*, *Chaetomium* spp, *Mucor mucedo*, *Curvularia lunata*, *Stysanus* sp e *Rhizopus stolonifer*.
- Entre as espécies isoladas por Roy e Chourasia (1989), as mais comuns foram *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Fusarium* e *Penicillium*, sendo o gênero *Aspergillus* detectado na maioria das amostras.
- Roy *et al* (1988) detectaram o predomínio da ocorrência de *Aspergillus flavus* (46%), além de *Aspergillus candidus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus luchuensis*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus nidulans*, *Fusarium moniliforme* e *Penicillium citrinum*.
- Entre os gêneros isolados por Lutomski e Kedzia (1980), os predominantes foram *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* e *Thamnidium*.

Os resultados obtidos, representados na Tabela 2.8, evidenciaram que 81,3% das drogas vegetais analisadas podem ser consideradas insatisfatórias por apresentarem pelo menos uma das seguintes espécies, consideradas como indicadores de risco, *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter* spp, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*.

TABELA 2.8 – Drogas vegetais que apresentaram espécies microbianas consideradas indicadores de risco

Planta	Fornecedor	Microrganismo detectado
Abutua	A	<i>Bacillus cereus</i>
Agoniada	A	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Alcachofra	B	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Alcachofra	C	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Alcachofra	D	<i>Aspergillus flavus</i>
Alteia	D	<i>Aspergillus parasiticus</i>
Calumba	A	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Camédrio	A	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Camomila	C	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Camomila	E	<i>Aspergillus flavus</i>
Capim-limão	E	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Cardo-santo	A	<i>Enterobacter</i> spp
Caroba	B	<i>Aspergillus flavus</i> e <i>Aspergillus parasiticus</i>
Carqueja	A	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp, <i>Aspergillus flavus</i> e <i>A. parasiticus</i>
Carqueja	E	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Carvalho	A	<i>Aspergillus flavus</i>
Cáscara-sagrada	B	<i>Aspergillus flavus</i> e <i>Aspergillus parasiticus</i>
Cáscara-sagrada	E	<i>Aspergillus flavus</i>
Castanha-da-Índia	A	<i>Aspergillus flavus</i>
Catuaba	A	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Catuaba	E	<i>Enterobacter</i> spp, <i>Aspergillus flavus</i> e <i>A. parasiticus</i>
Cavalinha	A	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp, <i>Aspergillus flavus</i> e <i>A. parasiticus</i>
Cavalinha	E	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Centaurea Menor	A	<i>Aspergillus flavus</i>
Chá-de-Bugre	D	<i>Aspergillus flavus</i>
Chá-verde	E	<i>Escherichia coli</i> e <i>Enterobacter</i> spp
Chapéu-de-couro	A	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Chapéu-de-couro	B	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Condurango	A	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Erva-doce	E	<i>Enterobacter</i> spp

continua

Continuação da Tabela 2.8

Planta	Fornecedor	Microrganismo detectado
Erva-mate	E	<i>Enterobacter</i> spp
Escamônea	A	<i>Aspergillus flavus</i>
Estigma de milho	B	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp, <i>Aspergillus flavus</i> e <i>A. parasiticus</i>
Frângula	A	<i>Aspergillus flavus</i>
Fucus	A	<i>Enterobacter</i> spp
Fucus	B	<i>Aspergillus flavus</i>
Fucus	E	<i>Enterobacter</i> spp
Ginkgo biloba	B	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Ginkgo biloba	C	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Ginkgo biloba	D	<i>Aspergillus flavus</i>
Ginkgo biloba	E	<i>Aspergillus flavus</i>
Guaraná	C	<i>Aspergillus flavus</i>
Guaraná	D	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Guaraná	E	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Hipérico	A	<i>Enterobacter</i> spp
Hissopo	A	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Jaborandi	C	<i>Bacillus cereus</i>
Jalapa	A	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Jalapa	E	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Jasmim	B	<i>Aspergillus flavus</i>
Jurubeba	A	<i>Aspergillus flavus</i>
Losna	A	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Macela	C	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Malva	C	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Marapuama	D	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Melissa	A	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp, <i>Aspergillus flavus</i> e <i>A. parasiticus</i>
Melissa	E	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Pfáffia	E	<i>Escherichia coli</i> e <i>Aspergillus flavus</i>
Quássia	A	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Quássia	E	<i>Escherichia coli</i> e <i>Enterobacter</i> spp
Quebra-pedra	E	<i>Enterobacter</i> spp, <i>Aspergillus flavus</i> e <i>A. parasiticus</i>
Quina amarela	A	<i>Aspergillus flavus</i>

continua

Continuação da Tabela 2.8

Planta	Fornecedor	Microrganismo detectado
Ratânia	A	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Sabugueiro	B	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Sabugueiro	E	<i>Escherichia coli</i>
Sene	A	<i>Escherichia coli</i>
Sene	E	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp
Stévia	A	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Stévia	E	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp
Sucupira	A	<i>Aspergillus flavus</i>
Tília	A	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>
Uva ursi	A	<i>Aspergillus flavus</i>
Valeriana	A	<i>Aspergillus flavus</i>
Verbasco	B	<i>Enterobacter</i> spp e <i>Aspergillus flavus</i>

Considerando-se as especificações adotadas para a enumeração da carga microbiana presente e para a pesquisa de microrganismos específicos, verificou-se que 84 drogas vegetais, correspondendo a 92,3% das drogas vegetais analisadas, estão em desacordo com um ou mais parâmetros microbiológicos.

2.4 – CONCLUSÃO

Considerando-se as especificações adotadas para a enumeração da carga microbiana presente e para a pesquisa de microrganismos específicos, verificou-se que 92,3% das drogas vegetais estão em desacordo com um ou mais parâmetros

microbiológicos. Estes dados sugerem que drogas vegetais podem ser consideradas produtos de alto risco, sendo necessária definir medidas adequadas de controle higiênico-sanitário para garantir a qualidade e segurança deste tipo de produto desde a coleta, armazenamento, manipulação até o produto final.