

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

Sarah Rosa da Silva Pontes do Nascimento

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PLANTAS MEDICINAIS  
PRODUZIDAS EM UM ARRANJO PRODUTIVO LOCAL SITUADO NO  
ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

Rio de Janeiro

2021

Sarah Rosa da Silva Pontes do Nascimento

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PLANTAS MEDICINAIS  
PRODUZIDAS EM UM ARRANJO PRODUTIVO LOCAL SITUADO NO  
ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Tutora: Dra. Joana Angélica Barbosa Ferreira  
Preceptora: Dra. Janete Teixeira Duarte

Rio de Janeiro

2021

## Catálogo na Fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Nascimento, Sarah Rosa da Silva Pontes do

Avaliação da qualidade microbiológica de plantas medicinais produzidas em um Arranjo Produtivo Local situado no estado do Rio de Janeiro. / Sarah Rosa da Silva Pontes do Nascimento. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2021.

53 f. : il. ; fig. ; tab.

Monografia (Programa de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2021.

Tutora: Joana Angélica Barbosa Ferreira.

Preceptora: Janete Teixeira Duarte.

1. Plantas medicinais. 2. Microbiologia. 3. Qualidade. I. Título.

Evaluation of the microbiological quality of medicinal plants produced in a local productive arrangement located in Rio de Janeiro state.

Sarah Rosa da Silva Pontes do Nascimento

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PLANTAS MEDICINAIS  
PRODUZIDAS EM UM ARRANJO PRODUTIVO LOCAL SITUADO NO  
ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Tutora: Dra. Joana Angélica Barbosa Ferreira  
Preceptora: Dra. Janete Teixeira Duarte

Aprovado em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

Dra. Maria Helena Simões Villas Bôas  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Dra. Joana Angélica Barbosa Ferreira  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Dra. Mayre Aparecida Borges da Costa  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dra. Joana Angélica Barbosa Ferreira - Tutora  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Dra. Janete Teixeira Duarte - Preceptora  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dedico esta monografia aos colegas do INCQS, pela oportunidade de vivência neste lugar que transpira ciência e saúde pública, em especial às queridas amigas do Setor de Não Estéreis por todo auxílio, aprendizado e carinho que me deram.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por toda força e paciência que me dedica.

Ao meu marido que me apoia e fala o quanto eu sou capaz.

À minha família que sempre me instruiu a seguir pelo caminho do conhecimento.

À minha orientadora Joana Angélica por todo aprendizado que me passou nos últimos dois anos, sem dúvida saio do Setor de Não Estéreis como uma profissional muito mais capacitada.

Às amigas do laboratório, Juliana, Priscila, Monica e Bianca por todo apoio, dicas e por fazerem meus dias mais felizes.

Ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde e a Pós-Graduação pela honra de participar do Programa de Residência Multiprofissional e auxiliar com o meu crescimento profissional.

Aos professores que contribuíram com a minha formação na área de Vigilância Sanitária.

## RESUMO

O uso de plantas para fins terapêuticos é amplamente disseminado no mundo, seja por incentivos governamentais, ou pela busca da sociedade por hábitos de vida mais naturais. No Brasil, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares promoveu a utilização de plantas medicinais e fitoterápicos no âmbito do Sistema Único de Saúde. Arranjos Produtivos Locais são grupos de empreendimentos que são utilizados dentro da Política Nacional de Plantas Medicinais para produzir as plantas medicinais. Sabendo que a matéria prima vegetal é naturalmente mais susceptível a contaminações por microrganismos, o presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de cinco espécies de plantas medicinais cultivadas por um Arranjo Produtivo Local localizado no estado do Rio de Janeiro e distribuídas em postos de saúde do Sistema Único de Saúde. São elas: alumã (*Vernonia condensata* Baker.), capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.), carqueja (*Baccharis crispa* Spreng.), cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e guaco (*Mikania glomerata* Spreng.). De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que preconiza a realização de testes de controle de qualidade para produtos de interesse à saúde, foram utilizadas metodologias para verificação da capacidade inibitória, contagem total de bactérias aeróbias, bolores e leveduras, contagem de bactérias Gram-negativas bile tolerantes, pesquisas de *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*, além de identificação gênero-espécie de outros microrganismos que possam vir a estar presentes nos produtos. A rotulagem das embalagens foi verificada de acordo com a RDC nº 18/2013. Ao longo de três anos foi possível observar o avanço higiênico-sanitário na produção das plantas medicinais, porém um total de 54,2% de amostras mostrou-se acima dos limites preconizados pela Farmacopeia Brasileira, com destaque para a contaminação por *E. coli* detectada em 37,5% das amostras. A verificação dos itens obrigatórios no rótulo dos produtos demonstrou a presença de irregularidades em 100% das embalagens. Visto isso, mostra-se necessário que mais medidas de controle de qualidade sejam adotadas para obtenção de produtos seguros, eficazes e com qualidade.

Palavras-chave: Plantas Medicinais. Microbiologia. Qualidade.

## ABSTRACT

The use of plants for therapeutic purposes is widespread in the world, either by government incentives, or by society's search for more natural lifestyle habits. In Brazil, the National Policy on Integrative and Complementary Practices promoted the use of medicinal plants and herbal medicines within the scope of the Unified Health System. Local Productive Arrangements are groups of enterprises that are used within the National Policy on Medicinal Plants to produce medicinal plants. Knowing that the vegetable raw material is naturally more susceptible to contamination by microorganisms, the present study aimed to evaluate the microbiological quality of five species of medicinal plants grown by a Local Productive Arrangement located in the state of Rio de Janeiro and distributed in health posts of the Unified Health System. They are: alum (*Vernonia condensata* Baker.), lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.), gorse (*Baccharis crispa* Spreng.), turmeric (*Curcuma longa* L.) and guaco (*Mikania glomerata* Spreng.). According to the National Health Surveillance Agency, which recommends the performance of quality control tests for products of interest to health, methodologies were used to check the inhibitory capacity, total count of aerobic bacteria, molds and yeasts, count of Gram bacteria - negative bile tolerants, researches of *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. and *Escherichia coli*, in addition to gender-species identification of other microorganisms that may be present in the products. The packaging labeling was verified in accordance with RDC nº 18/2013. Over three years it was possible to observe the hygienic-sanitary progress in the production of medicinal plants, however a total of 54.2% of samples were above the limits recommended by the Brazilian Pharmacopoeia, with emphasis on the contamination by *E. coli* detected in 37.5% of the samples. The verification of mandatory items on the product label showed the presence of irregularities in 100% of the packaging. Given this, it is necessary that more quality control measures be adopted to obtain safe, effective and quality products.

Keywords: Medicinal Plants. Microbiology. Quality.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Folhas de <i>Vernonia condensata</i> Baker.....	18
Figura 2 -	Plantação de <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf.....	19
Figura 3 -	Partes aéreas de <i>Baccharis crispa</i> Spreng.....	20
Figura 4 -	Rizoma de <i>Curcuma longa</i> L.....	21
Figura 5 -	Folhas de <i>Mikania glomerata</i> Spreng.....	21
Figura 6 -	Esquema ilustrando as diluições seriadas e os microrganismos utilizados na capacidade inibitória.....	26
Figura 7 -	Esquema para contagem de bactérias aeróbias, bolores e leveduras.....	28
Figura 8 -	Detecção de bactérias Gram-negativas bile tolerantes.....	30
Figura 9 -	Porcentagem dos resultados microbiológicos das plantas medicinais por ano.....	42
Figura 10 -	Porcentagem dos resultados microbiológicos para as espécies analisadas.....	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Definições de produtos de origem vegetal utilizados com fins terapêuticos.....	15
Tabela 2 - Limites microbianos para produtos de origem vegetal.....	17
Tabela 3 - Resultados das análises realizadas nas amostras das plantas medicinais.....	36
Tabela 4 - Principais causas para determinação de amostras insatisfatórias.....	40
Tabela 5 - Informações obrigatórias em rótulos de plantas medicinais de acordo com a RDC nº 18/2013.....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APL	Arranjo Produtivo Local
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CNPJ	Cadastro Nacional de Pessoa Jurídica
CRM	<i>Certified Reference Microorganism</i>
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
g	grama
h	hora
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade de Saúde
Inmetro	Instituto Nacional de Metrologia
mL	mililitro
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
POP	Procedimento Operacional Padrão
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SUS	Sistema Único de Saúde
UFC	Unidade Formadora de Colônia

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>1.1 Utilização das plantas medicinais no âmbito do Sistema Único de Saúde</b> ..	<b>11</b>
<b>1.2 Controle microbiológico em produtos de origem vegetal</b> .....	<b>13</b>
<b>1.3 Plantas medicinais do arranjo produtivo local</b> .....	<b>16</b>
1.3.1 Alumã .....	18
1.3.2 Capim limão .....	18
1.3.3 Carqueja.....	19
1.3.4 Cúrcuma.....	20
1.3.5 Guaco.....	21
<b>1.4 Justificativa</b> .....	<b>22</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>24</b>
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	<b>24</b>
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>24</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
<b>3.1 Verificação da capacidade inibitória</b> .....	<b>26</b>
<b>3.2 Contagem total de bactérias aeróbias, bolores e leveduras</b> .....	<b>27</b>
<b>3.3 Contagem de colônias</b> .....	<b>28</b>
<b>3.4 Contagem de bactérias Gram-negativas bile tolerantes</b> .....	<b>29</b>
<b>3.5 Pesquisa de patógenos</b> .....	<b>30</b>
3.5.1 <i>Candida albicans</i> .....	30
3.5.2 <i>Escherichia coli</i> .....	30
3.5.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	31
3.5.4 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	31
3.5.5 <i>Salmonella</i> .....	31
3.5.6 Identificação de outros microrganismos .....	32
<b>3.7 Controles positivo, negativo e branco</b> .....	<b>32</b>
<b>3.8 Análise de rotulagem</b> .....	<b>32</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>34</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>47</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>48</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas na alimentação existe desde os primórdios, já o uso com finalidade curativa ocorreu com o passar dos tempos através da observação de que determinadas espécies atenuavam doenças. O primeiro relato sobre uso de plantas medicinais data de 2800 a.C. quando Shen Nung escreveu *Pen Ts'ao* ou A Grande Fitoterapia. Historicamente, praticamente todas as civilizações antigas utilizavam plantas no processo curativo. No Brasil, o conhecimento da utilização de plantas para tratar enfermidades teve início com os indígenas, que juntamente ao trazido por escravos e imigrantes, resultou no nascimento de uma medicina popular única (FERREIRA, 2016).

Os ameríndios, índios das Américas, utilizavam plantas com finalidade terapêutica há mais de 10 mil anos. Os colonizadores de Portugal e Espanha identificaram estes conhecimentos, exportaram diversas espécies e introduziram na cultura europeia. Um exemplo é a Triaga Brasileira, preparação indicada como antídoto de veneno de cobras, originária da Roma antiga e melhorada por padres jesuítas baianos no século XVII com a inclusão de espécies botânicas brasileiras (SIMÕES *et al.*, 2017).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece que as plantas medicinais tradicionalmente utilizadas pelas civilizações antigas, como as da medicina tradicional chinesa, a medicina aiurveda da Índia e a medicina ameríndia possuem importância terapêutica. Indianos e chineses buscam validação formal para suas preparações ancestrais, já no Brasil, mesmo as espécies etnobotânicas da medicina ameríndia, são pouco conhecidas e usadas. Diante disso, torna-se necessário maior investimento em estudos de conservação, pesquisa e desenvolvimento para valorizar a medicina popular brasileira (SIMÕES *et al.*, 2017).

### 1.1 Utilização das plantas medicinais no âmbito do Sistema Único de Saúde

A Conferência Internacional sobre atenção primária em saúde, realizada no Cazaquistão em 1978 pela OMS, discutiu sobre políticas e regulamentações para o emprego de remédios utilizados popularmente e com eficácia garantida. Iniciou-se um engajamento por parte da OMS, a partir deste momento, em publicar dados sobre uso tradicional de espécies medicinais. Além disso, informações sobre

qualidade, segurança e eficácia de plantas medicinais foram detalhadas para auxiliar os países membros a regulamentar o uso de plantas medicinais e fitoterápicos (SANTOS, CARVALHO, 2018).

A partir da década de 1980, profissionais de saúde do Brasil seguiram as recomendações da OMS de incorporar tratamentos com plantas medicinais e fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS). Porém, foi em 2006 que o Ministério da Saúde adotou políticas próprias para o assunto com a criação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) e a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF). A PNIC contempla práticas alternativas e tradicionais, incluindo fitoterapia e plantas medicinais, para prevenir, promover e recuperar a saúde, estimulando seu uso no SUS com qualidade, eficácia e segurança. A PNPMF visa a melhora da atenção à saúde, utilização da biodiversidade do país de modo sustentável com foco na agricultura familiar, criação de empregos e desenvolvimento de indústrias e tecnologia (BRASIL, 2006a; BRASIL, 2006b; TORRES, 2013).

Entre as ações destacadas na PNPMF está a estimulação de Arranjos Produtivos Locais (APL) que são conjuntos de empreendimentos de um mesmo assunto, em território único, que através do conhecimento se articulam, interagem, cooperam entre si e com instituições locais (governo, institutos de pesquisa, escolas, universidades e bancos). Em abril de 2012, o Ministério da Saúde lançou o primeiro edital para seleção e financiamento de APL ligadas a saúde, apontando como obrigatório que as organizações interessadas apresentassem no mínimo quatro dos objetivos pontuados abaixo:

**A-** identificar e selecionar instituições, entidades e/ou empresas parceiras; **B-** promover a interação e a cooperação entre os agentes produtivos de toda cadeia de plantas medicinais e fitoterápicos; **C-** desenvolver a produção de plantas medicinais, insumos de origem vegetal e fitoterápicos, preferencialmente com cultivo orgânico, considerando a agricultura familiar/urbana e periurbana, o conhecimento tradicional (anexo 1) e o científico como componentes desta cadeia produtiva; **D-** fortalecer laboratórios públicos ou parcerias público-privadas visando à produção de fitoterápicos; **E-** implantar e/ou implementar programas e projetos que garantam a produção e dispensação de plantas medicinais e fitoterápicos no âmbito do SUS; **F-** promover a qualificação técnica dos profissionais de saúde e demais envolvidos na produção e uso de plantas medicinais e fitoterápicos; **G-** promover a articulação entre políticas públicas transversais ao Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. (BRASIL, 2012, p. 1-2).

A evolução tecnológica permitiu a fabricação de medicamentos sintéticos que passaram a ser a primeira opção de escolha de tratamento, principalmente no ocidente e em países com maior grau de desenvolvimento. O retraimento no uso de plantas medicinais e seus derivados ocorreu por uma associação de motivos: avanço da química com o isolamento de substâncias ativas e produtos de síntese; interesses econômicos no setor da saúde; desqualificação do conhecimento empírico popular em torno das plantas medicinais. Fatores estes que acarretaram no maior uso de medicamentos sintéticos pela população em detrimento das plantas e o fortalecimento das indústrias farmacêuticas ao redor do mundo (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010; MAZIERO; TEIXEIRA, 2017).

O uso de espécies de plantas para fins curativos persiste em países sub ou em desenvolvimento pela dificuldade econômica em obter medicamentos sintéticos. Segundo a OMS, 80% das pessoas destes países fazem uso da medicina tradicional e 85% utilizam plantas medicinais. No Brasil, a população de baixa renda, principalmente na região nordeste, possui dificuldade para adquirir medicamentos e, visto isso, alguns estados e municípios estão investindo em plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos na tentativa de suprir a falta de medicamentos sintéticos das comunidades (SOUZA *et al.*, 2013).

Outros fatores que corroboram para o estímulo do uso de plantas medicinais e derivados são: ocorrência de efeitos adversos pelos medicamentos sintéticos; crescente mercado de pessoas em busca do consumo de produtos naturais; aumento de estudos científicos validando a atividade farmacológica de espécies de plantas; desenvolvimento das técnicas de controle de qualidade; surgimento de novos produtos; e baixo custo em relação aos sintéticos (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010).

## **1.2 Controle microbiológico em produtos de origem vegetal**

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) é a instituição responsável pela regulação de produtos relacionados à saúde no Brasil. A vigilância sanitária é a área da saúde pública que visa eliminar, reduzir e prevenir agravos à saúde através de ações legais, técnicas, de pesquisa e fiscalização, exercendo o controle sanitário das atividades, produção e consumo de produtos em proteção a

sociedade. Dentre as competências da Anvisa destaca-se o controle de qualidade de produtos para fins medicinais (FERREIRA, 2016).

A Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 18, de 3 de abril de 2013 determina as Boas Práticas de Fabricação (BPF) de plantas medicinais e fitoterápicos produzidos em hortas oficiais ou comunitárias para dispensação no SUS, ou seja, não comercializáveis, sendo distribuídas gratuitamente para a população. As BPF visam garantir a qualidade, segurança e efetividade dos produtos, através de requisitos mínimos que devem ser seguidos pelos fabricantes. Dentre eles, deve-se possuir infraestrutura física compatível com a atividade, bem como materiais e equipamentos calibrados e qualificados; adotar protocolos validados de limpeza e sanitização; controlar a qualidade de matérias primas e materiais de embalagem; seguir disposições sobre rotulagem; garantir a conservação e transporte dos produtos (BRASIL, 2013).

A utilização de matéria prima de origem vegetal envolve diversos cuidados em relação a qualidade da água de irrigação, ar, solo, coleta, manipulação, secagem e estocagem, já que é propensa a contaminação microbiana. Bactérias e fungos usam os carboidratos, aminoácidos e umidade que compõem os vegetais como fonte de energia, causando altas taxas de microrganismos, muitas vezes patogênicos. As plantas *in natura* representam aspectos que favorecem a contaminação, entre outros motivos, pela alta quantidade de água. Após a colheita, ao realizar o processo de secagem das plantas, o ideal é que se alcance teores de água entre 8 e 14% para uma armazenagem segura e eficiente (GINDRI; LAPORTA; SANTOS, 2012; GARBIN; TIUMAN; KRÜGER, 2013).

A presença de bactérias, fungos e leveduras em produtos pode promover mudanças físico-químicas podendo levar à deterioração, mudanças de coloração, presença de odores desagradáveis e perda de eficácia. O tipo de microrganismo contaminante, a concentração e a virulência da cepa, aliados ao estado de saúde do consumidor podem provocar infecções nos usuários (FARMACOPEIA..., 2019).

O controle microbiológico se insere nas medidas de BPF, pois pode ser um preditivo das condições higiênico-sanitárias do local de cultivo e manipulação do produto. Inadequações, como altas taxas de microrganismos contaminantes, podem acarretar em perda da qualidade terapêutica do material vegetal (GARBIN; TIUMAN; KRÜGER, 2013).



A Farmacopeia Brasileira (2019) determina os limites microbianos exigidos para produtos não estéreis, dentre eles os produtos de origem vegetal (Tabela 1).

Tabela 1 - Limites microbianos para produtos de origem vegetal

<i>Via de administração</i>	<i>Contagem total de bactérias aeróbias UFC/g ou mL<sup>a</sup></i>	<i>Contagem total de fungos UFC/g ou mL<sup>a</sup></i>	<i>Pesquisa de patógenos<sup>b,c</sup></i>
<b>2 Produtos de origem vegetal<sup>d</sup></b>			
<b>2.1 Produto acabado</b>			
Para uso oral, contendo insumo ativo que foi submetido a pré-tratamento que reduz a carga microbiana.	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	Ausência de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> em 1 g ou mL. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g ou 10 mL. Limite máximo de 10 <sup>2</sup> bactéria Gram negativa bile tolerante <sup>e</sup> em 1 g ou mL.
Para uso oral que será submetido a processo extrativo a quente (por exemplo, infusões ou decoções).	10 <sup>7</sup>	10 <sup>4</sup>	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1 g. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g. Limite máximo de 10 <sup>4</sup> bactéria Gram negativa bile tolerante <sup>e</sup> em 1 g.
Para uso oral, contendo insumo ativo que não foi submetido a pré-tratamento que reduz a carga microbiana.	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1 g. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g. Limite máximo de 10 <sup>3</sup> bactéria Gram negativa bile tolerante <sup>e</sup> em 1 g.
Para uso tópico (oromucosa, nasal, gengival, cutâneo, auricular)	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Clostridium</i> em 1 g. Limite máximo de 10 <sup>2</sup> bactéria Gram negativa bile tolerante <sup>e</sup> em 1 g.
Para uso vaginal	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i> em 1 g ou mL.
Para uso inalatório	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e bactéria Gram negativa bile tolerante <sup>e</sup> em 1 g ou mL.

Nota: (a) É aceitável um resultado duas vezes o valor de especificação em virtude da variabilidade maior de execução dos testes para determinação da biocarga, porém, quando estes valores são encontrados com frequência, é necessário rever o processo produtivo. Assim:

- 10<sup>1</sup> UFC: valor máximo aceitável = 20
- 10<sup>2</sup> UFC: valor máximo aceitável = 200
- 10<sup>3</sup> UFC: valor máximo aceitável = 2000 e assim sucessivamente.

(b) Resultados de contagem de bactérias e fungos dentro dos limites aceitáveis não exclui a necessidade da pesquisa de patógenos.

(c) Além dos microrganismos listados na Tabela, a significância de outros micro-organismos recuperados deve ser avaliada levando em consideração:

- o uso do produto: considerar a via de administração a ser utilizada;
- a natureza do produto: o produto é susceptível ao crescimento microbiano?
- o usuário: considerar o risco para neonatos, infantes e debilitados.

(d) Para produtos que se enquadrem em mais de uma situação prevalecerão os limites mais restritivos.

(e) Outras enterobactérias.

Fonte: (FARMACOPEIA..., 2019)

No caso de produto para uso oral que será submetido a processo extrativo a quente, que é o caso das plantas medicinais produzidas pela APL, é exigido que microrganismos como *Salmonella* sp. e *Escherichia coli* estejam ausentes em determinada concentração (FARMACOPEIA..., 2019). Tratam-se de contaminantes de origem fecal (fezes de mamíferos) que podem causar sintomas gastrointestinais ou até a morte, no caso de desenvolvimento de salmonelose. Além disso, outro grupo citado na Farmacopeia é o dos fungos, que podem promover alteração do teor de princípio ativo das plantas medicinais e com isso diminuir a eficácia do tratamento. Bolores e leveduras podem causar alergias e produzir micotoxinas, como a aflatoxina, que ingerida em altas concentrações pode promover lesões hepáticas (GOMES; NEGRELLE; ELPO, 2008).

As plantas medicinais deste estudo, utilizadas com a finalidade de preparação de chás, são consideradas produtos tradicionais fitoterápicos e segundo a RDC nº 26, de 13 de maio de 2014 são produtos compostos de matéria-prima vegetal ativa com atividades terapêuticas, segurança e efetividade baseadas em literatura técnico-científica, livre de registro e concebidas para serem utilizadas sem a necessidade de prescrição médica (BRASIL, 2014).

### **1.3 Plantas medicinais do arranjo produtivo local**

O Laboratório de Produtos Não Estéreis do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) em parceria com um dos APL ligado ao PNPMF promoveu a análise microbiológica de determinadas espécies de plantas medicinais. Essas plantas foram cultivadas por agricultores familiares pertencentes à associação, que também fazem o processo de secagem e embalagem dos produtos e distribuem em postos de saúde do SUS no município no qual o APL está localizado. São elas, a alumã (*Vernonia condensata* Baker.), o capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.), a carqueja (*Baccharis crispa* Spreng.), a Cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e o guaco (*Mikania glomerata* Spreng.), que de acordo com as definições da Tabela 2, são classificadas como drogas vegetais.

Tabela 2 - Definições de produtos de origem vegetal utilizados com fins terapêuticos

<b>Produto</b>	<b>Definição</b>
<b>Planta medicinal</b>	Espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com finalidade terapêutica.
<b>Droga vegetal</b>	Planta medicinal ou suas partes, que contenha os ativos responsáveis pela ação terapêutica, que tenha passado por processos de coleta, estabilização e secagem, podendo estar na forma íntegra, rasurada, triturada ou pulverizada.
<b>Derivado vegetal</b>	Produto gerado a partir da planta medicinal ou fresca ou da droga vegetal, que contenha os ativos responsáveis pela ação terapêutica. Ex.: extrato, óleo, exsudato.
<b>Chá medicinal</b>	Produto preparado pelo consumidor através de infusão, decocção ou maceração da droga vegetal em água para fins terapêuticos.
<b>Fitoterápico</b>	Produto obtido de matéria prima ativa vegetal com finalidade de prevenir, curar ou tratar. Ex.: medicamento fitoterápico.
<b>Medicamento fitoterápico</b>	Medicamento produzido apenas com matérias primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de sua utilização, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança são validadas por meio de levantamentos etnofarmacológicos, de utilização, documentações tecnocientíficas ou evidências clínicas.

Fonte: (BRASIL, 2016).

Diversos estudos apontam a utilização de plantas medicinais para prevenção e tratamento de enfermidades, sendo o gênero feminino o maior consumidor e detentor de conhecimentos etnobotânicos, com o conhecimento passado de geração em geração dentro das famílias, cultivo próprio em quintais e utilização na forma de chá (RIBEIRO et al., 2014; MOURA et al., 2016; SILVA, LIMA, VALE, 2016; PEREIRA et al., 2018). Segundo Scudeller, Veiga e Araújo-Jorge (2009), 58,5% dos chás são preparados através da decocção, 8,4% por infusão e 8,4% utilizando a técnica de maceração.

A decocção é um processo de extração a quente que consiste em aquecer até a ebulição a planta com o solvente, em geral água, por tempo determinado. Outro processo de extração a quente é a infusão, onde a água é aquecida até ferver e vertida na droga vegetal pulverizada, em recipiente fechado durante determinado tempo. Já a maceração é um método de extração a frio, onde o solvente permanece em contato com fragmentos da planta por horas ou até dias, com agitação casual, também em recipiente fechado (KEMPES et al., 2014).

As drogas vegetais não são classificadas como medicamentos, entretanto, podem ser utilizadas em períodos curtos para tratar sintomas de enfermidades de gravidade baixa. A disponibilidade destes produtos é exclusiva como plantas secas

para o preparo de chá medicinal para uso oral ou tópico, sendo isentos de prescrição médica (CARVALHO et al., 2012).

### 1.3.1 Alumã

A espécie *Vernonia condensata* Baker. também conhecida como boldo africano, pertence à família Asteraceae e possui em suas folhas (Figura 1) os ativos que agem principalmente contra má digestão. Outras ações desta planta são para tratamento de gases, doenças do fígado e do estômago, e malária. O chá é preparado com partes frescas ou secas da folha da alumã através de infusão (SCUDELLER, VEIGA, ARAÚJO-JORGE, 2009; COSTA, MARINHO, 2016; MORAES et al., 2019).

Figura 1 - Folhas de *Vernonia condensata* Baker



Fonte: (PALÁCIO ITABORAÍ, 2014)

### 1.3.2 Capim limão

Pertencente à família Poaceae, a espécie *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf é uma gramínea tradicionalmente utilizada como planta medicinal. Também conhecido como capim santo e capim cidreira, tem em suas folhas (Figura 2) componentes como o citral que promovem ações antimicrobiana, analgésica, anticancerígena, repelente de insetos, fonte de vitamina A e auxiliam no tratamento de distúrbios dos sistemas gástrico, nervoso e respiratório (MELO et al., 2007; GOMES; NEGRELLI, 2015; CARVALHO, 2019).

Figura 2 - Plantação de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf



Fonte: (BRITO, 2007).

O chá de capim limão é preparado comumente na forma de infusão utilizando folhas frescas ou secas. Além do uso medicinal, esta espécie se destaca nas indústrias alimentícia, cosmética e de perfumes como flavorizante e aromatizante (GOMES, NEGRELLI, 2015; CARVALHO, 2019).

### 1.3.3 Carqueja

A espécie *Baccharis crispa* Spreng. faz parte da família Asteraceae e junto com aproximadamente outras 500 espécies engloba o gênero *Baccharis*. Sua principal utilização terapêutica é para má digestão, porém existem citações de uso para controlar a glicemia (SANTOS, 2006). Outros usos incluem redução do colesterol, inflamações urinárias, desintoxicação do fígado e estomatite. A preparação do chá se dá a partir das partes aéreas da planta (Figura 3) através de infusão (PALÁCIO ITABORAÍ, 2014).

Figura 3 - Partes aéreas de *Baccharis crisper* Spreng



Fonte: (PALÁCIO ITABORAÍ, 2014)

A identificação botânica nas espécies de *Baccharis* sp. é difícil até mesmo para especialistas, sobretudo pela existência de plantas diferentes com o mesmo nome popular sendo utilizadas para o mesmo tratamento. As espécies *B. trimera* e *B. articulata* são as mais estudadas, entretanto diversas outras, como a *B. crisper*, são utilizadas para fins medicinais, porém carecem de estudos aprofundados (BUDEL *et al.*, 2005).

#### 1.3.4 Cúrcuma

Popularmente conhecida como açafrão-da-terra, pertence à família Zingiberaceae e ao gênero *Curcuma*, tem na espécie *Curcuma longa* L. sua representante mais importante. A utilização desta planta, em especial o rizoma, ocorre principalmente em temperos e condimentos, como o pó da cúrcuma que é ingrediente do *curry* indiano e conjuntamente com a páprica tempera queijos processados. Devido a cor amarela vem sendo empregada como corante natural, em substituição a tartrazina que é um corante sintético (MAIA; FERREIRA; ABREU, 2004).

O chá de cúrcuma é feito a partir do rizoma (Figura 4) da planta medicinal e preparado através de decocção. Segundo Moretes e Geron (2019) possui propriedades antimicrobiana, antitumoral, anticancerígena, antimalárica, anticoagulante, antiflatulenta, entre outras.

Figura 4 - Rizoma de *Curcuma longa* L



Fonte: (PALÁCIO ITABORAÍ, 2014).

#### 1.3.5 Guaco

No Brasil, o gênero *Mikania* engloba cerca de 171 espécies, tendo na espécie *Mikania glomerata* Spreng. sua principal representante dentre as espécies medicinais. Também conhecida como coração-de-jesus, guaco-cheiroso e erva-de-cobra, esta planta da família Asteraceae tem em suas folhas (Figura 5) a parte medicinal utilizada para preparar o chá através de infusão (GASPARETTO, 2010).

Figura 5 - Folhas de *Mikania glomerata* Spreng



Fonte: (PALÁCIO ITABORAÍ, 2014).

Bertoldi e colaboradores (2016) destacaram a presença da cumarina como substância ativa do guaco, tendo comprovação científica dos efeitos espasmolítico, anti-inflamatório e broncodilatador, sendo utilizado, portanto, no tratamento de doenças do aparelho respiratório como tosse, bronquite e asma.

#### **1.4 Justificativa**

Os produtos de origem vegetal, por si só, apresentam maior risco de contaminação microbiológica, devido suas características naturais. Sendo o Brasil um país com práticas precárias de saneamento básico, o risco potencial aumenta, principalmente em produções não-industriais, comprometendo a qualidade do produto. Diversos estudos apontam para a falta de qualidade microbiológica em plantas medicinais e fitoterápicos (SOUZA; MACIEL, 2010; GARBIN; TIUMAN; KRÜGER, 2013; VERDI; YOUNES; BERTOL, 2013; HELLMANN; VELASQUEZ, 2017; MONTES et al., 2017; CARMO, 2019; VIEIRA; VIANNA; ALMEIDA, 2020).

A contaminação microbiana, dependendo da espécie, sendo ela patogênica ou não, e sua carga, pode gerar riscos para o produto e para o consumidor. Logo, a identificação de microrganismos que contaminam as espécies de plantas analisadas pode auxiliar na detecção das falhas no processo de produção para obtenção de produtos de qualidade.

Além da perda de eficácia da formulação, há possibilidade de produtos tóxicos gerados pelos microrganismos alterarem o estado de saúde do consumidor, levando desde desconfortos gástricos e intestinais, até a morte em pacientes imunocomprometidos.

As plantas medicinais analisadas neste estudo, de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Anvisa, são distribuídas à população em postos de saúde, ou seja, os consumidores são pessoas que as utilizam para tratamento de algum sintoma. Caso o estado de saúde do paciente esteja comprometido, a presença de contaminantes pode agravar seu quadro. Os produtos devem fornecer prevenção e cura de agravos à saúde, portanto, a segurança microbiológica é de extrema importância tanto na segurança do paciente quanto na eficácia do tratamento.

Apesar de algumas pessoas acreditarem que as plantas medicinais não trazem riscos devido a origem natural, como qualquer produto o uso indiscriminado ou errôneo pode causar efeitos adversos ao consumidor (SCHELD; FAJARDO,



2020). A rotulagem destes produtos deve possuir informações de modo a orientar sobre o uso correto, possíveis efeitos adversos, interações medicamentosas, correta identificação da espécie, entre outros. A análise de rótulos, portanto, auxilia na garantia da segurança do consumidor ao utilizar o produto.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas por um Arranjo Produtivo Local (APL) e oferecidas aos usuários do SUS no estado do Rio de Janeiro.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Verificar se há inibição do crescimento microbiano causada pelas plantas medicinais;
- Realizar a contagem total de bactérias aeróbias, bolores, leveduras e bactérias Gram-negativas bile tolerantes;
- Pesquisar patógenos e outros possíveis microrganismos contaminantes por caracterização fenotípica;
- Analisar as informações presentes no rótulo dos produtos de acordo com a legislação.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras de cinco espécies de plantas medicinais foram enviadas para o Setor de Produtos Não Estéreis, no Departamento de Microbiologia do INCQS da Fiocruz, através de uma parceria com os produtores, para verificação da qualidade microbiológica. As plantas foram cultivadas por agricultores de um APL situado no interior do estado do Rio de Janeiro e foram distribuídas na atenção básica de saúde do SUS.

Desde 2017, quando a parceria foi instaurada, até dezembro de 2019, 24 amostras foram analisadas, sendo onze de capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.), cinco de carqueja (*Baccharis crispa* Spreng.), três de cúrcuma (*Curcuma longa* L.), três de alumã (*Vernonia condensata* Baker.) e duas de guaco (*Mikania glomerata* Spreng.).

As plantas medicinais foram enviadas ao laboratório na forma em que são entregues à população, folhas/flores/rizoma secos em embalagens plásticas hermeticamente fechadas e rotuladas contendo nome da planta medicinal, fabricação, validade, lote, indicação de uso e forma de preparo. Foram enviadas quantidades suficientes de cada lote para a realização das análises, geralmente três embalagens contendo em média 7g. As amostras foram analisadas imediatamente após a chegada ao laboratório.

Para evitar contaminações microbianas adicionais às amostras, toda análise foi realizada em sala controlada e dentro de cabine de segurança biológica. Além disso, todas as vidrarias e meios de cultura passaram por processo de esterilização, e os equipamentos são calibrados e qualificados.

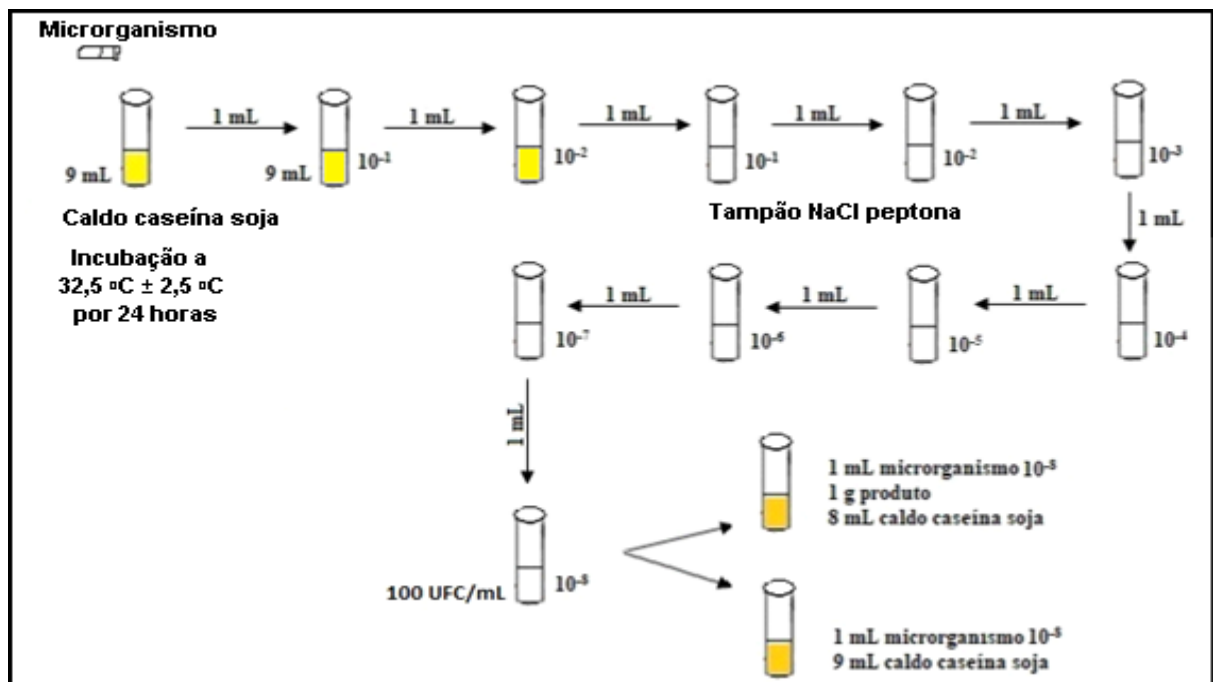
Os métodos utilizados para as análises estão descritos em Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs) do próprio laboratório e foram baseados na 6ª edição da Farmacopeia Brasileira (2019). São eles: POP 65.3210.008, rev.: 19 (Pesquisa de patógenos em produtos não estéreis e matérias-primas de uso em sua fabricação e água para diálise); POP 65.3210.009, rev.: 21 (Verificação da capacidade inibitória de produtos não estéreis do departamento de microbiologia); POP 65.3210.010, rev.: 21 (Contagem total de bactérias aeróbias, bile tolerantes, bolores e leveduras em produtos farmacêuticos e água para diálise).

Todos os ensaios são acreditados pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro), pela Norma Técnica da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) ISO/IEC 17.025/2017 e são qualificados pela OMS.

### 3.1 Verificação da capacidade inibitória

Segundo a Farmacopeia Brasileira (2019) todo produto deve passar por uma análise prévia ao teste microbiológico para garantir que não existem inibidores intrínsecos na formulação do produto que impedem o crescimento microbiano. A atividade inibitória pode acarretar em um resultado falso negativo e o teste de verificação garante a segurança do método de recuperação de microrganismos utilizado. Os microrganismos de referência empregados neste ensaio foram: *Staphylococcus aureus* (ATCC CRM 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC CRM 9027), *Escherichia coli* (ATCC CRM 8739), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) e *Candida albicans* (ATCC CRM 10231). Um esquema resumindo o método é ilustrado na Figura 6 (FARMACOPEIA..., 2019).

Figura 6 - Esquema ilustrando as diluições seriadas e os microrganismos utilizados na capacidade inibitória



Fonte: (Do autor, 2021).

O método consiste em expor 1 g de produto a 1 mL de microrganismo com a concentração em torno de 100 UFC/mL juntamente a 8 mL de meio de cultura (tubo identificado como presença da amostra). Em paralelo é preparado um controle positivo com 1 mL de microrganismo na concentração de 100 UFC/mL com 9 mL de meio de cultura (tubo identificado como ausência da amostra) e um controle negativo apenas com o meio de cultura (tubo identificado como branco). Com a finalidade de alcançar a concentração de 100 UFC/mL, foi necessário:

- I. Preparar subcultivos com os microrganismos de referência criopreservados em 5 mL de caldo caseína soja;
- II. Incubar as bactérias a  $(32,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C})$  por 18 – 24 horas e o fungo *C. albicans* a  $22,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$  por cinco dias;
- III. Diluir os inóculos até o fator 2 ( $10^{-2}$ ) em caldo caseína soja e continuar diluindo até  $10^{-8}$  em tampão cloreto de sódio peptona, quando a suspensão atinge a concentração exigida.

Os tubos de presença, ausência e branco foram incubados a  $(32,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C})$  por 24 horas, com exceção do que continha *C. albicans* que foi incubado a  $22,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$  por cinco dias. Por fim, os tubos de presença e ausência foram comparados e para atestar a recuperação nos tubos de presença da amostra realizou-se o repique para placas contendo ágar caseína soja para as bactérias e ágar sabouraud dextrose 4% para *C. albicans* nas diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  para contagem após incubação, novamente de  $(32,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C})$  por 24 horas, com exceção da *C. albicans* que permaneceu a  $(22,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C})$  por cinco dias.

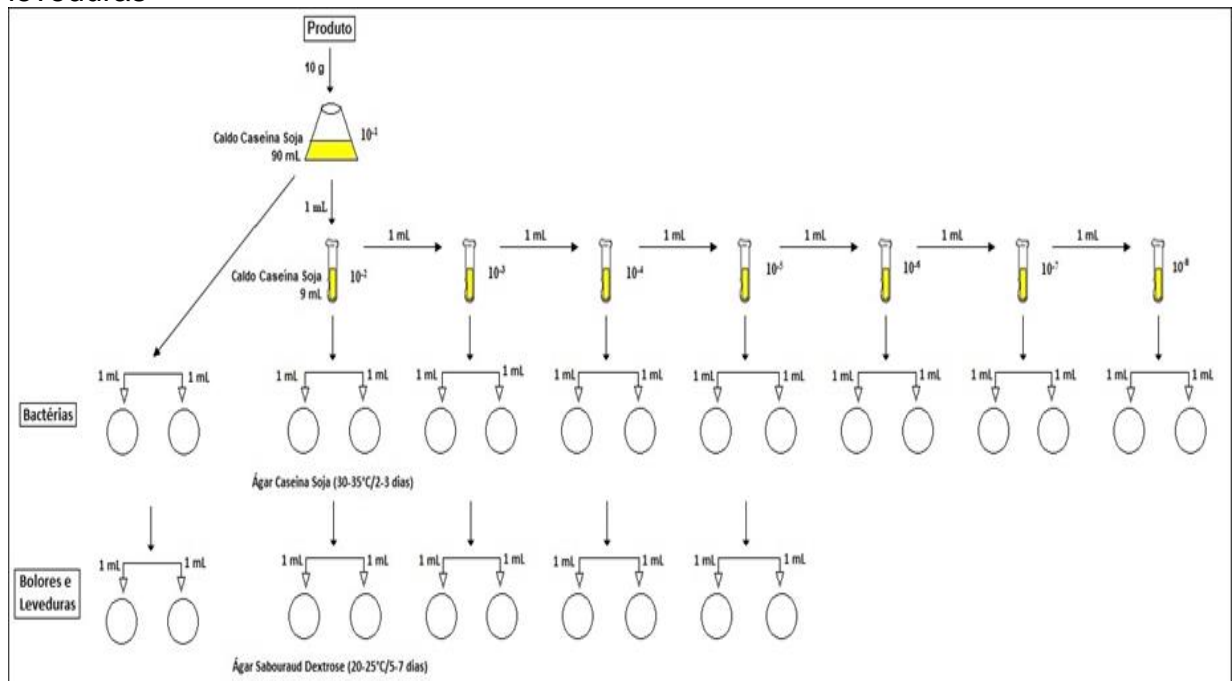
### **3.2 Contagem total de bactérias aeróbias, bolores e leveduras**

Para quantificar o total de bactérias presentes nas plantas medicinais foi necessário aliquotar aproximadamente 10 g da planta medicinal e inserir em 90 mL de caldo caseína soja (diluição 1:10). Diluições seriadas foram realizadas com caldo caseína soja de 9 mL até alcançar  $10^{-8}$ . Posteriormente, 1 mL de cada diluição foi inoculado em placas de Petri juntamente com 20 mL de ágar caseína soja, fundido e resfriado entre 40 – 50 °C em banho termostático, por semeadura em profundidade e

em duplicata, conforme a Figura 7. As placas permaneceram incubadas a  $(32,5 \pm 2,5$  °C) por 48 horas para posterior contagem (FARMACOPEIA..., 2019).

Para quantificar o total de bolores e leveduras foi transferida uma alíquota de 1 mL desde a diluição  $10^{-1}$  até  $10^{-5}$  e inoculada em placas de Petri juntamente com ágar sabouraud dextrose 4%, fundido e resfriado a 40 – 50 °C, por sementeira em profundidade e em duplicata, conforme representa a Figura 7. As placas permaneceram incubadas a  $(22,5 \pm 2,5$  °C) por até sete dias para posterior contagem (FARMACOPEIA..., 2019).

Figura 7 - Esquema para contagem de bactérias aeróbias, bolores e leveduras



Fonte: (Adaptado Ferreira, 2016).

### 3.3 Contagem de colônias

Com auxílio do contador de colônias, foram anotados os crescimentos observados nas placas de ágar caseína soja, com contagem de até 300 colônias bacterianas por placa, e ágar sabouraud dextrose 4%, contando até 100 colônias fúngicas por placa. O cálculo para determinar o resultado da contagem é realizado através da fórmula:

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

Sendo:

N = Número de Unidade Formadora de Colônia em 1 g ou mL (UFC/g ou mL)

$\sum Pi$  = Somatório do número de colônias contadas em cada placa

$\sum Vi$  = Somatório do volume da alíquota teste utilizada em cada placa

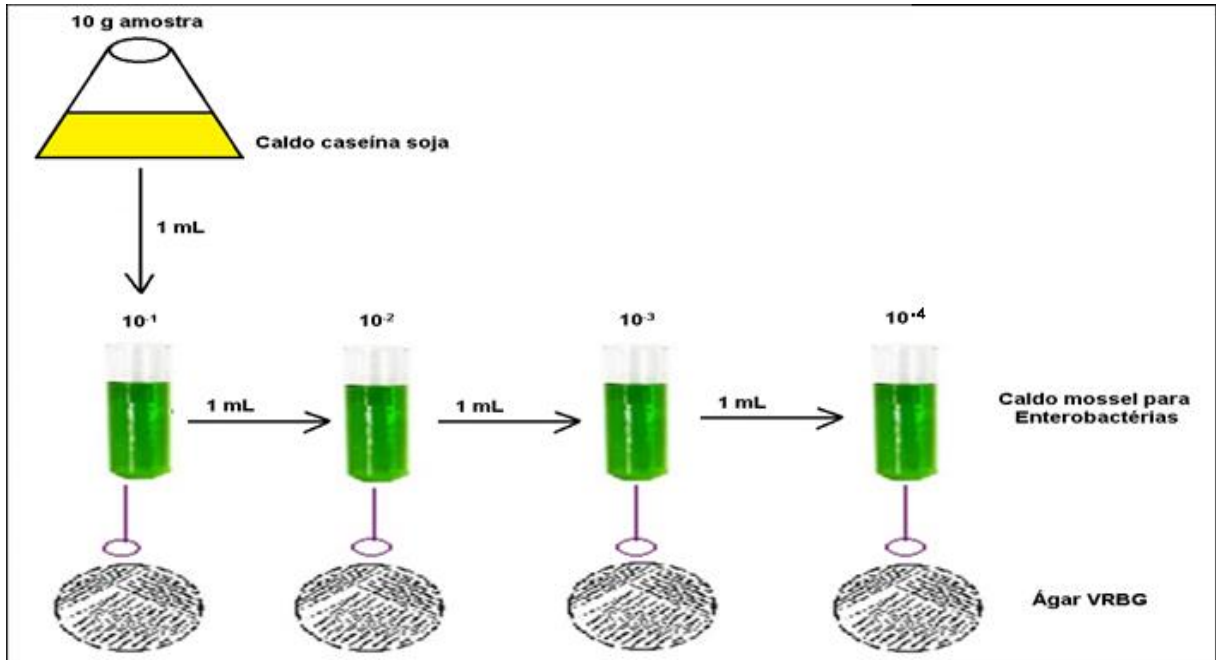
D = Fator de diluição utilizado

Quando não é observado crescimento em diluição alguma, a contagem é registrada como menor que a menor diluição testada. Se a menor diluição testada é  $10^{-1}$  é anotado que a contagem foi  $<10$  UFC/g ou mL.

### 3.4 Contagem de bactérias Gram-negativas bile tolerantes

Para quantificar o total de bactérias Gram-negativas bile tolerantes presentes nas amostras foi necessário alíquotar 1 mL da primeira diluição preparada na contagem total de bactérias aeróbias, bolores e leveduras (10 g de produto em 90 mL de caldo caseína soja) e adicionar a tubos contendo caldo mossel para enterobactérias para formar as diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ . Após a incubação dos tubos a  $(32,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C})$  por 24 horas foi realizado repique em ágar violeta vermelho bile glicosado por semeadura de superfície, e as placas voltaram para a estufa de  $(32,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C})$  por 24 horas para crescimento, de acordo com a Figura 8. Utiliza-se a tabela de Número Mais Provável presente na Farmacopeia Brasileira (2019) para esta quantificação (FARMACOPEIA..., 2019).

Figura 8 - Detecção de bactérias Gram-negativas bile tolerantes



Fonte: (Adaptado Ferreira, 2016).

### 3.5 Pesquisa de patógenos

Após a realização da primeira diluição (1:10) da amostra em caldo caseína soja, esta foi colocada em incubação a  $(32,5 \pm 2,5 \text{ } ^\circ\text{C})$  por 24 horas. Repiques se sucederam para a pesquisa de cada microrganismo presente no produto utilizando meios de cultura seletivos e provas bioquímicas.

#### 3.5.1 *Candida albicans*

Uma alçada foi transferida para placa contendo ágar sabouraud dextrose 4%, por semeadura de superfície, e posteriormente a placa foi incubada a  $(22,5 \pm 2,5 \text{ } ^\circ\text{C})$  por até sete dias. O aparecimento de colônias brancas sugere a presença de *C. albicans*. A confirmação se dá pelo repique das colônias suspeitas em CHROMagar e o aparecimento de colônias verdes (JORGENSEN; PFALLER, 2015).

#### 3.5.2 *Escherichia coli*

A alíquota de 1 mL foi adicionada em 100 mL de caldo MacConkey, seguida de incubação a  $(43 \pm 1,0 \text{ } ^\circ\text{C})$  por 24 horas. Após, um novo repique fez-se necessário



inoculando uma alçada em ágar MacConkey, por semeadura de superfície, com posterior incubação a  $(32,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C})$  por até 72 horas. O aparecimento de colônias vermelhas, normalmente não mucosas, sugere que o microrganismo seja *E. coli*. O próximo passo foi isolar a colônia e realizar a coloração de Gram que para esta espécie é caracterizada como bastonete Gram-negativo. As provas bioquímicas específicas são: citrato Simmons (-), eosina azul de metileno (colônias escuras com ou sem brilho metálico), indol (+), nitrato (+), vermelho de metila (+) e Voges-Proskauer (-) (JORGENSEN; PFALLER, 2015).

### 3.5.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Transferiu-se uma alçada para placa contendo ágar cetrimide, por semeadura de superfície, com posterior incubação a  $(32,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C})$  por 24 horas. O crescimento de colônias verdes sugere a presença de *P. aeruginosa* que devem ser isoladas para realização da coloração de Gram. Este microrganismo se apresenta como bastonete Gram-negativo e as provas bioquímicas específicas são: citocromo oxidase (+), extração de piocianina (+) e crescimento a  $(42 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C})$  (+) (JORGENSEN; PFALLER, 2015).

### 3.5.4 *Staphylococcus aureus*

Transferiu-se uma alçada para placa contendo ágar sal manitol, por semeadura de superfície, com posterior incubação a  $(32,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C})$  por 24 horas. O crescimento de colônias amarelas ou brancas com bordas amarelas sugere a presença de *S. aureus*. Essas colônias foram isoladas para realização da coloração de Gram que para este microrganismo se apresenta como coco Gram-positivo e as provas bioquímicas específicas são: desoxirribonuclease (+), coagulase (+), catalase (+), fermentação da glicose (+) (JORGENSEN; PFALLER, 2015).

### 3.5.5 *Salmonella*

A alíquota de 1 mL foi adicionada a 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis, seguida de incubação a  $(32,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C})$  por 24 horas. Após, um novo repique fez-se necessário inoculando uma alçada em ágar xilose lisina desoxicolato, por

semeadura de superfície, com posterior incubação a  $(32,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C})$  por até 72 horas. O aparecimento de colônias vermelhas, contendo ou não centro preto, sugere que o microrganismo seja *Salmonella*. O próximo passo foi isolar a colônia e realizar a coloração de Gram que para esta espécie se caracteriza como bastonete Gram-negativo. As provas bioquímicas específicas são: agar tríplice açúcar ferro (+, com ou sem produção de gás), agar ureia (-), descarboxilação de arginina (+), lisina (+) e ornitina (+). Além disso, para determinação da espécie e sorogrupos de *Salmonella* é importante a realização de sorologia (JORGENSEN; PFALLER, 2015).

### 3.5.6 Identificação de outros microrganismos

Uma alçada foi transferida para placa contendo ágar caseína soja, por semeadura de superfície e incubada por  $(32,5 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C})$  por 24 horas. As colônias observadas foram isoladas e realizou-se a coloração de Gram. A partir da determinação morfológica do microrganismo foram realizados testes de triagem e com provas bioquímicas complementares para a identificação do gênero e a espécie segundo Jorgensen e Pfaller (2015).

### 3.7 Controles positivo, negativo e branco

Controles positivos e negativos são realizados utilizando cepas de referência, sendo o controle positivo um microrganismo que obrigatoriamente cresce no meio de cultura e o controle negativo um microrganismo que obrigatoriamente não cresce no meio de cultura. Estes controles asseguram a fertilidade do meio de cultura e auxiliam na interpretação dos resultados durante as análises.

Durante todos os processos, placas e tubos contendo apenas o meio de cultura sem amostra foram incubados juntamente com os analisados, estes são chamados de branco e asseguram a esterilidade do meio de cultura.

### 3.8 Análise de rotulagem

Os itens mínimos exigidos pela RDC nº 18/2013 sobre rotulagem do produto final de plantas medicinais e fitoterápicos foram observados nas embalagens das amostras analisadas para verificação de adequação segundo a legislação.

Os requisitos foram: nomenclatura botânica, componentes da formulação, registro no livro, nome do prescritor, nome do paciente, data de fabricação, data de validade, lote, quantidade ou volume, posologia, identificação do estabelecimento, responsável técnico e registro no conselho, Cadastro Nacional de Pessoa Jurídica (CNPJ) e endereço do estabelecimento.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira análise realizada nos produtos foi a verificação da capacidade inibitória que demonstrou o crescimento dos microrganismos testados em exposição às cinco espécies de plantas medicinais. A recuperação de microrganismos nas placas com presença das plantas comprovou a ausência de inibição, ou seja, não existiram componentes presentes nas drogas vegetais analisadas que impedissem o crescimento dos microrganismos e a metodologia não precisou ser alterada. Caso fosse verificada atividade inibitória, com recuperação insatisfatória de microrganismos, técnicas auxiliares deveriam ser empregadas para eliminá-la. Tais como:

- a. Método de diluição: aumenta-se o volume do diluente ou meio de cultura enquanto a quantidade do produto é mantida.
- b. Método de inativação: consiste em adicionar ao meio de cultura substâncias capazes de inativar os inibidores, como: adicionar 1% de penicilinase ao caldo caseína soja para amostras que contenham penicilinas; ou acrescentar 0,4% de polissorbato 80 e 0,5% de lecitina de soja no caldo caseína soja para amostras com outras substâncias; ou fazer uso de inativadores de acordo com o produto, por exemplo: Caldo neutralizante DEY-ENGLEY ou Neutralizante Universal.
- c. Associação dos métodos da diluição e inativação: visa aumentar o volume do diluente e adicionar ao mesmo a substância inativadora.
- d. Método de filtração por membrana: promovem-se consecutivas lavagens buscando eliminar as substâncias inibitórias presentes na amostra.

Se nenhum dos métodos fosse capaz de promover o crescimento dos microrganismos de referência seria conferida atividade antimicrobiana ao produto em relação aos microrganismos verificados.

Dentre as plantas analisadas, *M. glomerata*, *C. longa* e *C. citratus*, possuem ação antimicrobiana segundo o uso tradicional e poderiam causar interferência no crescimento de bactérias durante a verificação da capacidade inibitória. No entanto isto não ocorreu, assim como no estudo de Silva e Teixeira (2019) que analisaram a capacidade antimicrobiana da tintura hidroalcoólica e do chá feito por infusão de

folhas de Guaco e não observaram halo de inibição frente a bactérias como *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Outro estudo analisou o extrato aquoso de *C. citratus* frente às bactérias *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli* e também não apresentou atividade antimicrobiana (FURTADO et al., 2015).

Sales e colaboradores (2020) evidenciaram atividade antimicrobiana do óleo essencial de *C. longa* frente a *S. aureus* e *P. aeruginosa*. A atividade antimicrobiana destas espécies pode estar ligada à concentração de metabólitos necessários para inibir os microrganismos (óleo essencial é mais concentrado que o extrato, tintura e infuso), a sensibilidade das bactérias, assim como pela produção dos metabólitos antimicrobianos que variam de acordo com o local de cultivo.

Abaixo, na Tabela 3, estão descritos todos os resultados obtidos na contagem total de bactérias, bolores e leveduras, contagem de bactérias Gram-negativas bile tolerantes e pesquisas de microrganismos das plantas medicinais analisadas. As amostras que ultrapassaram os limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (2019) foram destacadas na tabela através do sombreamento da linha, assim como o parâmetro responsável pela insatisfatoriedade que se encontra em negrito.

Tabela 3 - Resultados das análises realizadas nas amostras das plantas medicinais (continua)

Amostra	Ano	Contagem total de bactérias aeróbias (UFC/g)	Contagem total de bolores e leveduras (UFC/g)	Contagem de bactérias Gram-negativas bile tolerantes (UFC/g)	Pesquisa de <i>Escherichia coli</i>	Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp.	Outros Microrganismos identificados
CL1	2017	1,8 x 10 <sup>5</sup>	1,0 x 10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	<b>Presença</b>	Ausência	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Brevibacillus brevis</i> , <i>Candida albicans</i>
CL2	2017	1,5 x 10 <sup>3</sup>	7,0 x 10 <sup>3</sup>	>10 <sup>4</sup>	<b>Presença</b>	Ausência	
CL3	2017	1,8 x 10 <sup>7</sup>	<b>1,0 x 10<sup>5</sup></b>	>10 <sup>4</sup>	<b>Presença</b>	Ausência	<i>Candida albicans</i>
VC1	2018	<10	<b>1,5 x 10<sup>6</sup></b>	<10	Ausência	Ausência	<i>Aspergillus parasiticus</i>
VC2	2018	<10	<b>1,0 x 10<sup>5</sup></b>	<10	Ausência	Ausência	<i>Aspergillus parasiticus</i>
CC1	2018	1,9 x 10 <sup>5</sup>	<10	<10	Ausência	Ausência	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Brevibacillus brevis</i> , <i>Bacillus circulans</i>
CC2	2018	1,0 x 10 <sup>4</sup>	<10	>10 <sup>4</sup>	<b>Presença</b>	Ausência	<i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Cronobacter sakazakii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>
CC3	2018	1,0 x 10 <sup>4</sup>	<10	>10 <sup>4</sup>	<b>Presença</b>	Ausência	<i>Cronobacter sakazakii</i> , <i>Citrobacter freundii</i>
MG1	2018	<b>1,5 x 10<sup>8</sup></b>	<10	>10 <sup>4</sup>	<b>Presença</b>	Ausência	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Pantoe agglomerans</i>
MG2	2018	<10	<10	<10	Ausência	Ausência	
CC4	2019	1,5 x 10 <sup>5</sup>	<10	<10 <sup>3</sup> e >10 <sup>2</sup>	Ausência	Ausência	<i>Pantoe agglomerans</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>

Tabela 3 - Resultados das análises realizadas nas amostras das plantas medicinais (continuação)

Amostra	Ano	Contagem total de bactérias aeróbias (UFC/g)	Contagem total de bolores e leveduras (UFC/g)	Contagem de bactérias Gram-negativas bile tolerantes (UFC/g)	Pesquisa de <i>Escherichia coli</i>	Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp.	Outros Microrganismos identificados
CC5	2019	$1,0 \times 10^7$	<10	$>10^4$	<b>Presença</b>	Ausência	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>
CC6	2019	$1,2 \times 10^6$	<10	$>10^4$	<b>Ausência</b>	Ausência	<i>Bacillus circulans</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Serratia entomophila</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>
CC7	2019	$1,0 \times 10^8$	<10	$>10^4$	<b>Ausência</b>	Ausência	<i>Bacillus circulans</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter gergoviae</i> , <i>Serratia entomophila</i>
CC8	2019	$1,2 \times 10^5$	<10	< $10^2$ e $>10$	Ausência	Ausência	<i>Morganella morganii</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus acidocaldarius</i>
CC9	2019	$2,5 \times 10^5$	$1,0 \times 10^3$	< $10^3$ e $>10^2$	Ausência	Ausência	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Cronobacter sakazakii</i> , <i>Bacillus acidocaldarius</i> , <i>Bacillus circulans</i> , <i>Enterobacter gergoviae</i>

Tabela 3 - Resultados das análises realizadas nas amostras das plantas medicinais (conclusão)

Amostra	Ano	Contagem total de bactérias aeróbias (UFC/g)	Contagem total de bolores e leveduras (UFC/g)	Contagem de bactérias Gram-negativas bile tolerantes (UFC/g)	Pesquisa de <i>Escherichia coli</i>	Pesquisa de <i>Salmonella sp.</i>	Outros Microrganismos identificados
CC10	2019	1,6 x 10 <sup>3</sup>	9,5 x 10 <sup>2</sup>	<10 <sup>2</sup> e >10	Ausência	Ausência	<i>Bacillus circulans</i> , <i>Bacillus megaterium</i>
CC11	2019	1,0 x 10 <sup>6</sup>	1,2 x 10 <sup>3</sup>	>10 <sup>4</sup>	<b>Presença</b>	Ausência	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia hermannii</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
VC3	2019	1,2 x 10 <sup>5</sup>	9,1 x 10 <sup>3</sup>	<10 <sup>3</sup> e >10 <sup>2</sup>	Ausência	Ausência	
BC1	2019	<10	1,0 x 10 <sup>3</sup>	<10	Ausência	Ausência	<i>Aspergillus parasiticus</i>
BC2	2019	1,7 x 10 <sup>5</sup>	<10	<10 <sup>3</sup> e >10 <sup>2</sup>	Ausência	Ausência	<i>Enterobacter cloacae</i>
BC3	2019	1,0 x 10 <sup>5</sup>	<10	<10 <sup>3</sup> e >10 <sup>2</sup>	Ausência	Ausência	<i>Bacillus circulans</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Pantoe agglomerans</i>
BC4	2019	3,0 x 10 <sup>6</sup>	1,5 x 10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	<b>Presença</b>	Ausência	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Cronobacter sakazakii</i>
BC5	2019	<10	<10	<10	Ausência	Ausência	

Nota: Cada amostra recebeu a identificação composta pelas iniciais da espécie com a ordem de chegada ao laboratório. Sendo: CL= *Curcuma longa*; VC= *Vernonia condosata*; CC= *Cymbopogon citratus*; MG= *Mikania glomerata*; BC= *Baccharis crispa*.

Fonte: (Do autor, 2021).

Segundo a legislação brasileira, as drogas vegetais de uso oral que sofrem processo extrativo a quente, devem apresentar no máximo: 2,0 x 10<sup>7</sup> UFC/g de contagem total de bactérias aeróbias, 2,0 x 10<sup>4</sup> UFC/g de contagem de bolores e leveduras, 10<sup>3</sup> UFC/g de contagem de Gram-negativas bile tolerantes, ausência de *Salmonella sp.* em 10 g e ausência de *E. coli* em 1 g.



Dentre o total de 24 amostras analisadas, apenas 11 (45,8%) obedeceram aos requisitos mínimos de controle microbiológico exigidos pela legislação, enquanto a maioria (54,2%) mostrou-se insatisfatória. Dentro das amostras satisfatórias, observou-se que apenas duas não apresentaram crescimento microbiano, outras obtiveram contagem total de bactérias aeróbias de até  $1,7 \times 10^5$  UFC/g, contagem total de bolores e leveduras de até  $9,1 \times 10^3$  UFC/g e contagem de Gram-negativas bile tolerantes entre  $10^2$  e  $10^3$  UFC/g.

Outros estudos também revelaram a qualidade microbiológica de drogas vegetais e plantas medicinais e obtiveram resultados semelhantes, com contagem de bactérias de até  $1,44 \times 10^5$  UFC/g e  $6,74 \times 10^3$  UFC/g de contagem de fungos (VERDI; YOUNES; BERTOL, 2013);  $1,8 \times 10^4$  UFC/g de bactérias e  $5,5 \times 10^2$  UFC/g de fungos (GINDRI; LAPORTA; SANTOS, 2012).

A legislação brasileira determina que devido ao fato de drogas vegetais passarem por processo extrativo a quente para serem utilizadas na forma de chá, o limite máximo de microrganismos pode ser maior que para outras classes de produtos. Caso as análises fossem realizadas após o preparo do chá os resultados poderiam se mostrar diferentes, já que a água fervente tem a capacidade de eliminar microrganismos. Entretanto, para que isso ocorra, o modo de preparo deve ser respeitado, principalmente quanto a temperatura e tempo de contato, o que nem sempre acontece. Maximino e colaboradores (2011) demonstraram que métodos caseiros para preparo de chás reduzem a população fúngica, porém dependem da concentração de contaminantes inicial das plantas, e não podem ser garantia de consumo seguro.

Os motivos pelos quais as plantas analisadas nesse estudo foram consideradas fora dos limites preconizados pela Farmacopeia foram descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Principais causas para determinação de amostras insatisfatórias

Motivos	Plantas medicinais fora do limite preconizado pela FB 6ª edição
Contagem de Gram-negativas bile tolerantes + <i>Escherichia coli</i>	53,8%
Contagem de bolores e leveduras	15,4%
Contagem de bactérias aeróbias + contagem de Gram-negativas bile tolerantes + <i>Escherichia coli</i>	7,7%
Contagem de bolores e leveduras + contagem de Gram-negativas bile tolerantes + <i>Escherichia coli</i>	7,7%
Contagem de bactérias aeróbias + contagem de Gram-negativas bile tolerantes	7,7%
Contagem de Gram-negativas bile tolerantes	7,7%

Fonte: (Do autor, 2021).

Dentre as causas que levaram a inadequação das plantas medicinais a que mais prevaleceu foi a elevada contagem de bactérias Gram-negativas bile tolerantes e a presença de *E. coli*. *Escherichia coli* faz parte do grupo de Gram-negativas bile tolerantes, visto isso, em todas as vezes que sua ocorrência foi detectada, houve alta contagem de bile tolerantes.

Também chamada de enterobactéria, *E. coli* é um marcador de contaminação fecal, já que é encontrada na microbiota de seres humanos e animais. As linhagens que são patogênicas podem causar infecções nos trato gastrointestinal, urinário e respiratório (JORGENSEN; PFALLER, 2015). Dentre todas as plantas medicinais deste estudo, em 37,5% foi detectada a presença desta bactéria, podendo ser oriundas de solo e água contaminados por fezes de animais e/ou utilização de adubo orgânico mal preparado. A presença de enterobactérias contaminando plantas medicinais é recorrente como a revisão de Hellmann e Velasquez (2017) informou. Um estudo realizado no Paraná demonstrou contaminação de 95,83% das plantas medicinais por enterobactérias, sendo 22,22% associada a bactéria *E. coli* (ZARONI et al., 2004).

Não foram detectadas as presenças de *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp. e *S. aureus*. Garbin, Tiunan e Krugüer (2013) em seu estudo sobre análise microbiológica de plantas medicinais distribuídas em postos de saúde no Paraná também não detectaram contaminação por *Salmonella*. Outro estudo realizado no

Paraná, analisou 27 lotes de drogas vegetais e em 100% não houve detecção de *Salmonella* sp. e *P. aeruginosa* (SCHÜTZ; VELAZQUEZ; ABEGG, 2008). *Staphylococcus aureus* não foi encontrado no estudo de Zaroni e colaboradores (2004) que dissertaram sobre o fato das plantas não representarem condições favoráveis para a proliferação deste microrganismo.

As espécies de fungos contaminantes neste trabalho foram *C. albicans* e *A. parasiticus*. O fungo filamentoso *A. parasiticus* está disperso no ar e no solo, sendo uma espécie comumente encontrada em estudos semelhantes a este (GOMES; NEGRELLI; ELPO, 2008; SANTOS et al., 2013). O gênero *Aspergillus* é toxicogênico, ou seja, produz metabólitos tóxicos como as micotoxinas que podem causar problemas respiratórios. A contaminação de produtos de origem vegetal por *C. albicans* pode causar perda de eficácia do tratamento e sintomas como diarreia e febre em pacientes imunocomprometidos (CARMO, 2019). Teores altos de umidade favorecem a proliferação de fungos, por isso a importância da secagem bem feita e o armazenamento dos produtos em local seco e arejado.

Outros microrganismos, que não são preconizados na legislação, foram identificados. Algo recorrente é a amostra ser declarada insatisfatória devido a contagem total de microrganismos, porém com a ausência dos patógenos comumente pesquisados (*C. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosas*, *S. aureus*, *Salmonella*), o que pode causar estranheza ao produtor que não é especialista no assunto e conhece apenas o que está descrito na legislação. A identificação por gênero e espécie visa dar uma informação mais completa ao produtor que pode tomar medidas preventivas mesmo quando a amostra se encontra dentro dos limites estabelecidos. Dentre eles, destacam-se os gêneros *Bacillus* sp. com *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus megaterium* e *Bacillus acidocaldarius*; e *Enterobacter* sp. com *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* e *Enterobacter gergoviae* que foram encontrados em quase todas as amostras. Outros bastonetes Gram-negativos que juntamente com as espécies de *Enterobacter* sp. contribuíram para as contagens de Gram-negativas bile tolerantes foram: *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Cronobacter sakazakii*, *Pantoea agglomerans*, *Serratia entomophila*, *Morganella morganii* e *Escherichia hermannii*.

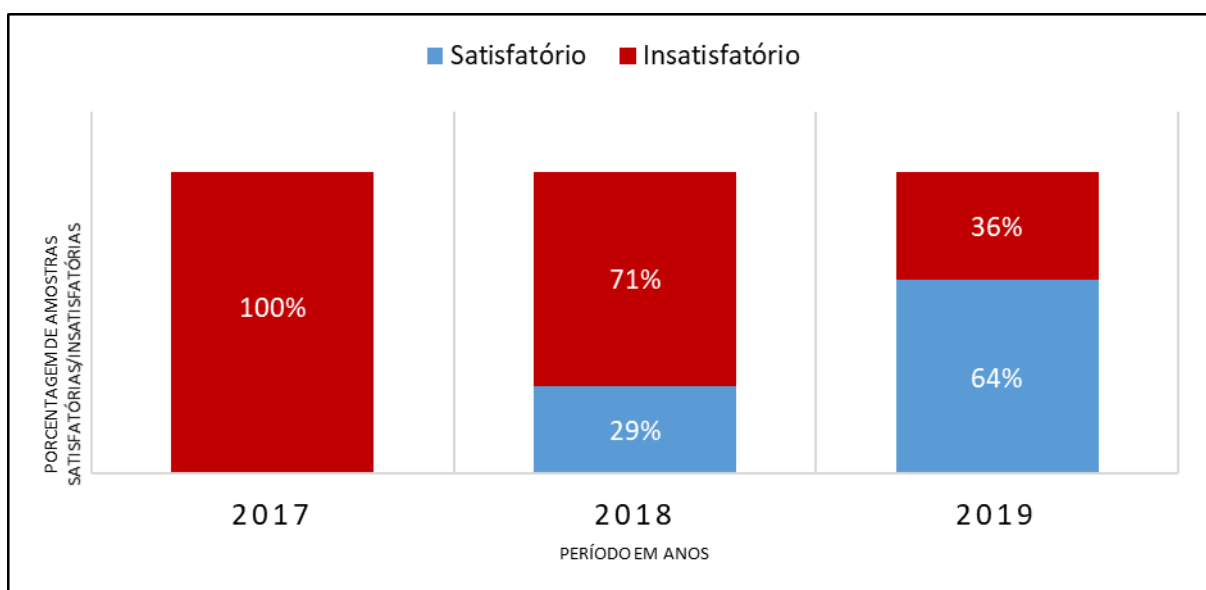
De acordo com Araújo e Ohara (2000) os gêneros *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., e *Citrobacter* sp. fazem parte do ambiente das plantas, portanto são comumente encontrados neste tipo de matéria prima, não sendo afirmadamente de origem fecal.

Em estudo que analisou 72 amostras de plantas medicinais foram identificados 95,83% de enterobactérias dentre elas *E. coli*, *E. agglomerans* (atualmente *P. agglomerans*), *E. cloacae*, *E. aerogenes* e *E. gergoviae* (ZARONI *et al.*, 2004).

*Bacillus* sp. são bastonetes Gram-positivos que através da formação de esporos conseguem resistir a condições adversas como calor e umidade baixa. São naturalmente encontrados no solo, porém espécies como *B. subtilis* e *B. cereus* são patógenos oportunistas que podem causar doenças em indivíduos imunocomprometidos (JORGENSEN; PFALLER, 2015). Carmo (2019) identificou espécies como *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. acidocaldarius*, *E. cloacae* e *E. gergoviae* contaminando uma espécie de planta medicinal em seu estudo.

É possível notar que o número de amostras insatisfatórias foi reduzindo com passar dos anos (Figura 9), o que demonstra que possivelmente foram tomadas medidas para melhorar o processo produtivo e assim, diminuir as contaminações dos produtos com microrganismos. É importante ressaltar que o destinatário final destes produtos são os pacientes dos postos de saúde do SUS, ou seja, pessoas que podem apresentar um quadro de saúde mais debilitado (idosos, imunodeprimidos, entre outros agravantes), e necessitam fazer a utilização de produtos de qualidade que impactem positivamente em sua saúde.

Figura 9 - Porcentagem dos resultados microbiológicos das plantas medicinais por ano

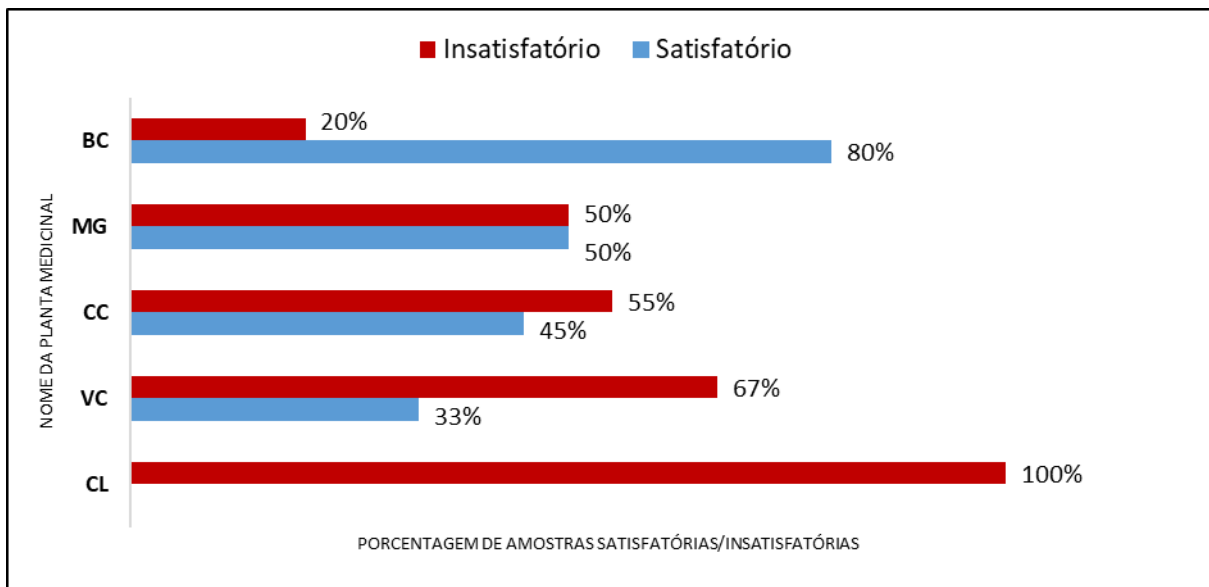


Fonte: (Do autor, 2021).

A Figura 10 ilustra os resultados das análises microbiológicas das plantas medicinais por espécie de planta medicinal. Segundo estes dados, sugere-se que as espécies *C. longa* e *V. condensata* sejam mais susceptíveis à contaminação microbiana enquanto *B. crispa* é mais resistente. *Mikania glomerata* e *C. citratus* apresentaram porcentagens próximas de satisfatório e insatisfatório. Entretanto, para afirmar isto é necessário um estudo mais aprofundado com maior número de amostras por espécie.

Na literatura não existem muitos estudos sobre controle microbiológico das espécies de plantas medicinais estudadas, principalmente na forma de droga vegetal, normalmente são avaliados extratos e óleos essenciais. No caso da alumã (*V. condensata*) não foi encontrado estudo semelhante nas bases de dados. A carqueja é mais representada pela espécie *B. trimera*. Cossatis (2015) analisou as drogas vegetais secas e embaladas desta espécie do gênero *Baccharis* sp. e de acordo com o estabelecido pela legislação para produtos de origem vegetal extraídos a quente apresentaram resultado de 40% de amostras insatisfatórias e 60% de amostras satisfatórias.

Figura 10 - Porcentagem dos resultados microbiológicos para as espécies analisadas



Nota: CL= *Curcuma longa*; VC= *Vernonia condosata*; CC= *Cymbopogon citratus*; MG= *Mikania glomerata*; BC= *Baccharis crispa*.

Fonte: (Do autor, 2021).

No estudo de Barbosa e colaboradores (2010) foi observado que dentre as amostras de *C. citratus* analisadas, três mostraram-se insatisfatórias e uma

satisfatória. Outras espécies de plantas medicinais também foram avaliadas e do total de 34 produtos, 67,6% extrapolaram os limites microbianos estabelecidos na Farmacopeia Brasileira. Em estudo que avaliou as folhas do gênero *Mikania* sp. foi encontrada contaminação bacteriana de  $8,75 \times 10^3$  UFC/g e fúngica de  $2,08 \times 10^4$  UFC/g (PEREIRA et al., 2014) enquanto em outro estudo as folhas de *M. glomerata* foram consideradas microbiologicamente satisfatórias (BARBOSA et al., 2010).

Ferreira (2016) avaliou a qualidade microbiológica de amostras de *C. longa* produzidas por agricultores do Rio de Janeiro da matéria-prima ao produto final. Levando em conta as análises do produto final, que é a embalagem contendo o rizoma seco e triturado na forma de pó de *C. longa*, dois dos agricultores tiveram seus produtos declarados impróprios para uso quando o estudo se iniciou em 2012, porém em 2015 após a melhoria do processo produtivo, novas análises foram realizadas e o pó de *C. longa* encontrou-se dentro dos parâmetros estabelecidos na legislação. Este estudo sugeriu que a qualidade microbiológica da planta medicinal não é determinada pela espécie e sim devido ao controle de qualidade envolvido na produção dos produtos.

Para a redução da carga microbiana de plantas, algumas medidas preventivas podem ser tomadas e assim melhorar a qualidade do produto final. Dentre elas: correta higienização das mãos dos manipuladores, manter superfícies e recipientes que entrarão em contato com a matéria-prima limpos, utilizar técnicas para reduzir sujidades das plantas após a colheita. Durante o processo de secagem é necessário que o local esteja higienizado, ventilado, protegido contra a luz e de ataques de insetos. O acondicionamento do produto deve ser realizado com embalagens limpas e não deve ser esmagado. Para melhor armazenamento das embalagens, estas devem ser colocados sobre *pallets* para não ocorrer o contato com o chão (evita umidade e contato com animais) e o local deve ser estruturado para abrigar os produtos da incidência solar, impedir a presença de insetos e animais, além de ser seco e arejado (ZARONI et al., 2004). Além disso, o produtor deve estar atento a novas técnicas de produção e proporcionar cursos de atualização constantemente para seus colaboradores.

A análise de rotulagem demonstrou a falta de informações obrigatórias em 100% das embalagens (Tabela 5). As embalagens das cinco espécies seguiram o mesmo padrão, se diferenciando apenas com frases de aviso que não são um item obrigatório.

Tabela 5 - Informações obrigatórias em rótulos de plantas medicinais de acordo com a RDC nº 18/2013

<b>Informações obrigatórias</b>	<b>Presente</b>	<b>Ausente</b>
<b>Nomenclatura botânica</b>	x	
<b>Componentes da formulação</b>	x	
<b>Registro no livro</b>		x
<b>Nome do prescritor</b>		x
<b>Nome do paciente</b>		x
<b>Data de fabricação</b>	x	
<b>Data de validade</b>	x	
<b>Lote</b>	x	
<b>Quantidade ou volume</b>	x	
<b>Posologia</b>	x	
<b>Identificação do estabelecimento</b>	x	
<b>Responsável técnico e registro no conselho</b>	x	
<b>CNPJ</b>		x
<b>Endereço do estabelecimento</b>	x	

Fonte: (Do autor, 2021).

Algumas das inadequações encontradas podem ter sido causadas pelo fato de as amostras terem sido enviadas para análise de qualidade microbiológica, portanto faltando informações como nome do paciente, nome do prescritor e número do registro no livro (livro pertencente a farmácia que registra dados do paciente, do prescritor e da formulação, com a data de dispensação) que podem ser adicionadas separadamente no momento de entrega do produto ao paciente no posto de saúde. Outra informação importante que é o número do CNPJ não estava presente em nenhuma das embalagens. Outros estudos revelam irregularidades nos rótulos de drogas vegetais, plantas medicinais e fitoterápicos revelando a necessidade de fiscalização por parte dos órgãos competentes (GARBIN; TIUMAN; KRÜGER, 2013; NETO et al., 2020).

A RDC nº 18/2013 sugere que informações sobre conservação, utilização e preparo sejam descritas no rótulo quando necessário, para auxiliar no correto uso do produto. Foram observadas as frases “uso interno”, “manter em local seco e fechado”, “usar a critério médico” e “não guardar para o dia seguinte”. Além disso, consta no rótulo o modo de preparo dos chás com a quantidade de produto e água que deverão ser utilizados na preparação com o tempo necessário de repouso para o produto ser consumido, quantidade de doses recomendadas por dia e a conservação, dados que são importantes para a utilização racional do produto. Alertas também foram observados como “contraindicado para mulheres grávidas e

que amamentam” e “evitar o uso junto com medicamentos para hipertensão e diabetes”.



## 5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo foi possível observar que a maior parte das plantas medicinais analisadas se mostrou insatisfatória, com altas contagens de bactérias aeróbias, bolores e leveduras, Gram-negativas bile tolerantes e presença dos patógenos *E. coli* e *C. albicans*. No total foram identificados 19 microrganismos, sendo 17 bactérias e dois fungos. O microrganismo que causou a maior quantidade de inadequações foi a bactéria *E. coli* que contaminou 37,5% das amostras.

Ao longo dos anos o APL apresentou perceptível melhora em relação a qualidade microbiológica de suas plantas medicinais, porém é necessário que mais medidas sejam providenciadas para produzir produtos eficazes, seguros e de qualidade.

Dentre as cinco plantas medicinais estudadas foi detectado que a espécie não é determinante para maior ou menor contaminação microbiana. O que é decisivo é o cumprimento das BPF desde a plantação, colheita, secagem, embalagem, até o produto final.

Os limites microbianos estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (2019) para drogas vegetais de maneira geral são mais permissivos que para outros produtos não estéreis devido à contaminação natural da matéria-prima vegetal. Produtos que passam por processo de extração a quente possuem as concentrações microbiológicas mais amplas, entretanto, faz-se necessário que sejam estabelecidos limites mais rígidos para estes produtos para assegurar a eficácia do tratamento e a segurança do paciente.

A análise de rotulagem demonstrou a inadequação dos rótulos utilizados devido a falta de componentes obrigatórios exigidos pela legislação, entretanto, os dados imprescindíveis para a correta utilização dos produtos (identificação da planta, modo de preparo, contraindicações) estavam presentes. A fiscalização de todo produto, principalmente os produtos para saúde, deve ser rigorosa e diante do exposto neste estudo, os órgãos de vigilância sanitária devem promover ações de monitoramento, fiscalização e educação para que as plantas medicinais produzidas no Brasil sejam de qualidade.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, A. L. A.; OHARA, M. T. Qualidade microbiológica de drogas vegetais comercializadas em feiras de São Paulo e de infusos derivados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 129-137, 2000.
- BARBOSA, C.K.R. *et al.* Qualidade microbiológica de plantas medicinais cultivadas e comercializadas em Montes Claros, MG. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 23, n. 1, mar. 2010.
- BERTOLDI, F.C. *et al.* Validação de um método analítico rápido por CLAE-UV para determinação de cumarina em guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) confirmado com espectrometria de massas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.18, n.1, supl.1, p. 316-325, 2016.
- BRASIL. **Informe Técnico nº 007/2016 – versão 01**. Esclarecimentos sobre a regulamentação de industrialização, manipulação, comercialização e registros de insumos, de medicamentos fitoterápicos e de produtos tradicionais fitoterápicos. Rio Grande do Sul, 2016. Disponível em: <https://www.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201612/27090223-informe-t-icnico-007-2016-vers-co-001.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 971, de 03 de maio de 2006**. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2006a. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971\\_03\\_05\\_2006.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971_03_05_2006.html). Acesso em: 01/12/2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**. 1.ed. Brasília: MS, 2006b. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica\\_nacional\\_fitoterapicos.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf). Acesso em: 01 dez. 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Edital, n.º 01 de 26 de abril de 2012. Seleção de propostas de Arranjos Produtivos Locais no âmbito do SUS, conforme a Política e o Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**. Brasília: MS, 2012. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/abril/01/Edital-SCTIE-2012.pdf>. Acesso em: 02 dez. 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 18, de 03 de abril de 2013. **Dispõe sobre as boas práticas de processamento e armazenamento de plantas medicinais, preparação e dispensação de produtos magistrais e officinais de plantas medicinais e fitoterápicos em farmácias vivas no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS)**. Brasília: ANVISA, 2013. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0018\\_03\\_04\\_2013.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0018_03_04_2013.pdf). Acesso em: 05 jan. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 26, de 13 de maio de 2014**. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Brasília: ANVISA, 2014. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026\\_13\\_05\\_2014.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf). Acesso em: 10 dez. 2020.

BRITO, A.M.G. **Avaliação da atividade antileishmanial dos óleos essenciais das plantas *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., *Eucalyptus citriodora* Hook., *Mentha arvensis* L., e *Mentha piperita* L.** 2007. 75 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) - Universidade Tiradentes, Aracajú, 2007.

BUDEL, J.M. *et al.* O progresso da pesquisa sobre o gênero *Baccharis*, Asteraceae: I - Estudos botânicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 15, n. 3, p. 268-271, setembro, 2005.

CARMO, J. S. **Avaliação da qualidade microbiológica das flores e dos extratos medicinais de *Cannabis sativa***. 2019. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019.

CARVALHO, A.C.B. *et al.* Regulação Brasileira em Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 1, p. 5-16, jan./mar. 2012.

CARVALHO, C. R. S. de. **Potencial antioxidante e teor de compostos fenólicos dos chás de hortelã (*Mentha spicata*), camomila (*Matricaria chamomilla*) e capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*)**. 2019. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2019.

COSSATIS, N. A. **Qualidade microbiológica e vigilância sanitária de plantas medicinais brasileiras**. 2015, 84 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2015.

COSTA, J.C.; MARINHO, M.G.V. Etnobotânica de plantas medicinais em duas comunidades do município de Picuí, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 18, n. 1, p. 125-134, mar. 2016.

FARMACOPEIA brasileira. 6. ed. Brasília: ANVISA, 2019. v. 1. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/arquivos/7985json-file-1>. Acesso em: 15 dez. 2020.

FERREIRA, J. A. B. **Determinação da qualidade microbiológica de *Schinus terebinthifolius* e *Curcuma longa*, da matéria prima até o produto final**. 2016. 135 f. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

FURTADO, J.M. *et al.* Atividade Antimicrobiana do Extrato Aquoso de *Eucalyptus globulus*, *Justicia pectoralis* e *Cymbopogon citratus* Frente a Bactérias de Interesse. **UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 17, n. 4, p. 233-237, 2015.

GARBIN, L.; TIUMAN, T. S.; KRÜGER, R. L. Avaliação da Qualidade de Plantas Medicinais Distribuídas por uma Unidade de Saúde de um Município do Interior do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, Guarapuava, v.15, n. 1, jan./jun. 2013.

GASPARETTO, J.C. *et al.* *Mikania glomerata* Spreng. e *M. laevigata* Sch. Bip. ex Baker, Asteraceae: estudos agronômicos, genéticos, morfoanatômicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos e uso nos programas de fitoterapia do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 20, n. 4, p. 627-640, setembro, 2010.

GINDRI, A.L.; LAPORTA, L.V.; SANTOS, M.R. Controle microbiológico de drogas vegetais comercializadas na região central do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 563-570, 2012.

GOMES, E. C. *et al.* Determinação da qualidade microbiológica e físico-química de chás química de chás química de chás química de chás de *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf (capim-limão). **Acta Scientiarum. Health Sciences**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 47-54, 2008.

GOMES, E.C.; NEGRELLE, R.R.B. Análise da cadeia produtiva do capim limão: estudo de caso. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 17, n. 2, p. 201-209, jun. 2015.

HELLMANN, M. A.; VELASQUEZ, L. G. Contaminação microbiológica em plantas medicinais e hortaliças e sua implicação no estado de saúde do consumidor: revisão. **Arquivo de Ciências da Saúde da Unipar**, Umuarama, v. 21, n. 2, p. 123-130, maio/ago. 2017.

JORGENSEN, J.H.; PFALLER, M. A. **Manual of clinical microbiology**. 11. ed. Washington D.C.: American Society of Microbiology, 2015.

KEMPES, N. *et al.* Extração Simplificada dos Princípios Ativos do Capim-limão *Cymbopogon citratus*. In: ENCONTRO PIBID/CAPES/FAI, 2., 2014, Adamantina. **Anais**. Faculdades Adamantinenses Integradas – FAI, 2014.

PALÁCIO ITABORAÍ. **Introdução ao uso das plantas medicinais em Petrópolis**. 1. ed. Petrópolis: Fiocruz, 2014. v.1.

PEREIRA, K.B. *et al.* O uso de Plantas medicinais em uma unidade de estratégia de saúde da família na cidade de Uruguaiana. **Educação ambiental em Ação**, São Paulo, v. 17, n. 66, 2019.

MAIA, S.R.; FERREIRA, A.C.; ABREU, L.R. Uso do açafrão (*Curcuma longa* L.) na redução da *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048)

em ricota. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 2, p. 358-365, mar./abr. 2004.

MAXIMINO, F.L. *et al.* Avaliação da descontaminação fúngica de camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] por meio de diferentes métodos caseiros em duas temperaturas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.4, p.396-400, 2011.

MAZIERO, M.; TEIXEIRA, M. A Expansão da Utilização de Fitoterápicos no Brasil. *In*: SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – SIEPE, 9., 2017, Santana do Livramento. **Anais**. Universidade Federal do Pampa, 2017. v. 9, n. 12.

MELO, J.G. *et al.* Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) e centela (*Centella asiatica* (L.) Urban). **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 27-36, março, 2007.

MONTES, R.A. *et al.* Qualidade microbiológica de drogas vegetais utilizadas na fitoterapia popular. **Revista Espacios**, Caracas, v. 38, n. 11, p.12-18, 2017.

MORAES, L.L.C. *et al.* Ethno-knowledge of medicinal plants in a community in the eastern Amazon. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 42, n. 2, p. 565-573, 2019.

MORETES, D.N.; GERON, V.L.M.G. Os Benefícios Mediciniais da *Curcuma longa* L. (açafraão da terra). **Revista da Faculdade de Educação e Meio Ambiente - FAEMA**, Ariquemes, v.10, n. 1, p. 106-114, jan./jun. 2019.

MOURA, P.H.B. *et al.* Etnobotânica de chás terapêuticos em Rio Urubueua de Fátima, Abaetetuba – Pará, Brasil. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 29, n. 2, p. 77-88, jun. 2016.

PEREIRA, C.B. *et al.* *Cordia verbenaceae* DC e *Mikania* sp.: interferência no ensaio de controle da qualidade microbiológico. **Infarma – Ciências Farmacêuticas**, Brasília, v. 26, n.2, p. 111-118, 2014.

RIBEIRO, D.A. *et al.* Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 16, n. 4, p. 912-930, dezembro, 2014.

SANTOS, J. de F. L. **Uso popular de plantas medicinais na comunidade rural da Vargem Grande Município de Natividade da Serra, SP**. 2006. vii, 104 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, 2006.

SANTOS, M.; CARVALHO, A.C. Plantas medicinais: saberes tradicionais e o sistema de saúde. *In*: SANTOS, M.; QUINTEIRO, M. **Saberes tradicionais e locais reflexões etnobiológicas**. Rio de Janeiro: eduerj, 2018, p. 73-99.

SANTOS, R.L. *et al.* Contaminação fúngica de plantas medicinais utilizadas em chás. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 34, n. 2, p.289-293, 2013.

SALES, E.H. *et al.* Drying, toxicity and antimicrobial potential of *Curcuma longa* L essential oil. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 9, n. 8, p. e511985600, 2020.

SCHEID, T.; FAJARDO, A.P. Uso de plantas medicinais por idosos adscritos à atenção primária em Porto Alegre/RS e potenciais interações planta-medicamento. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p. 103-117, 2020.

SCUDELLER, V.; VEIGA, Jo.; ARAÚJO-JORGE, L. Etnoconhecimento de plantas de uso medicinal nas comunidades São João do Tupé e Central (Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Tupé). *In*: SANTOS-SILVA, E.; SCUDELLER, V. **Biotupé**: meio físico, diversidade biológica e sociocultural do Baixo Rio Negro, Amazônia Central. Manaus: UEA edições, 2009. p. 185-199.

SCHÜTZ, M.V.; VELAZQUEZ, C.C.; ABEGG, M.A. Avaliação da qualidade microbiológica das drogas vegetais mais comercializadas em farmácias de manipulação de Toledo – PR. **Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar**, Umuarama, v. 12, n. 3, p. 181-186, setembro/dezembro, 2008.

SILVA, E.G.; LIMA, D.C.S.; VALE, C.R. Avaliação do uso consciente das plantas medicinais por frequentadores de uma unidade básica de saúde Porangatu – GO. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 14, n. 2, p. 975-986, ago./dez. 2016.

SILVA, L.N.; TEIXEIRA, A.B. Avaliação da atividade antimicrobiana da espécie vegetal *Mikania glomerata* Sprengel cultivada no horto de plantas medicinais em uma faculdade de Fortaleza. **Revista Diálogos Acadêmicos**, Fortaleza, v. 8, n. 2, jan./jun. 2019.

SILVA NETO, I.F. *et al.* Avaliação da qualidade de erva-doce (*Pimpinella anisum* L.) comercializada em Juazeiro do Norte-CE. **Revista Farmácia Generalista**, Alfenas, v. 2, n. 2, p. 17-28, 2020.

SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia**: do produto natural ao medicamento. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SOUZA, C.M.P. *et al.* Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do serviço público de saúde em Campina Grande - Paraíba. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 15, n. 2, p. 188-193, 2013.

SOUZA, F.S.; MACIEL, C.C.S. Produtos Fitoterápicos e a Necessidade de um Controle de Qualidade Microbiológico. **VEREDAS FAVIP - Revista Eletrônica de Ciências**, Caruru, v. 3, n. 2, jul./dez. 2010.

SOUZA-MOREIRA, T.M.; SALGADO, H.R.N.; PIETRO, R.C.L.R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 20, n. 3, p. 435-440, julho, 2010.

Torres, Katia Regina. **Os arranjos produtivos locais (APLs) no contexto da implementação da Política e do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. 2013. xvii,125 f. Dissertação (Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2013.

VERDI, S.; YOUNES, S.; BERTOL, C.D. Avaliação da qualidade microbiológica de cápsulas e chás de plantas utilizadas na assistência ao tratamento da obesidade. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 15, n. 4, p. 494-502, 2013.

VIEIRA, N.R.; VIANNA, W.O.; ALMEIDA, J.F.M. Controle de qualidade microbiológica de produtos não estéreis. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 1, p. 2889-2901, janeiro, 2020.

ZARONI, M. *et al.* Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 14, n. 1, jan./jun. 2004.