

Avaliação da contaminação microbiana em fitoterápicos

Evaluation of the microbiological contamination in herbal medicines

RIALA6/1502

Sarah de Miranda FARIA, Hilda do Nascimento NÓBREGA, Joana Angélica Barbosa FERREIRA,
Victor Augustus MARIN*

*Endereço para correspondência: Escola de Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO).

Rua Dr. Xavier Sigaud, 290, prédio II – 3º andar – Urca, CEP: 22290-180. Rio de Janeiro, RJ. Tel: (21) 2542-7276.

E-mail: victor.marin@unirio.br

Recebido: 15.01.2012 – Aceito para publicação: 17.07.2012

RESUMO

No presente estudo, foi investigada a qualidade microbiológica de 30 amostras de fitoterápicos derivados de 10 espécies vegetais vendidos em farmácias do Rio de Janeiro. Foram efetuadas as contagens totais de bactérias aeróbias, de bolores e leveduras, de outras enterobactérias e a identificação dos micro-organismos. Foram identificadas 17 espécies de bactérias e duas de fungos. A maioria dos micro-organismos era de agentes oportunistas, indicando que 80% das amostras avaliadas estavam insatisfatórias de acordo com os limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira. Comparando-se os resultados deste trabalho com os relatados nos estudos anteriores, conclui-se que a contaminação em fitoterápicos é um problema que tem persistido ao longo do tempo, e o seu monitoramento microbiológico fornece base para ações de Vigilância Sanitária. Nesse contexto, o monitoramento desses medicamentos é relevante ferramenta para garantir a qualidade, a segurança e a eficácia desses produtos.

Palavras-chaves. fitoterápicos, controle de qualidade, avaliação microbiológica

ABSTRACT

This study investigated the microbiological quality of 30 samples of herbal medicines derived from 10 plant species and sold in pharmacies of Rio de Janeiro. The microbiological analyses were consisted of total counts of aerobic bacteria, molds, yeasts and other enterobacteria, and microorganisms identification. Seventeen bacteria and two fungi species were identified, and the majority of them were opportunistic pathogens, demonstrating that 80% of the analyzed samples were noncompliant with the limits established by the Brazilian Pharmacopoeia. By comparing these results with those previously reported, it was evidenced that the microbiological contamination in herbal medicines has been a persisting problem over time. Thus, the microbiological monitoring is a rationale for health surveillance actions. In this context, it is crucial to monitor the herbal medicines for assuring the quality, the safety and the efficacy of these products.

Keywords. herbal medicines, quality control, microbiological evaluation.

INTRODUÇÃO

Os fitoterápicos têm sido utilizados desde a antiguidade para o tratamento de uma gama de enfermidades. Referências históricas descrevem o uso de plantas medicinais em praticamente todas as antigas civilizações, sendo a primeira encontrada na obra chinesa *Pen Ts'ao* (“A grande fitoterapia”), de Shen Nung, que remonta a 2800 a.C.¹. É seguro dizer que entre 25% e 50% dos medicamentos atualmente comercializados tem origem nos produtos naturais².

Por definição, denominam-se plantas medicinais aquelas que são tradicionalmente utilizadas pela população para prevenir, aliviar ou curar enfermidades. Após passarem por processamento dão origem a um tipo especial de medicamento, os fitoterápicos³. De acordo com a legislação sanitária, fitoterápicos são medicamentos produzidos utilizando exclusivamente matérias-primas ativas vegetais (extrato, tintura, óleo, cera, exsudato, suco e outros) e caracterizados pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso. Como todos os medicamentos, devem oferecer garantia de qualidade, ter efeitos terapêuticos comprovados, composição padronizada e segurança de uso para a população. Dessa classe de medicamentos excluem-se os que, em sua composição, contenham substâncias ativas isoladas, de qualquer origem e as associações destas com extratos vegetais⁴.

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, compreendendo mais de 50 mil espécies de plantas superiores (20-22% do total existente no planeta), mais de 500 espécies de mamíferos, cerca de 3 mil espécies de peixes, mais de 1.500 espécies de pássaros, mais de 500 espécies de anfíbios e milhões de espécies de insetos e micro-organismos. Em função disso, e sobretudo pela grande tradição do uso das plantas na medicina popular no Brasil, o interesse pelos estudos das propriedades medicinais das plantas vem sendo explorado extensivamente pelos pesquisadores brasileiros e, mais recentemente, pela indústria farmacêutica, interessada em desenvolver novos medicamentos⁵.

Anualmente, no mundo, essa modalidade terapêutica movimentava cerca de 22 bilhões de dólares⁶. No Brasil, no período de novembro de 2003 a outubro de 2006, o mercado de fitoterápicos faturou R\$ 1.840.228.655,00 com a venda de 122.696.549 unidades farmacêuticas. Essas cifras refletem o grande volume de vendas devido ao custo reduzido, ausência de patente e à

preferência dos consumidores por tratamentos “naturais”. Contudo, ao contrário da crença popular, que atribui às preparações fitoterápicas a isenção a efeitos colaterais, seu consumo pode conduzir a efeitos adversos à saúde, tais como: reações alérgicas, tóxicas, efeitos mutagênicos e interações medicamentosas⁷⁻¹⁰.

Em virtude da expressividade desse comércio, em junho de 2006, o Presidente brasileiro sancionou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que tem por objetivo garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional¹¹. No ano de 2009, o Ministério da Saúde incluiu 71 plantas medicinais à lista de espécies que poderão ser utilizadas como medicamentos fitoterápicos pelo Sistema Único de Saúde, o SUS¹².

Porém, a segurança e eficácia dos produtos fitoterápicos sofrem influência de vários fatores que incluem: matéria-prima, controle do processamento, forma farmacêutica, bula, embalagem e propaganda. O aumento da demanda, associado à falta de fiscalização no processo produtivo resulta, muitas vezes, em medicamentos sem condições adequadas de uso, sem garantia de qualidade, segurança e eficiência fundamentais para a recuperação ou preservação da saúde do consumidor^{7,8,13}. Sobre a análise microbiológica, foi relatado que vários produtos apresentaram níveis de contaminação elevados, tornando seu consumo um problema de saúde pública¹³⁻¹⁶.

Nesse contexto, a vigilância sanitária – por ser o segmento da saúde responsável por eliminar, diminuir ou prevenir os riscos à saúde e intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção, circulação de bens e prestação de serviços de interesse da saúde – encontra entre suas competências o controle de qualidade de produtos com finalidades terapêuticas¹⁷. A qualidade microbiológica de fitoterápicos é definida por padrões microbianos descritos em compêndios oficiais e normas regulamentadoras da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), que estabelecem limites máximos da carga microbiana no produto e a ausência de determinados patógenos¹⁸.

Assim, este estudo destinou-se a contribuir para a ampliação do conhecimento sobre a qualidade dos fitoterápicos comercializados no Brasil, com relevância para o Sistema Único de Saúde, avaliando microbiologicamente os fitoterápicos na forma medicamentosa, utilizando-se como parâmetros a contagem total de bactérias aeróbias, contagem de

bolores e leveduras, contagem total de enterobactérias e a identificação dos micro-organismos isolados.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostragem foi realizada a partir de fitoterápicos comercializados em farmácias e drogarias localizadas no estado do Rio de Janeiro. Trinta amostras de fitoterápicos foram selecionadas com base na Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS)¹², sendo que as espécies vegetais foram escolhidas com base nos critérios de maior número de unidades farmacêuticas comercializadas no ano de 2006¹⁹ e número de registros na Anvisa no ano de 2008³: *Cynara scolymus* (alcachofra), *Uncaria tomentosa* (unha-de-gato), *Glycine max* (soja), *Maytenus spp.* (espinheira-santa), *Mikania spp.* (guaco), *Passiflora spp.* (maracujá), *Harpagophytum procumben* (garra-do-diabo), *Rhamnus purshiana* (cáscara sagrada), *Salix alba* (salgueiro-branco) e *Mentha spp.* (hortelã). Para cada espécie vegetal, foram coletadas amostras nas formas farmacêuticas de cápsulas, comprimidos, soluções e suspensões, de acordo com a disponibilidade no mercado.

A metodologia foi utilizada em concordância com a Farmacopeia Brasileira^{20,21}. Para a contagem bacteriana, foram feitas diluições até 10⁻⁵. Aliquotas de 1 mL de cada diluição da amostra foram transferidas para placas de Petri, em duplicata e adicionados 15-20 mL de ágar de caseína-soja previamente resfriado a 45-50 °C. Após homogeneização por movimentos rotatórios e solidificação do ágar, as placas foram invertidas e incubadas a 30-35 °C por 48 horas. Nos casos em que o crescimento não foi observado, a incubação foi prolongada por mais 48 horas.

Para a contagem de fungos, alíquotas de 1 mL de cada diluição foram transferidas para placas de Petri em duplicata e adicionados 15-20 mL de ágar Sabouraud-dextrose ou ágar batata-dextrose a 45-50 °C. Após homogeneizar e solidificar o meio, as placas foram invertidas e incubadas a temperatura de 20-25 °C por 5 a 7 dias.

Para a identificação de micro-organismos, foram inoculados 10 mL ou 10 g da amostra em caldo caseína-soja e em caldo lactosado, que foram incubados a 35 ± 2 °C durante um período de 24 a 48 horas. A partir do caldo lactosado, realizou-se: a) esgotamento em ágar MacConkey para a pesquisa de *Escherichia coli* e outras enterobactérias, sendo as placas incubadas a 35 ± 2 °C por 24 a 48 horas; e b) alíquotas de 1 mL foram transferidas para caldo selenito cistina e para caldo Tetrationato suplementado com 0,1 mL

de verde brilhante e 0,2 mL de iodeto de potássio, para a detecção *Salmonella spp.* Esses caldos foram incubados 35 ± 2 °C por 24 a 48 horas. Quando verificado crescimento, as colônias foram isoladas em placas de ágar xilose-lisina desoxicolato (XLD), ágar verde brilhante-vermelho de fenol lactose-sacarose (BPLS) e ágar bismuto-sulfito (ASB). O caldo lactosado também foi utilizado para pesquisa de outras enterobactérias, com transferência de 1 mL para caldo mossel e, em seguida, foram feitas diluições até 1:1000, sendo que as diluições foram plaqueadas imediatamente em ágar cristal vermelho violeta neutro bile glicose (VRBG). Quando verificado algum crescimento nas diluições 1:10 e 1:100, as amostras eram reprovadas, pois indicava que possuíam contagens de enterobactérias superiores ao limite máximo estabelecido (100 UFC por 1 grama de produto).

A partir do caldo caseína-soja, foram realizados o plaqueamento em ágar cetrímida (específico para *Pseudomonas aeruginosa*), ágar Vogel-Johnson (específico para *Staphylococcus aureus*) e ágar caseína-soja (para pesquisa de outros micro-organismos). As placas foram incubadas 35 ± 2 °C durante um período de 24 horas.

Os testes bioquímicos realizados seguiram a metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira²⁰. Para bastonetes Gram negativos (fermentadores), foi realizada a triagem por meio da fermentação da glicose, verificação da motilidade e oxidase. Seguiram-se as provas de utilização do citrato; descarboxilação da arginina, ornitina e lisina; produção de acetoina (prova de VP-Voges Proskauer); produção de H₂S; gás na glicose com tubo de Durham; oxidação da xilose, manitol, arabinose, trealose, sacarose, inositol, ramnose, sorbitol, salicina; redução do nitrato; indol; e hidrólise da ureia.

Para bastonetes Gram negativos (não fermentadores), a triagem foi realizada pela não fermentação da glicose e produção da enzima oxidase. Provas bioquímicas realizadas foram: utilização do citrato; liquefação da gelatina; não fermentação dos açúcares (glicose, sacarose, manitol, frutose, rhamnose, trehalose, xilose, galactose, manose e lactose); hidrólise da ureia; hidrólise da esculina, crescimento em 6% e 6,5% de NaCl; descarboxilação da arginina, ornitina e lisina; e redução do nitrato.

Cocos Gram positivos foram selecionados da triagem por meio da glicose e catalase. As provas efetuadas foram: fermentação da frutose, manitol, rafinose, manose, sacarose, xilose, teralose, maltose; hidrólise da ureia; descarboxilação da arginina; produção

de acetina (VP) e VM (vermelho de metila); produção da enzima coagulase; e redução do nitrato a nitrito.

Os bastonetes Gram positivos foram selecionados pela triagem efetuada por meio da catalase. As provas efetuadas foram: utilização do citrato; utilização do D-manitol, D- xilose, D- glicose, D- arabinose; produção de acetoina em pH menor que 6 e pH maior que 7 (prova de VP-Voges Proskauer); observação da fermentação da glicose com produção de gás por meio do tubo de Durham; crescimento em caldo nutriente com 2%, 5%, 7% e 10% de NaCl; crescimento na presença de lisozima, lecitinase (egg-yolk); tirosina; decomposição da caseína (milk-agar); hidrólise do amido; motilidade; redução do nitrato; indol; desaminação da fenilalanina; e liquefação da gelatina.

A pesquisa de *Candida albicans* abrangeu a verificação das características morfológicas das culturas, pela observação microscópica em corante azul de algodão lactofenol, seguida de identificação das culturas que apresentarem células redondas, ovaladas e com brotamento, por provas bioquímicas complementares.

A identificação de *Aspergillus parasiticus* foi realizada a partir das placas de ágar Sabouraud-dextrose ou ágar batata-dextrose, utilizadas na contagem de fungos. O desenvolvimento de colônias grandes com crescimento radial, micélio aéreo de coloração inicialmente branca, tornando verde-oliva foram submetidas a observações macro e micromorfológicas que identificam os fungos filamentosos e pesquisa de patógenos em produtos não estéreis e matérias-primas de uso em sua fabricação²⁰.

Tabela 1. Contagem dos micro-organismos detectada em amostras de fitoterápicos

Classificação das amostras	Fitoterápico	Forma farmacêutica	Bactérias aeróbias totais (UFC/g ou mL)	Bolores e leveduras (UFC/g ou mL)	Enterobactérias (UFC/g ou mL)
1	<i>Cynara scolymus</i>	cápsulas	$1,0 \times 10^4$	$3,5 \times 10^3$	<10
2	<i>Cynara scolymus</i>	comprimidos	$4,1 \times 10^6$	<10	>10 ³
3	<i>Cynara scolymus</i>	solução	<10	<10	<10
4	<i>Harpagophytum procumbens</i>	cápsulas	<10	<10	<10
5	<i>Harpagophytum procumbens</i>	comprimidos	<10	<10	<10
6	<i>Harpagophytum procumbens</i>	cápsulas	$3,0 \times 10^9$	<10	>10 ³
7	<i>Glycine max</i>	cápsulas	<10	<10	<10
8	<i>Glycine max</i>	comprimidos	$2,5 \times 10^9$	$2,3 \times 10^2$	>10 ³
9	<i>Glycine max</i>	cápsulas	$6,0 \times 10^8$	$1,5 \times 10^2$	>10 ³
10	<i>Maytenus spp.</i>	cápsulas	$4,3 \times 10^6$	<10	>10 ³
11	<i>Maytenus spp.</i>	comprimidos	$3,8 \times 10^9$	<10	>10 ³
12	<i>Maytenus spp.</i>	solução	<10	$2,0 \times 10^3$	<10
13	<i>Mentha spp.</i>	cápsulas	$1,2 \times 10^7$	$2,0 \times 10^2$	>10 ³
14	<i>Mentha spp.</i>	comprimidos	$2,5 \times 10^4$	$3,0 \times 10^2$	>10 ³
15	<i>Mentha spp.</i>	solução	$1,4 \times 10^4$	$4,0 \times 10^2$	>10 ³
16	<i>Mikania spp.</i>	cápsulas,	<10	<10	<10
17	<i>Mikania spp.</i>	comprimidos	$2,0 \times 10^8$	<10	>10 ³
18	<i>Mikania spp.</i>	solução	<10	<10	<10
19	<i>Passiflora spp.</i>	cápsulas	$4,0 \times 10^8$	<10	>10 ³
20	<i>Passiflora spp.</i>	comprimidos	$9,8 \times 10^9$	<10	<10
21	<i>Passiflora spp.</i>	solução	$9,6 \times 10^8$	<10	<10
22	<i>Uncaria tomentosa</i>	cápsulas	$1,4 \times 10^6$	$1,3 \times 10^3$	>10 ³
23	<i>Uncaria tomentosa</i>	comprimidos	$2,9 \times 10^7$	$1,5 \times 10^3$	>10 ³
24	<i>Uncaria tomentosa</i>	solução	$3,0 \times 10^8$	$3,2 \times 10^2$	>10 ³
25	<i>Rhamnus purshiana</i>	cápsulas	$2,0 \times 10^7$	<10	>10 ³
26	<i>Rhamnus purshiana</i>	comprimidos	$8,0 \times 10^8$	<10	>10 ³
27	<i>Rhamnus purshiana</i>	cápsula	<10	<10	<10
28	<i>Salix alba</i>	cápsulas	$2,3 \times 10^8$	<10	>10 ³
29	<i>Salix alba</i>	comprimidos	$3,4 \times 10^8$	<10	>10 ³
30	<i>Salix alba</i>	solução	$5,4 \times 10^7$	<10	>10 ³

Tabela 2. Identificação dos micro-organismos isolados em amostras de fitoterápicos

Amostras	Fitoterápico	Forma Farmacêutica	Micro-organismos
1	<i>Cynara scolymus</i>	cápsulas	<i>Candida albicans</i> , <i>Bacillus coagulans</i>
2	<i>Cynara scolymus</i>	comprimidos	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>
3	<i>Cynara scolymus</i>	solução	ausência
4	<i>Harpagophytum procumbens</i>	cápsulas	ausência
5	<i>Harpagophytum procumbens</i>	comprimidos	ausência
6	<i>Harpagophytum procumbens</i>	cápsulas	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Raoultella planticola</i>
7	<i>Glycine max</i>	cápsulas	ausência
8	<i>Glycine max</i>	comprimidos	<i>Escherichia coli</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Cedecea davisae</i>
9	<i>Glycine max</i>	cápsulas	<i>Escherichia coli</i> , <i>Cedecea davisae</i> , <i>Enterobacter gergoviae</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Candida albicans</i>
10	<i>Maytenus spp.</i>	cápsulas	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Cronobacter saazakii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus circulans</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
11	<i>Maytenus spp.</i>	comprimidos	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus coagulans</i>
12	<i>Maytenus spp.</i>	solução	<i>Aspergillus parasiticus</i>
13	<i>Mentha spp.</i>	cápsulas	<i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Bacillus circulans</i>
14	<i>Mentha spp.</i>	comprimidos	<i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Cronobacter saazakii</i> , <i>Bacillus circulans</i>
15	<i>Mentha spp.</i>	solução	<i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>Cronobacter saazakii</i>
16	<i>Mikania spp.</i>	cápsulas	ausência
17	<i>Mikania spp.</i>	comprimidos	<i>Escherichia coli</i>
18	<i>Mikania spp.</i>	solução	ausência
19	<i>Passiflora spp.</i>	cápsulas	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
20	<i>Passiflora spp.</i>	comprimidos	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus cereus</i>
21	<i>Passiflora spp.</i>	solução	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
22	<i>Uncaria tomentosa</i>	cápsulas	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Candida albicans</i>
23	<i>Uncaria tomentosa</i>	comprimidos	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Candida albicans</i>
24	<i>Uncaria tomentosa</i>	solução	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Candida albicans</i>
25	<i>Rhamnus purshiana</i>	cápsulas	<i>Escherichia coli</i> , <i>Cronobacter saazakii</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
26	<i>Rhamnus purshiana</i>	comprimidos	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
27	<i>Rhamnus purshiana</i>	cápsula	ausência
28	<i>Salix alba</i>	cápsulas	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i>
29	<i>Salix alba</i>	comprimidos	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus coagulans</i>
30	<i>Salix alba</i>	solução	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Cedecea davisae</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i>

RESULTADOS

Das 30 amostras analisadas, 22 possuíam contaminação por bactérias aeróbias totais, com valores que variavam entre 10^4 UFC/g ou mL a 10^9 UFC/g ou mL, enquanto nove amostras encontravam-se acima dos padrões preconizados para fungos e leveduras, com contaminação variando entre 10^2 UFC/g ou mL a 10^3 UFC/g ou mL. Em relação à contagem total de outras enterobactérias, 19 amostras apresentaram contaminação acima de 10^3 UFC/g ou mL. Esses resultados encontram-se descritos na Tabela 1.

A identificação bioquímica de bactérias aeróbias, fungos e leveduras detectaram 19 espécies diferentes de micro-organismos, sendo que 17 eram bactérias e duas eram fungos (Tabela 2).

As espécies vegetais *Harpagophytum procumbens*, *Glycine Max* e *Rhamnus purshiana* não estavam disponíveis no mercado na forma de solução ou suspensão. As amostras analisadas foram negativas para *Salmonella* spp. e para *Pseudomonas aeruginosa*. A pesquisa de *Escherichia coli* foi positiva nas amostras 2, 6, 8, 9, 10, 11, 17, 19, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 20 e 30, enquanto

que *Staphylococcus aureus* esteve presente nas amostras 20 e 21. A avaliação de outras enterobactérias mostrou-se insatisfatória para 63,3% das amostras analisadas.

DISCUSSÃO

Ao compararmos os resultados obtidos neste estudo com outros semelhantes efetuados no Brasil, os percentuais de contaminação foram similares aos encontrados por Fischer¹⁴ em 1992, que detectou uma contaminação bacteriana de 70% e fúngica de 34% em fitoterápicos na forma sólida (cápsulas, comprimidos e pó). Estudo realizado em 2004²², na cidade de Piracicaba (SP), que analisou fitoterápicos na forma de cápsulas, obteve contaminação por bactérias um pouco menor, 58%, enquanto a contaminação por bolores e leveduras foi novamente em valores percentuais próximos a 34%. Em relação às contagens, temos resultados semelhantes em relação aos fungos. O estudo referenciado encontrou uma variação de 10^1 UFC/g a $4,2 \times 10^3$ UFC/g, enquanto o presente estudo tem uma variação entre $1,5 \times 10^2$ UFC/g e $3,5 \times 10^3$ UFC/g. Porém, as contagens de bactérias aeróbias totais foram significativamente maiores no presente estudo, variando entre $2,5 \times 10^4$ UFC/g e $9,8 \times 10^9$ UFC/g, enquanto os produtos pesquisados em 2004 tiveram a contagem variando entre 10^1 UFC/g a $3,4 \times 10^5$ UFC/g²².

A comparação desses três estudos brasileiros indica um percentual alto de contaminação dos medicamentos fitoterápicos, sendo verificada a presença de fungos em cerca de 30% das amostras. As cargas de bactérias aeróbias totais tiveram uma maior variação, porém, em todos os estudos, a contaminação das amostras foi superior a 50%, demonstrando uma tendência temporal de elevados índices de contaminação nessa classe de medicamentos.

Ao comparar os resultados das contagens com os limites estabelecidos na Farmacopeia Brasileira^{20,21}, constatou-se que 76,6% das amostras estavam fora dos padrões estabelecidos: máximo de 10.000 UFC/g ou mL para contagens de bactérias aeróbias totais, máximo de 100 UFC/g ou mL para bolores e leveduras e máximo de 100 UFC/g ou mL para enterobactérias.

Os limites estabelecidos por outras farmacopeias – como a Americana, a Europeia e a Britânica – possuem os mesmos limites que a Farmacopeia Brasileira, logo, utilizando tais parâmetros, esses produtos possuiriam o mesmo percentual de insatisfatoriedade ao determinado pela presente análise^{20,23-25}.

Quanto à identificação de micro-organismos, Fisher identificou *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*. Porém, é necessário ressaltar que a proposta de trabalho atendia a padrões internacionais da época, que se restringia somente à pesquisa desses micro-organismos¹⁴. A avaliação microbiológica de fitoterápicos realizada na cidade de Piracicaba pesquisou a presença de *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Shigella* spp. e clostrídios sulfitorredutores, sendo verificada a presença somente de *Escherichia coli*²². A presença desse micro-organismo nos três estudos denota sua relevância, por ser um patógeno amplamente pesquisado, e demonstra que os medicamentos estudados tiveram contaminação de origem fecal.

Em estudos realizados em outros países (na Nigéria, em 2007), a identificação das bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus* foram comuns em amostras de fitoterápicos. Porém, o que divergiu dos resultados encontrados foi a presença de *Salmonella* spp.²⁶. Na Arábia Saudita, em 2008, foram identificados *Enterobacter* spp., *Shigella* spp., *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella rhinoscleomati* e, em comum com os identificados no presente estudo, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus*, sendo que a presença deste último foi extremamente significativa, atingindo um percentual de 45% das amostras. Em estudo realizado no Irã, foi identificado somente *Salmonella* spp.^{27,28}.

A pesquisa de fungos revelou a presença de duas espécies: *Candida albicans* e *Aspergillus parasiticus*, sendo que uma revisão da literatura indicou a ocorrência de aflatoxinas em fitoterápicos nos estudos realizados na Malásia e Tailândia^{29,30}.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira, em produtos farmacêuticos não estéreis e em matérias-primas de uso para sua fabricação, devem ser ausentes os seguintes micro-organismos: *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*²². A 4ª edição da Farmacopeia Brasileira também determina que, considerando a via de administração do produto, é indesejável a presença de outros micro-organismos, sendo para via oral (sólidos e líquidos) *Bacillus cereus*, *Enterobacter* spp., *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. Considerando que todos os medicamentos estudados destinavam-se à administração oral, foram também identificados *Bacillus cereus*, *Enterobacter* spp., *Candida albicans* e *Aspergillus parasiticus*. Porém, é necessário ressaltar que a nova edição da Farmacopeia Brasileira aboliu a exigência

de ausência de micro-organismos segundo a via de administração do medicamento^{20,21}.

A contaminação de medicamentos é extremamente indesejável porque pode promover a deterioração do produto, visto que reside nestes uma versatilidade de caminhos bioquímicos possibilitando aos micro-organismos a síntese de enzimas degradativas. Dentre os micro-organismos identificados neste trabalho, *Bacillus* spp. têm capacidade de produzir alfa-amilases, que degradam açúcares; *Aspergillus* são fontes comuns de proteinases e peptidases, que degradam compostos como gelatinas; e a produção de lipase é comum entre os fungos¹⁸.

Deve-se considerar que a eficácia e a segurança do medicamento estão relacionadas com o controle de qualidade³¹. Além disso, o consumo de produtos contaminados pode ter um impacto negativo à saúde humana. A experiência tem mostrado que produtos contaminados podem não ter alterações perceptíveis, porém, podem ocasionar infecção em pacientes com sistema imunológico comprometido, idosos e crianças¹⁸. No caso dos micro-organismos identificados na atual pesquisa, essa questão deve ser considerada, pois a maioria dos micro-organismos é oportunista.

Os estudos que abordam o controle de qualidade de fitoterápicos sugere necessidade de uma regulação mais rígida e específica dessa espécie de produto, além da adoção de boas práticas no manejo agrícola, monitoramento das boas práticas na indústria e controle microbiológico rotineiro pelos órgãos de vigilância sanitária^{27,28,31,32}.

CONCLUSÃO

Foram pesquisadas trinta amostras de fitoterápicos, das quais 80% foram consideradas insatisfatórias em relação aos limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira. Todas as espécies vegetais apresentaram contaminação. Foram identificadas 19 espécies diferentes de micro-organismos, sendo 17 espécies de bactérias e duas de fungos.

Quanto aos micro-organismos isolados neste estudo, maioria das bactérias e fungos identificados era patógenos oportunistas, podendo representar risco à saúde dos consumidores com sistema imunológico comprometido, idosos, crianças e gestantes. Foram identificados: *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter planticola*, *Cedecea*

davisae, *Enterobacter gergoviae*, *Serratia marcescens*, *Cronobacter sakazakii*, *Klebsiella oxytoca*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans*, *Candida albicans* e *Aspergillus parasiticus*, sendo que alguns destes microrganismos deveriam estar ausentes, de acordo com critério de estabelecido na 4ª edição da Farmacopeia Brasileira, porém extinto na 5ª edição.

Em virtude do aumento do mercado consumidor desses produtos, são necessários mais estudos sobre esse tema, que abrange aspectos microbiológicos, químicos e toxicológicos. Além disso, a instituição de um programa de monitoramento microbiológico serviria de base para ações de vigilância sanitária, sendo uma ferramenta útil para a melhora da qualidade e garantia da segurança desses produtos.

REFERÊNCIAS

1. Tomazzoni MI, Negrelle RRB, Centa ML. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. *Textos Contexto - enfermagem*. 2006;15(1):115-21.
2. Kingston DGI. Modern natural products drug discovery and its relevance to biodiversity conservation. *J Nat Prod*. 2011;74:496-511.
3. Carvalho ACB, Nunes DSG, Baratelli TG, ShuqairNsmsaq, Netto EM. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. *T & C Amazônia*. 2007;11:26-32.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 14, de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 5 abr 2010. Seção 1, nº 63, p. 85.
5. Calixto JB, Siqueira JM. Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios. *Gaz Med Bahia*. 2008;78 (Suplemento 1):98-106.
6. Pinto AC, Silva DHS, Bolzani VS, Lopes NP. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. *Quím Nova*. 2002;2(1):45-61.
7. Calixto, JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol*. 2000;33(2):179-89.
8. DeSmet PAGM. Health risks of herbal remedies: an update. *Clin Pharmacol Ther*. 2004;76:1-17.
9. Ernst E, Pittler MH. Risks associated with herbal medicinal products. *Wiener Med Wochenschrift*. 2002;152:183-9.
10. Varanda EA. Atividade mutagênica de plantas. *Rev Ciênc Farmac Basic Aplic*. 2006;27(1):1-7.
11. Brasil. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 23 jun 2006. Seção 1, nº 119.
12. Ministério da Saúde. RENISUS – Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. [acesso 2012 dez 3]. Disponível em: [<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>].

13. Zaroni M, Pontarolo R, Abrahão WSM, Fávero MLD, Correa Júnior C, Streme LDP. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. *Rev Bras Farmacognos*. 2004;14(1):29-39.
14. Fischer DCH. Contaminação microbiana em medicamentos fitoterápicos sob a forma sólida [dissertação de mestrado]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 1992.
15. Bugno A, Buzzo AA, Nakamura CT, Pereira TC, Matos D, Pinto TJA. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. *Braz J Pharm Sci*. 2005;41(4):491-7.
16. Melo JG, Nascimento VT, Amorim ELC, Andrade Lima CS, Albuquerque UP. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de boldo (*Peumus boldus* Molina), pata-de-vaca (*Bauhinia* spp.) e ginko (*Ginkgo biloba* L.). *Rev Bras Farmacognos*. 2004;14(2):111-20.
17. Brasil. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 20 set 1990; Seção 1:018055.
18. Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos correlatos e cosméticos. 3. ed. São Paulo (SP): Ateneu; 2010.
19. Freitas A. Estrutura de mercado do seguimento de fitoterápicos no contexto atual da indústria farmacêutica brasileira. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2007.
20. Farmacopeia Brasileira. 5ª ed. Brasília (DF): Anvisa; 2010.
21. Farmacopeia Brasileira. 4ª ed. Brasília (DF): Anvisa; 2002.
22. Paixão FG, Oliveira DP, Silva PB. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. *Hig Aliment*. 2004;18:55-7.
23. European Pharmacopeia. 6ª ed. Estrasburgo: Council of Europe, 2008.
24. British Pharmacopoeia 2011. Londres: The Stationery Office; 2011.
25. The United States Pharmacopeia Convention. United States Pharmacopeia and National Formulary. Rockville, MD; 2010.
26. Okunlola A, Adewoyin BA, Odeku OA. Evaluation of the pharmaceutical and microbial qualities of some Herbal Medicinal Products in South Western Nigeria. *Trop J Pharma Res*. 2007;6(1):661-70.
27. Alwael SS. Microbial and heavy metals contamination of herbal medicines. *Res J Microbiol*. 2008;3(12):683-91.
28. Enayatifard R, Asgaritad H, Kezemi-Sanib. Microbial quality of some herbal solid dosage forms. *African J Biotechnol*. 2008;9:1701-5.
29. Ali N, Hashim NH, Saad B, Safan K, Nakajima M, Yoshizawa T. Evaluation of a method to determine the natural occurrence of aflatoxins in commercial traditional herbal medicines from Malaysia and Indonesia. *Food Chem Toxicol*. 2005;43:1763-72.
30. Tassaneeyakul W, Razzazi-Fazeli E, SupatraPJ. Contamination of aflatoxins in herbal medicinal products in Thailand. *Mycopathol*. 2004;158:239-44.
31. Sahoo N, Manchikanti P, Dey S. Herbal drugs: Standards and regulation. *Fitoterapia*. 2010;81:462-71.
32. Kosolec I, Cvek J, Tomic S. Contamination of medicinal herbs and herbal products. *Arch Ind Hyg Toxicol*. 2009;60:485-501.