

## Risco microbiológico associado a drogas vegetais psicoativas adquiridas no comércio popular

### Microbiological contamination risk of psychoactive herbal drugs purchased in informal trade

RIALA6/1485

Julino Assunção Rodrigues SOARES NETO<sup>1</sup>, Eliana RODRIGUES<sup>1</sup>, Adriana Aparecida Buzzo ALMODOVAR<sup>2\*</sup>, Tatiana Caldas PEREIRA<sup>2</sup>, Adriana BUGNO<sup>2</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>2</sup>Núcleo de Ensaios Biológicos e de Segurança, Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes, Instituto Adolfo Lutz. Av. Dr. Arnaldo, 355, Cerqueira Cesar, São Paulo/SP, CEP: 01246-902. E-mail: medicamentos.biol@ial.sp.gov.br

<sup>1</sup>Centro de Estudos Etnobotânicos e Etnofarmacológicos, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema

Recebido: 03.04.2012- Aceito para publicação: 29.06.2012

#### RESUMO

Este estudo avaliou o risco de contaminação por micro-organismos patogênicos em 70 amostras de drogas vegetais psicoativas, adquiridas no comércio popular de Diadema (SP). A análise foi feita seguindo-se os parâmetros microbiológicos definidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e Farmacopeia Brasileira. Ademais, foi averiguado o potencial da micoflora isolada em produzir micotoxinas. Das drogas vegetais avaliadas, 66,7% das amostras estavam em desacordo com as especificações de qualidade da OMS. Quanto ao potencial micotoxigênico dos isolados fúngicos, nenhum demonstrou capacidade para produzir ocratoxina A ou citrinina; e quatro isolados (3,9%) apresentaram capacidade aflatoxigênica. A baixa qualidade microbiológica dos produtos estudados indicou a necessidade de adequar o comércio informal de drogas vegetais para resguardar a saúde dos consumidores.

**Palavras-chave.** plantas medicinais, contaminação, micotoxinas, comércio popular, risco sanitário.

#### ABSTRACT

This study evaluated the microbiological contamination risk of 70 samples of 18 psychoactive herbal drugs purchased in the informal trade in Diadema, SP. This analysis was performed according to the parameters established by the World Health Organization (WHO) and Brazilian Pharmacopeia. The microbiological quality concerning the bioburden and the occurrence of food-borne risk indicators were evaluated following the official compendia. Besides, the potential production of aflatoxins, ochratoxin A and citrinin by the isolated fungi was assessed. Of the analyzed herbal drugs, 66.7% samples did not comply with the WHO standards in relation to bacterial and fungal load. In accordance with the microorganism contamination risk indicators defined by the Brazilian Pharmacopoeia, the rate of noncompliant herbal drugs increased to 94.4% due to the detection of *Enterobacter* spp and *Aspergillus flavus*. In relation to toxigenic potential, none of the fungal isolates showed capability of producing ochratoxin A or citrinin, and four (3.9%) *Aspergillus flavus* isolates only were able to produce aflatoxins B1 and B2. The poor microbiological quality indicated the need to adequate the herbal drugs informal trade in order to preserve the consumer's health.

**Keywords.** medicinal plants, contamination, mycotoxins, informal trade, health risk.

## INTRODUÇÃO

Apesar das descobertas de substâncias ativas em plantas medicinais terem impulsionado uma revolução científica e tecnológica que promoveu sua substituição por fármacos sintéticos, a Organização Mundial da Saúde estima que 80% da população dos países emergentes utilizam a medicina tradicional, especialmente fitoterapia, na atenção primária à saúde influenciada por fatores econômicos, sociais e culturais<sup>1</sup>. Apesar disso, permanece a preocupação com a eficácia e a segurança de uso, pois a demanda não foi acompanhada pelo avanço na qualidade da matéria-prima.

O comércio popular de drogas vegetais sem o devido acompanhamento sanitário implica em riscos para a saúde pública relacionados ao uso de espécies equivocadas, substituições por vezes intencionais, imprecisão nos rótulos, contaminação microbiana, entre outros, que levam à inconsistência na qualidade<sup>2-6</sup>.

Em áreas urbanas, é comum a comercialização de drogas vegetais (DVs) em barracas de rua para as mais diversas indicações de uso. Alguns desses comerciantes agrupam as plantas em aglomerados, os chamados “amarrados”, que ficam livres para manipulação do público e expostos ao ar. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica de drogas vegetais, obtidas em comércio popular nas ruas da cidade de Diadema (SP), para as quais se atribuem atividades psicoativas, ou seja, capacidade para alterar aspectos fisiológicos e comportamentais como a capacidade cognitiva, padrões de pensamento e humor.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras

Foram adquiridas amostras de drogas vegetais com possível ação psicoativa de quatro comerciantes locais, os quais, depois de esclarecidos quanto ao objetivo deste estudo, demonstraram concordância em participar com a assinatura de *termo de consentimento livre e esclarecido*. Durante as entrevistas, verificou-se que 39,9% das drogas vegetais comercializadas remetiam à atividade psicoativa, principalmente como estimulante. Para este estudo, foram coletadas 70 amostras compostas por 18 espécies vegetais com atividade psicoativa (anis estrelado, camomila, catuaba, cipó-cravo, erva-de-São-João, ginko, ginseng, guaraná, jatobá, maracujá, marapuama, melissa, mulungu, nó-de-cachorro, noz-de-cola, olho-de-boi, tília e valeriana).

### Avaliação da qualidade microbiológica

As amostras adquiridas foram avaliadas quanto à carga de bactérias e fungos presentes e quanto à presença de micro-organismos indicadores de risco para a via de administração oral – *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter* spp, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* – conforme Farmacopeia Brasileira<sup>2</sup>. Em adição, verificou-se o potencial da microflora isolada para produzir as seguintes micotoxinas: aflatoxinas, ocratoxina A e citrinina.

Para a **enumeração de bactérias heterotróficas e fungos**, utilizou-se a técnica de semeadura em profundidade, conforme descrito em compêndios oficiais<sup>2,5</sup>, assim como, para a **enumeração de *Escherichia coli* e outras enterobactérias**, foi utilizada a técnica de tubos múltiplos conforme descrito em compêndios oficiais<sup>2</sup>.

O **isolamento e identificação de bactérias** foram realizados conforme indicado em compêndios oficiais<sup>2,6,7</sup>, sendo a confirmação da identidade das colônias obtidas em meios de cultura seletivos executada por técnicas de coloração e provas bioquímicas.

Para o **isolamento de fungos** utilizou-se Ágar Dextrose Batata, com incubação a  $26 \pm 1$  °C por 10 dias, sendo a identificação realizada pela observação das características macromorfológicas e micromorfológicas, seguindo esquemas taxonômicos de Rapper e Fennel<sup>8</sup> e Pitt<sup>9</sup>.

A **avaliação do potencial toxigênico** de *Aspergillus* e *Penicillium* nas amostras foi realizada por meio da inoculação dos isolados em Agar Coco pH 7,0  $\pm$  0,1 (para avaliar potencial de produzir aflatoxinas e ocratoxina A) e em Agar Coco pH 5,0  $\pm$  0,1 (para a avaliar potencial de produzir citrinina), incubados a  $26 \pm 1$ °C por 10 dias<sup>10</sup>. Após o período de incubação, cada colônia desenvolvida foi transferida para frasco em vidro de boca larga, a qual foi pesada e macerada em clorofórmio, na proporção de 3,0 mL para cada 1,0 g de material. O macerado foi mantido em agitação por 30 minutos, em agitador mecânico horizontal tipo Shaker e, então, filtrado em papel de filtro, sendo o filtrado recolhido em tubo de ensaio e evaporado em banho-maria a 80°C alocado em capela de segurança química. As micotoxinas foram detectadas por cromatografia em camada delgada, conforme descrito por Soares e Rodriguez-Amaya<sup>11</sup> e a confirmação química da identidade da micotoxina foi realizada por técnicas adequadas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de produtos de origem vegetal para alívio das desordens mentais tem significado e importância baseados em práticas populares<sup>12</sup> e tem aumentado com a evolução do conhecimento na área. No Brasil, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos pretende garantir à população o acesso seguro e o uso racional associados ao desenvolvimento sócio-econômico, melhorando as condições de vida e saúde da população brasileira.

Embora o consumo seja disseminado, somente alguns poucos países apresentam regulamentação efetiva para garantir o uso seguro e eficaz de produtos de origem vegetal com finalidade terapêutica. Considerando a segurança biológica de drogas vegetais e fitoterápicos, a pesquisa dos contaminantes microbianos deve estar de acordo com especificações farmacopeicas ou com recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS). Como a via de administração indicada para o objeto deste estudo foi exclusivamente oral, sob a forma de decocto ou infusão, utilizou-se o seguinte padrão de qualidade recomendado pela OMS<sup>5</sup>: máximo de  $10^7$  UFC de bactérias aeróbias/g, máximo de  $10^4$  UFC de bolores e leveduras/g, máximo de  $10^2$  UFC de *Escherichia coli*/g, máximo de  $10^4$  UFC de outras enterobactérias/g e ausência de *Salmonella* spp. Ainda a Farmacopeia Brasileira<sup>9</sup> indica que seja realizada a pesquisa de outros indicadores de maior risco para a via de administração oral, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter* spp, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*.

Observamos que 66,7% das drogas vegetais avaliadas estavam em desacordo com as especificações de qualidade da OMS por apresentarem populações de bactérias heterotróficas, fungos e/ou enterobactérias acima dos limites máximos estabelecidos (Figura 1). Porém, se considerados os indicadores de risco definidos pela Farmacopeia Brasileira, o índice de drogas vegetais em desacordo aumenta para 94,4%, devido à detecção de *Enterobacter* spp em 17 drogas vegetais (exceto anis estrelado) e de *Aspergillus flavus* em 12 drogas vegetais (catuaba, cipó-cravo, erva-de-São-João, ginseng, guaraná, jatobá, maracujá, marapuama, mulungu, noz-de-cola, tília e valeriana).

Embora a Farmacopeia Brasileira recomende a ausência de *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* em produtos destinados à administração oral, pela preocupação de possível contaminação com aflatoxinas,

foi verificada a presença de outros isolados fúngicos conhecidos pela capacidade em produzir micotoxinas entre os oito gêneros detectados (apresentados em tom escuro na Figura 2), sendo esta ocorrência em conformidade com vários estudos realizados com drogas vegetais e fitoterápicos no Brasil<sup>13</sup> e em outros países, como Egito, Índia, Nigéria, Croácia, Polônia, Portugal e Argentina<sup>13-15</sup>.

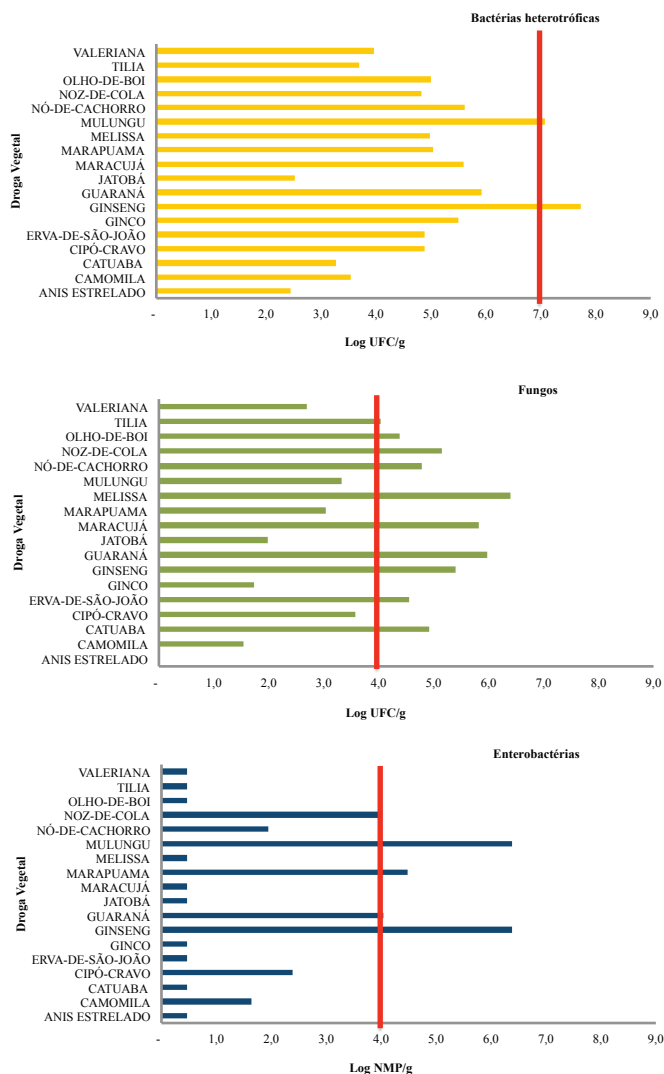
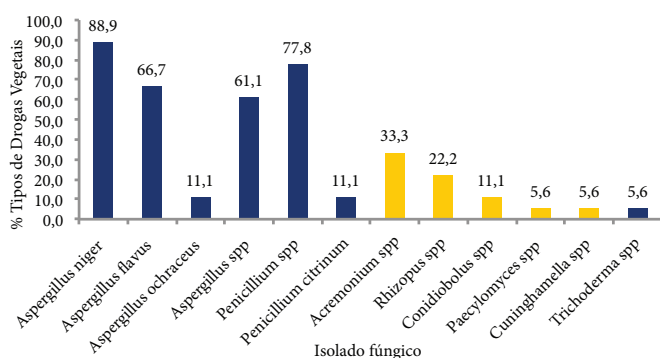


Figura 1. Carga microbiana verificada em amostras de drogas vegetais

Considerando que, na avaliação de risco de ocorrência de micotoxinas, a verificação da capacidade dos isolados fúngicos para a síntese destes compostos<sup>15</sup> é mais significativa que apenas a identificação da espécie contaminante, foi avaliado o potencial toxigênico de todos os isolados dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*

– que corresponderam a 86% do total obtido neste estudo – quanto à produção de aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2), ocratoxina A e citrinina. Nenhum dos isolados demonstrou capacidade para produzir ocratoxina A ou citrinina e somente quatro (3,9%) dos isolados de *Aspergillus flavus* apresentaram capacidade de produzir aflatoxinas, dos quais três demonstraram capacidade para produzir somente aflatoxina B1 (isolados em cipó-cravo, marapuama e tília) e um apresentou potencial para produção de aflatoxinas B1 e B2 (isolado em erva-de-São-João).



**Figura 2.** Frequência de drogas vegetais contaminadas em função do tipo de isolado fúngico detectado

Neste estudo, foram observadas que as condutas utilizadas pelos comerciantes na manipulação e acondicionamento dos produtos favoreciam a contaminação e desenvolvimento microbiano, com consequente perda da qualidade da matéria-prima, tais como: fracionamento para venda sendo realizado no próprio local, em área exposta e em geral próxima a vias com intenso tráfego de automóveis; drogas vegetais mantidas expostas ao ambiente; e falta de local adequado para estocagem, em geral mantidas no chão e expostas às condições climáticas – evidenciada pelos resultados obtidos e que expõem os consumidores destes produtos a riscos à saúde.

## CONCLUSÃO

Fica evidente a necessidade da elaboração de políticas públicas voltadas à orientação e re-estruturação do comércio popular de drogas vegetais e fitoterápicos como forma de garantir o acesso seguro e eficaz a estes produtos, considerando a importância da medicina popular na promoção à saúde.

## REFERÊNCIAS

1. Giveton SM, Liberman N, Klang S, Kahan E. Are people who use “natural drugs” aware of their potentially harmful side effects and reporting to family physician? *Patient Educ Couns*. 2004; 53:5-11.
2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia Brasileira*. 5ª ed. Brasília: Editora Fiocruz; 2010.
3. Chan K. Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. *Chemosphere*. 2003;52:1361-71.
4. De Smet PAGM. Health risks of herbal remedies: an update. *Clin Pharmacol Ther*. 2004;76:1-17.
5. World Health Organization. *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva: WHO Press; 1998.
6. World Health Organization. *WHO guidelines for assessing quality herbal medicines with reference to contaminants and residues*. Geneva: WHO Press; 2007.
7. Rhodehamel EJ, Harmon SM. *Bacillus cereus*. In: *Food and Drugs Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Bacteriological Analytical Manual Online* [acesso 15 abr 15]. Disponível em: [http://www.cfsan.fda.gov].
8. Rapper KB, Fennel DI. *The genus Aspergillus*. Baltimore: The Williams and Wilkins Company; 1965.
9. Pitt JI. *The genus Penicillium*. Sidney: Academic Press Inc; 1979.
10. Lin MT, Dianese JC. A coconut-agar medium for rapid detection of aflatoxin production by *Aspergillus* spp. *Phytopathol*. 1976;66(12):1466-9.
11. Soares LMV, Rodriguez-Amaya DB. Survey of aflatoxins, ochratoxins A, zearalenone and sterigmatocistin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin layer chromatographic method. *J AOAC*. 1989;72:20-2.
12. World Health Organization. *Department of Mental Health and Substance Dependence. Noncommunicable Diseases and mental Health: Investing in Mental Health*. Geneva: WHO Press; 2003
13. Bugno A, Almodovar AAB, Pereira TC, Pinto TJA, Sabino M. Occurrence of toxigenic fungi in herbal drugs. *Braz J Microbiol*. 2006;37:47-51.
14. Rizzo I, Vedoya G, Maurutto S, Haidukowski M, Varsavsky E. Assessment of toxigenic fungi on Argentinean medicinal herbs. *Microbiol Res*. 2004;159(2):113-20.
15. Pitt JI, Basílico JC, Abarca ML, Lopez C. Mycotoxins and toxigenic fungi. *Med Mycol*. 2000;38(Suppl 1):41-6.