

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO BACHARELADO EM FARMÁCIA**

BIANCA RODRIGUES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE
LAMBEDORES COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE CUITÉ-PB**

**CUITÉ – PB
2015**

BIANCA RODRIGUES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE
LAMBEDORES COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE CUITÉ-PB**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité, como requisito obrigatório para obtenção de título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Júlia Beatriz Pereira de Souza

CUITÉ – PB
2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

S586a Silva, Bianca Rodrigues da.

Avaliação da qualidade microbiológica de lambedores comercializados no município de Cuité - PB. / Bianca Rodrigues da Silva. – Cuité: CES, 2015.

48 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2015.

Orientadora: Dr^a. Júlia Beatriz Pereira de Souza.

1. Etnofarmacologia. 2. Lambedor. 3. Contaminação microbiológica. 4. Fitoterapia. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 633.88

BIANCA RODRIGUES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE
LAMBEDORES COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE CUITÉ-PB**

Aprovada em: 07/10/2015

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Julia Beatriz Pereira de Souza
Orientadora – UFCG

Prof. Dr. Egberto Santos Carmo
Examinador – UFCG

Prof. Dr. Igara Oliveira Lima
Examinador – UFCG

Dedico este trabalho aos meus Pais, por serem os melhores exemplos de honestidade e garra, e aos meus irmãos por estarem sempre ao meu lado e torcerem pelo meu sucesso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **DEUS**, fonte de sabedoria e amor, pelo dom da vida e por ter me proporcionado todas as condições necessárias para superar os obstáculos e vencer mais esta caminhada.

Aos meus Pais, **Clecencio e Maria**, pelo apoio e por tudo que sempre fizeram por mim, pelo exemplo, simplicidade, honestidade, amor e carinho, fundamentais na construção do meu caráter. Eu amo muito vocês!

Aos meus amados irmãos, **Bruna e Breno**, por estarem sempre ao meu lado, me apoiando e alegrando os meus dias.

Ao meu namorado **Suedney**, por todo amor, carinho, paciência e incentivo durante todos os anos de universidade.

A minha orientadora **Dr. Júlia Beatriz**, pelo apoio, ensinamentos transmitidos, pela orientação desta monografia e por ter acreditado em mim.

Aos meus **familiares** por compartilharem comigo esse sonho.

Ao professor **Egberto Santos**, pela disponibilidade em me ajudar na realização dos experimentos desta pesquisa.

A minha amiga **Eriene**, por mesmo distante, se fazer presente e me mostrar que uma amizade verdadeira resiste ao tempo e a distância.

As minhas colegas de cursos e amigas para a vida inteira, **Adriene e Gabriela**, pelo companheirismo nas madrugadas, pelas risadas, abraços e palavras durante os momentos maravilhosos e também nos mais difíceis nesta jornada.

Aos professores, **Dr^a. Igara Oliveira e Dr. Egberto Santos**, por aceitarem participar da composição da banca examinadora e avaliar meu trabalho, enriquecendo-o com suas sugestões e observações.

A todos os meus **mestres e futuros colegas de profissão**, pelos conhecimentos transmitidos e palavras de estímulo nas horas difíceis.

Aos **colegas de turma**, pela convivência e companheirismo durante toda essa jornada.

A **Universidade Federal de Campina Grande**, pela oportunidade de realizar minha formação acadêmica no curso de Bacharelado em Farmácia.

Por fim, a todos que fizeram parte direta ou indiretamente da minha formação, o meu **MUITO OBRIGADA**.

O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.

José de Alencar.

Resumo

A procura e o consumo de produtos naturais no Brasil têm aumentando gradativamente, devido ao alto custo de medicamentos sintéticos e a facilidade de obtenção de plantas medicinais e de produtos a base destas, como é o caso do lambedor, que se trata de uma preparação espessada com açúcar, rapadura ou mel, geralmente utilizado para o tratamento de problemas respiratórios. Tais produtos a base de plantas medicinais são passíveis de contaminação desde a coleta até a manipulação do produto. Sendo que, a carga microbiana elevada pode comprometer a estabilidade do produto, conseqüentemente, pode haver perda da eficácia terapêutica ou ainda causar doenças ao consumidor. Diante disso, este trabalho teve por objetivo analisar a contaminação microbiana em lambedores disponíveis no município de Cuité-PB, através da utilização da contagem de microrganismos viáveis nas amostras, pelo método de contagem em placa (plaqueamento em profundidade) e a identificação da presença de microrganismos patogênicos, pela semeadura das amostras em meios de cultura seletivos e em seguida realização de provas bioquímicas para confirmação dos patógenos. Assim como, também foi realizada a técnica de microcultivo e análise microscópica da morfologia para identificação de fungos filamentosos presentes nas amostras. Das 8 amostras analisadas, apenas a amostra C não apresentou crescimento de bactérias, contudo todas as amostras apresentaram contagem inferior a 10^4 unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ mL), estando de acordo com os limites especificados pela Farmacopeia Brasileira para contagem de bactérias. E, em todas as amostras analisadas ocorreu crescimento de fungos, sendo que 75% apresentaram limites iguais aos especificados pela Farmacopeia Brasileira (inferiores a 10^2 UFC/ mL). Nas amostras A e B foi identificada a presença de *Staphylococcus aureus* e na amostra F ocorreu a presença de *Salmonella* spp, sendo que esses microrganismos devem estar ausentes em preparações de lambedores. Os gêneros de fungos identificados foram *Aspergillus* spp., *Mycelia sterilia* e *Penicillium* spp. Diante dos resultados apresentados, torna-se necessário um maior controle durante a manipulação destes produtos, devendo ser realizadas medidas higiênico-sanitárias para tentativa de diminuição da contaminação em produtos naturais.

Palavras-chave: Lambedor, etnofarmacologia, contaminação microbiológica.

Abstract

The demand and consumption of natural products in Brazil have been gradually increasing due to the high cost of synthetic drugs and ease of obtaining plant medicines and products made thereof, such as the licker, which is a thickened preparation with sugar, molasses or honey, generally used to treat respiratory problems. Such products based on medicinal plants are susceptible to contamination from collection to product handling. Since the high microbial load may impair product stability, therefore there may be loss of therapeutic efficacy or cause illness to the consumer. Thus, this study aimed to analyze the microbial contamination in lickers available in the municipality of Cuité-PB, through the use of viable microorganisms count in samples, by counting plate method (plating in depth) and the identification of the presence of pathogenic microorganisms, the sowing of samples on selective media and then performing biochemical tests to confirm the pathogens. As it was also performed microculture technique and analyze microscopic morphology to identify filamentous fungi present in the samples. Of 8 samples analyzed, only the sample WHO showed no growth of bacteria, but all samples showed count lower than 10^4 colony forming units per milliliter (CFU / mL) found to comply with the limits specified by the Brazilian Pharmacopoeia for bacteria count. And in all samples growth of fungus occurred, and 75% had the same limits specified by the Brazilian Pharmacopoeia (less than 10^2 cfu / ml). Samples A and B showed the presence of *Staphylococcus aureus* in the sample F was the presence of *Salmonella* spp., and these microorganisms should be absent in lickers preparations. The genera of fungi were identified *Aspergillus* spp., *Mycelia sterilia* and *Penicillium* spp. Given the results presented here, better control it is necessary during handling of these products must be made hygienic and sanitary measures to attempt to decrease the contamination in natural products.

Keywords: Licker, ethnopharmacology, microbiological contamination.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática da metodologia de contagem de microrganismos viáveis.	26
Figura 2 - Esquema da técnica de microcultivo para análise microscópica de fungos filamentosos.....	30
Figura 3 - Contagem microbiana por semeadura em profundidade.....	32
Figura 4 - Identificação de <i>S.aureus</i> em meio Ágar Manitol Salgado.....	35
Figura 5 - Provas Bioquímicas para identificação de <i>Salmonella</i> spp.....	36
Figura 6 – Macromorfologia de fungos encontrados nas amostras	37
Figura 7 – Micromorfologia dos fungos <i>Aspergillus</i> spp. (A) e <i>Penicillium</i> spp. (B) obtidos nas amostras. Aumento 400x.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Contagem de microrganismos viáveis	32
--	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Condições de incubação.	27
Quadro 2 - Pesquisa de patógenos.	28
Quadro 3 - Identificação Bioquímica de <i>Salmonella</i> spp.....	29
Quadro 4 - Descrição da composição dos lambedores.	31
Quadro 5 - Pesquisa de Bactérias Patogênicas.	34
Quadro 6 - Gêneros/espécies identificados.	39

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ASD** – Agar Sabouraud Dextrose
- °C** – Grau Celsius
- DAEC** – *Escherichia coli* difusamente aderente
- DNase** – Desoxirribonuclease
- ETEC** - *Escherichia coli* enterotoxigênica
- EHEC** – *Escherichia coli* enterohemorrágica (O157:H7)
- EIEC** – *Escherichia coli* enteroinvasiva
- EPEC** – *Escherichia coli* enteropatogênica
- EaggEC** – *Escherichia coli* enteroagregativa
- g** - Gramas
- mL** - Mililitros
- mm** – Milímetros
- OMS** – Organização Mundial de Saúde
- pH** - potencial Hidrogeniônico
- RDC** – Resolução da Diretoria Colegiada
- spp.** – Várias espécies de um gênero
- TSI** - Ágar Tríplice Açúcar Ferro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1	Produtos naturais	17
3.1.1	Etnofarmacologia	17
3.1.2	Lambedor	18
3.2	Contaminantes microbiológicos	19
3.2.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	20
3.2.2	<i>Escherichia coli</i>	21
3.2.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
3.2.4	<i>Salmonella spp.</i>	23
4	MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1	Material	24
4.1.1	Amostras	24
4.1.2	Reagentes e meios de cultura	24
4.1.3	Equipamentos e acessórios	24
4.2	Métodos	25
4.2.1	Preparo das amostras	25
4.2.2	Contagem de microrganismos viáveis	25
4.2.3	Pesquisa de patógenos	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1	Contagem de Microrganismos Viáveis	31
5.2	Pesquisa de patógenos específicos	34
5.3	Caracterização microscópica de fungos	37
6	CONCLUSÃO	41
	REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais é uma das mais antigas práticas empregadas para tratamento de enfermidades humanas. É através do conhecimento popular que as informações a respeito de tratamentos com plantas são transmitidas até a atualidade. Apesar da evolução do conhecimento científico, a utilização de métodos alternativos de cura pelo uso das plantas ainda é muito frequente, fato ocorrido principalmente devido ao alto custo dos medicamentos sintéticos e a facilidade de obtenção das mesmas (VASCONCELOS; ALCOFORADO; LIMA, 2010).

Atualmente, nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MACIEL et al., 2002). Segundo Silva et al. (2001), esse tipo de comércio envolve várias espécies e inclui partes, produtos e subprodutos de plantas, sendo a maioria comercializadas somente pelo nome popular. Ainda, nem sempre aqueles que comercializam as plantas medicinais são portadores, de fato, do conhecimento de suas aplicações, interações entre espécies distintas e modos corretos de uso (ARAÚJO et al., 2009).

Os conhecimentos sobre os produtos a base de plantas medicinais são resgatados através dos levantamentos etnofarmacológicos. A etnofarmacologia é um ramo da Etnobiologia/Etnobotânica que trata de práticas médicas, especialmente remédios usados em sistemas tradicionais de medicina (ELISABETSKY; SOUZA, 2004). A abordagem etnofarmacológica fundamenta-se em combinar informações conseguidas junto a comunidades locais que fazem uso da flora medicinal com estudos fitoquímicos, farmacológicos, toxicológicos, botânicos e agrônômicos realizados em laboratórios especializados, como método para o estudo de plantas medicinais (ROCHA-COELHO; SANTOS, 2008).

O lambedor, uma das preparações naturais mais utilizadas pela população, trata-se de uma preparação espessada com açúcar, rapadura ou mel e utilizado geralmente para o tratamento de dores de garganta, tosse e bronquite, pois geralmente é feito a partir de plantas propícias para problemas respiratórios (MATOS, 1998; LORENZI; MATOS, 2002; BEERENDS et al., 2003; MARTINS et al., 2003; LIMA et al., 2006).

Os produtos comercializados, incluindo os fabricados a base de plantas medicinais, estão sujeitos à presença de variados tipos de contaminantes, sendo a contaminação microbiológica de importância significativa na medicina, pois pode oferecer riscos potenciais à saúde dos usuários. Em função da origem da planta, diversos tipos de microrganismos podem estar presentes, desde bactérias até fungos, tendo como possíveis fontes de contaminação a poluição na água de irrigação, atmosfera, solo, condições da coleta, manipulação, secagem e estocagem. Estes são itens importantes a serem considerados no controle de produtos naturais, por permitirem a ocorrência de altos níveis de contaminação microbiana, por vezes envolvendo agentes patogênicos (BUGNO et al., 2005; MANDEEL, 2005; TAKAHASHI et al., 2009).

Desta forma, torna-se necessário a realização de controle de qualidade, que segundo a Resolução RDC nº 67, de 08 de outubro de 2007 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é definido como conjunto de operações (programação, coordenação e execução) com o objetivo de verificar a conformidade das matérias primas, materiais de embalagem e do produto acabado, com as especificações estabelecidas.

Sendo que, a maior preocupação para produtos não estéreis, como o lambedor, é que o produto esteja ausente de microrganismos específicos, como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, por serem patogênicos e com alta probabilidade de causar quadros clínicos infecciosos, ou transferir toxinas indesejáveis (LUCENA, 2004).

Devido ao aumento da procura por produtos naturais, como é o caso do lambedor, torna-se necessário um aumento na fiscalização da qualidade destes produtos, desde o processo da coleta, condições de manipulação, armazenamento até a chegada do produto final ao consumidor. Essa fiscalização favorecera um aumento nas medidas higiênico-sanitárias, fazendo com que ocorra diminuição da contaminação e o produto não perca sua estabilidade e nem suas propriedades terapêuticas, bem como não cause enfermidades no organismo que já se encontra em um estado debilitado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Analisar a contaminação microbiana em lambedores disponíveis no município de Cuité.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a contagem de microrganismos viáveis nas amostras;
- Identificar a presença de microrganismos patógenos;
- Avaliar a compatibilidade com limites microbianos admitidos para produtos não estéreis de origem natural.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Produtos naturais

A utilização de produtos naturais, com fins medicinais, nasceu com a humanidade. Vestígios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas sociedades mais antigas, logo esta prática é considerada uma das mais antigas utilizadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de doenças, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (ANDRADE; CARDOSO; BASTOS, 2007).

Para a Organização Mundial de Saúde (OMS), plantas medicinais são todas aquelas silvestres ou cultivadas, utilizadas como recurso para prevenir, aliviar, curar ou modificar um processo fisiológico normal ou patológico, ou utilizado como fonte de fármacos e de seus precursores.

Atualmente tem-se aumentado a procura e o consumo de produtos naturais no Brasil, onde este uso se baseia quase que exclusivamente no conhecimento empírico, em muitos casos, sem a devida comprovação das ações farmacológicas pregadas pelas pessoas que vendem tais produtos ou os indicam, tornando essa condição um potencial problema para a saúde pública devido ao consumo de forma abusiva e indiscriminada (VEIGA-JÚNIOR et al., 2005).

De acordo com a situação, as plantas medicinais podem ser preparadas para uso interno, devendo ser ingeridas, ou para uso externo, sendo sua utilização feita através de aplicações sobre a pele ou em cavidades do corpo. As frequentemente utilizadas nas mais variadas situações, são as seguintes: cataplasma, decocção, infusão, maceração, inalação, filtração, aluá, vinhos medicinais, tinturas, tisanas, xarope e pós (MATOS, 2002).

3.1.1 Etnofarmacologia

Dentre as diversas definições para etnofarmacologia, a mais aceita é “a exploração científica interdisciplinar dos agentes biologicamente ativos, tradicionalmente empregados ou observados pelo homem” (BRUHN; HOLMSTEDT,

1982). Sendo que esta não se trata de superstições, e sim do conhecimento popular relacionado a sistemas tradicionais de medicina (ELISABETSKY, 2003).

Os estudos etnofarmacológicos trazem resultados de ordem prática, calcados na experiência do grupo estudado. Estes resultados estariam relacionados à porção do conhecimento mantido por sociedades tradicionais, que podem ser empregados em prol de outras sociedades. A pesquisa de plantas medicinais tem sido de grande valia para os estudos botânicos, farmacológicos, fitoquímicos e agrônômicos os quais são necessários para o desenvolvimento de novos fármacos (ELISABETSKY; SOUZA, 2004).

Entre os motivos que explicam a escolha pelo uso das plantas medicinais está a insatisfação com a eficácia, o custo elevado e os efeitos indesejáveis dos medicamentos alopáticos, aliados à admiração pelos “produtos naturais”. Essa valorização das plantas gerou um aumento na busca de informações comprovadas cientificamente sobre sua segurança e eficácia terapêutica (BRESOLIN; CECHINEL FILHO, 2003).

Dentre os “produtos naturais” mais usados pela população está o lambedor (xarope caseiro) como é observado em estudo realizado por Marinho; Silva; Andrade (2011) no município de São José dos Espinharas, localizado no estado da Paraíba, os informantes indicaram diversas formas de preparo dos remédios caseiros, como lambedor (xarope caseiro), chá por decocção e infusão, macerado em água, álcool, cachaça e vinho, banho de assento, compressas e outros, sendo que foi constatado o índice mais elevado para preparação na forma de lambedor (32%), seguido de chá (24%). Destacando que, o lambedor é usado principalmente para as doenças respiratórias, como tosse, gripe, bronquite e asma (HOFFMAN; OLIVEIRA, 2009).

Em estudos realizados por Cruz; Andrade (2008), Sales; Albuquerque; Cavalcanti (2009) e Lopes et al. (2012) o lambedor aparece em segundo lugar na forma de preparação, sendo que em todas as pesquisas citadas a principal forma é o chá.

3.1.2 Lambedor

Grande parte da população que procura nos remédios caseiros a cura para sua enfermidade recorre aos raizeiros para tal fim. Dantas (2002) define raizeiros como aqueles que procuram, recomendam e vendem plantas medicinais em mercados públicos, feiras livres e calçadões, sendo muitas dessas plantas já conhecidas pelo povo. Para Nogueira et al. (2005), uma das características dos raizeiros é ter curiosidade sobre

informações contidas na Farmacopeia Brasileira e achar que os remédios do mato, naturais, são mais substanciosos do que os dos médicos.

É importante ressaltar que os raizeiros, apesar de não alfabetizados ou com pouca escolaridade, passam a vida inteira dedicados à experimentação com plantas e ao tratamento de doenças e conhecem os efeitos das ervas no organismo humano (DANTAS, 2006).

Entre os medicamentos indicados e comercializados pelos raizeiros estão os lambedores, que trata-se de uma preparação espessa, usada no tratamento de dores de garganta, tosse e bronquite. É preparado colocando-se a parte da planta em contato com água fria; leva-se em seguida ao fogo, após fervura, deixa-se atingir a coloração desejada, retira-se a planta e adiciona-se o açúcar deixando no fogo até apurar. São feitos com de plantas propícias para problemas respiratórios (LIMA et al., 2006).

Os lambedores apresentam uma grande importância para a população devido ao fácil acesso e a eficácia no tratamento de problemas respiratórios. Embora sejam bastante consumidos, os conhecimentos sobre a preparação dos lambedores são basicamente empíricos, sendo necessário um estudo de cunho científico sobre tais produtos, para que seja feita a comprovação de sua eficácia e a catalogação das plantas utilizadas em seu preparo, já que a nomenclatura das plantas varia a cada região (CHAVES, 2008).

3.2 Contaminantes microbiológicos

Os produtos não-estéreis são aqueles nos quais se admite conceitualmente a presença de carga microbiana, embora limitada, tendo em vista as características de sua utilização (PINTO; KANEKO; OHARA, 2000). Sendo o lambedor considerado um produto oral que não necessita de esterilidade, portanto considerado um produto não estéril.

A carga microbiana elevada pode comprometer a estabilidade do produto, conseqüentemente, pode haver perda da eficácia terapêutica, por degradação do princípio ativo ou por alteração de parâmetro físico fundamental para a sua atividade, como o pH. Além disso, as alterações das propriedades físico-químicas podem afetar a ação terapêutica por comprometer a biodisponibilidade do produto e a aceitação do mesmo pelo consumidor (PINTO; KANEKO; OHARA, 2000).

Os microrganismos considerados geralmente patógenos podem causar infecções inaparentes ou assintomáticas. Podendo causar doença se, as bactérias ou reações imunológicas à sua presença, prejudicarem suficientemente o hospedeiro. As bactérias patogênicas identificam-se por sua habilidade de transmissão, aderência, bem como invasão de células e tecidos do hospedeiro, toxicidade e capacidade de escapar do sistema imunológico do hospedeiro (BROOKS et al., 2009). Dessa forma, a bactéria pode destruir o hospedeiro ou ser destruída por ele. Além disso, ela pode conviver em latência (sem manifestar-se) ou ser eliminada, podendo ser responsável por sequelas de intensidade variável (GERMANO; GERMANO, 2011). Assim as doenças causadas por estes microrganismos dependem que fatores inerentes ao produto, ao microrganismo e ao indivíduo afetado.

Dessa forma se torna necessário a realização do controle microbiológico, que tem como função determinar o número total de microrganismos presentes em preparações não estéreis, cosméticos e drogas vegetais, além de visar a identificação dos patogênicos, tais como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. e que não devem estar presentes (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988; SIMÕES et al., 2007).

3.2.1 *Staphylococcus aureus*

O nome do gênero *Staphylococcus* se refere ao fato de que as células destes cocos Gram positivos crescem com um perfil que se assemelha a cachos de uvas; no entanto, os organismos em material clínico podem também aparecer como células únicas, pares, ou cadeias curtas (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2006).

A espécie mais importante de estafilococos é *Staphylococcus aureus*, assim denominada pela pigmentação amarela de suas colônias, e são caracterizados como anaeróbicos facultativos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

A eficiência da disseminação de *S. aureus* se deve, em parte, à grande versatilidade desse microrganismo. A capacidade de se adaptar rapidamente a diferentes ambientes, muitas vezes hostis devido ao pH, umidade, pressão osmótica ou deficiência de nutrientes, possibilita não só a colonização do homem como do ambiente ao seu redor, criando reservatórios de células aptas a colonizar outros indivíduos (CEPEDA et al., 2005; KNIEHL; BECKER; FORSTER, 2005). De fato, *S. aureus* é uma bactéria

comum na microbiota humana, colonizando de forma persistente as narinas de cerca de 20% da população e de forma intermitente 30%. A maioria dos portadores são assintomáticos e o processo de infecção normalmente está associado a algum fator que diminui a resposta imunológica do indivíduo, como doenças, tratamentos mais agressivos, ou procedimentos médicos invasivos, que abrem uma via de acesso para os microrganismos (GORDON; LOWY, 2008; KURODA et al., 2001).

S. aureus causa doença pela produção de toxina ou por invasão direta e destruição tecidual. As manifestações clínicas de algumas doenças estafilocócicas são quase que exclusivamente o resultado da atividade de uma toxina (por exemplo, síndrome da pele escaldada estafilocócica e intoxicação alimentar), enquanto outras doenças resultam da proliferação dos organismos, o que leva à formação de abscessos e a destruição de tecidos (por exemplo, infecção cutânea, endocardite e pneumonia). (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2006). A endocardite é a complicação mais severa do *S.aureus* e em 40% dos casos ela se desenvolve em ambiente hospitalar (BOUCHER; COREY, 2008).

As linhagens de *Staphylococcus aureus* apresentam como característica a capacidade de desenvolver rapidamente resistência a agentes antimicrobianos. O uso extensivo de antibióticos resultou em um aumento na resistência de *S. aureus* em isolados clínicos. Em algumas áreas, mais de 95% das ocorrências de infecções por *S. aureus* são devido a cepas resistentes à penicilina ou ampicilina, e mais de 50% apresentam resistência a meticilina, uma das últimas alternativas para o tratamento de infecções por este organismo (FATTOM et al., 2004).

3.2.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli é um bacilo Gram-negativo da família Enterobacteriaceae, utilizado como indicador de contaminação fecal, por pertencer a microbiota normal do trato entérico do homem (RODRIGUES et al., 2008). Apresenta propriedades semelhantes às as outras Enterobacteriaceae, são anaeróbicas facultativas, oxidase-negativas, fermentam a glicose e podem gerar energia por redução de nitratos e nitritos. É uma bactéria não esporulada, em sua maioria móvel e cresce em temperaturas de 18 a 44 °C sendo 37 °C é a temperatura ideal (FERREIRA; KNOBL, 2009).

Causa infecções extra-intestinais e intestinais (cepas diarréicogênicas não constituintes da microbiota), tanto em pessoas saudáveis como em imunocomprometidos. Há pelo menos seis variedades de *E. coli* diarréicogênicas denominadas: (1) ETEC - *E. coli* enterotoxigênica; (2) EHEC - *E. coli* enterohemorrágica (O157:H7); (3) EIEC - *E. coli* enteroinvasiva; *E. coli* enteroaderente com três subtipos distintos: (4) EPEC - *E. coli* enteropatogênica; (5) EaggEC - *E. coli* enteroagregativa e ; (6) DAEC - *E. coli* difusamente aderente (PROCOP; COCKERILL, 2004).

A eficiência de *E. coli* como um patógeno se deve ao fato da bactéria ser: o bacilo Gram negativo mais comum isolado de pacientes com sepse; responsável por causar mais de 80% de todas as Infecções do Trato Urinário adquiridas na comunidade, bem como muitas infecções hospitalares; e uma causa relevante de gastroenterite em países em desenvolvimento (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2006).

3.2.3 *Pseudomonas aeruginosa*

As espécies de *Pseudomonas* são bastonetes Gram Negativos, usualmente, móveis, retos ou ligeiramente curvos, tipicamente dispostos aos pares. Os micro-organismos utilizam carboidratos através da respiração aeróbica, tendo o oxigênio como aceptor final de elétrons. Embora descritos como aeróbios obrigatórios, podem crescer de modo anaeróbio usando o nitrato ou arginina como um aceptor alternativo de elétrons (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2006).

A *Pseudomonas aeruginosa* é uma das espécies bacterianas não fermentativas mais prevalentes em espécimes clínicas de pacientes hospitalizados (TSAKRIS et al. 2000; KARLOWSKY et al., 2005), sendo a principal causadora de pneumonia nosocomial em hospitais brasileiros (SADER et al., 2001; TORRES et al., 2004). É citado como causador de infecções no trato urinário; dermatites, infecções tegumentares e ósseas; ceratites e uma variedade de infecções sistêmicas; particularmente em pacientes imunocomprometidos, com queimaduras severas, câncer ou Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), sendo o microrganismo mais encontrado em infecções respiratórias agudas em pacientes submetidos à ventilação mecânica e em infecções respiratórias crônicas em pacientes com fibrose cística (KIPNIS; SAWA; WIENER-KRONISH, 2006). Além de apresentar fatores de virulência capazes de inativar o sistema imune e a ação de muitos antibióticos (KONEMAM, 2001).

Infecções devido a *P. aeruginosa* são particularmente problemáticas por causa da resistência intrínseca que elas desenvolvem para múltiplas classes de antibióticos e a habilidade delas adquirirem resistência adaptável durante um curso terapêutico (KOLLEF, 2005). O surgimento de *P. aeruginosa* multirresistente a drogas tem sido relatado como problema em hospitais do mundo todo (BRATU et al., 2005; GALLES et al., 2001).

Essas bactérias normalmente habitam o solo, água e vegetais, mas também piscinas, banheiras, soluções de lente de contato e até drogas ilícitas podem ser sítios de contaminação (PATERSON, 2006).

3.2.4 *Salmonella* spp.

Os microrganismos do gênero *Salmonella* são móveis e geralmente não fermentam lactose e sacarose (KONEMAN et al., 2001; BOPP et al., 2003). A maioria dos sorotipos desse gênero são patogênicos ao homem, apresentando diferenças de sintomatologia em decorrência da variação no mecanismo de patogenicidade, além da idade e da resposta imune do hospedeiro (GERMANO; GERMANO, 2003).

As salmonelas são habitantes comuns do trato intestinal de vários animais, principalmente aves domésticas e bovinos. Em condições sanitárias precárias, elas podem contaminar alimentos. Produtos à base de carne são particularmente suscetíveis à contaminação por *Salmonella*. (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Segundo Murray, Rosenthal, Pfaller (2006), existem quatro formas de infecção por *Salmonella*: gastroenterite, septicemia, febre entérica (febre tifoide e paratifoide) e colonização assintomática.

O termo salmonelose é geralmente usado para designar as infecções intestinais causadas pelas *Salmonellas* não pertencentes aos sorotipos Typhi e Paratyphi, que causam as febres tifoides e paratifoide (FOCACCIA, 2005).

A dose infectante para infecções por *Salmonella* Typhi é baixa, assim como a transmissão de pessoa a pessoa é comum. Em contraste, um grande inóculo (p. ex., 10^6 a 10^8 bactérias) é necessário para outros sorotipos de *Salmonella* (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Amostras

Foram adquiridas oito amostras de lambedores (xarope caseiro/artesanal) na feira livre do município de Cuité - Paraíba.

4.1.2 Reagentes e meios de cultura

- Ágar MacConkey;
- Ágar Caseína-Soja (Meio I);
- Ágar Sabouraud-Dextrose (Meio II);
- Ágar Cetrimida;
- Ágar Manitol;
- Ágar Verde Brilhante;
- Peptona Caseína Soja Caldo;
- Ágar DNase;
- Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI);
- Ágar Lisina Ferro;
- Ágar Citrato de Simmons;
- Ágar Uréia Base (Christensen);
- Ácido Clorídrico 1N;
- Água Destilada;
- Água Destilada Estéril.

4.1.3 Equipamentos e acessórios

- Balança Semi analítica, Bel Engineering, Mark®;
- Estufa de Secagem e Esterilização, Biopar®;
- Estufa Bacteriológica, Qualxtron®;

- Autoclave Vertical, Phoenix®;
- Manta Aquecedora;
- Pipetas Automáticas, Digipet®;
- Bico de Bunsen;
- Banho-Maria Termostático, Hydrasan®;
- Microscópio Óptico, Coleman®;
- Vidrarias (Placas de Petri, Erlenmeyers, Béqueres, Bastões de Vidro, Balões de Fundo Chato, Tubos de Ensaio, Pipeta Graduada);
- Ponteiras;
- Alça Bacteriológica;
- Espátulas de Alumínio;
- Pissetas com Álcool a 70%;
- Lâminas;
- Lamínulas;
- Algodão Estéril;
- Azul de Metileno.

4.2 Métodos

4.2.1 Preparo das amostras

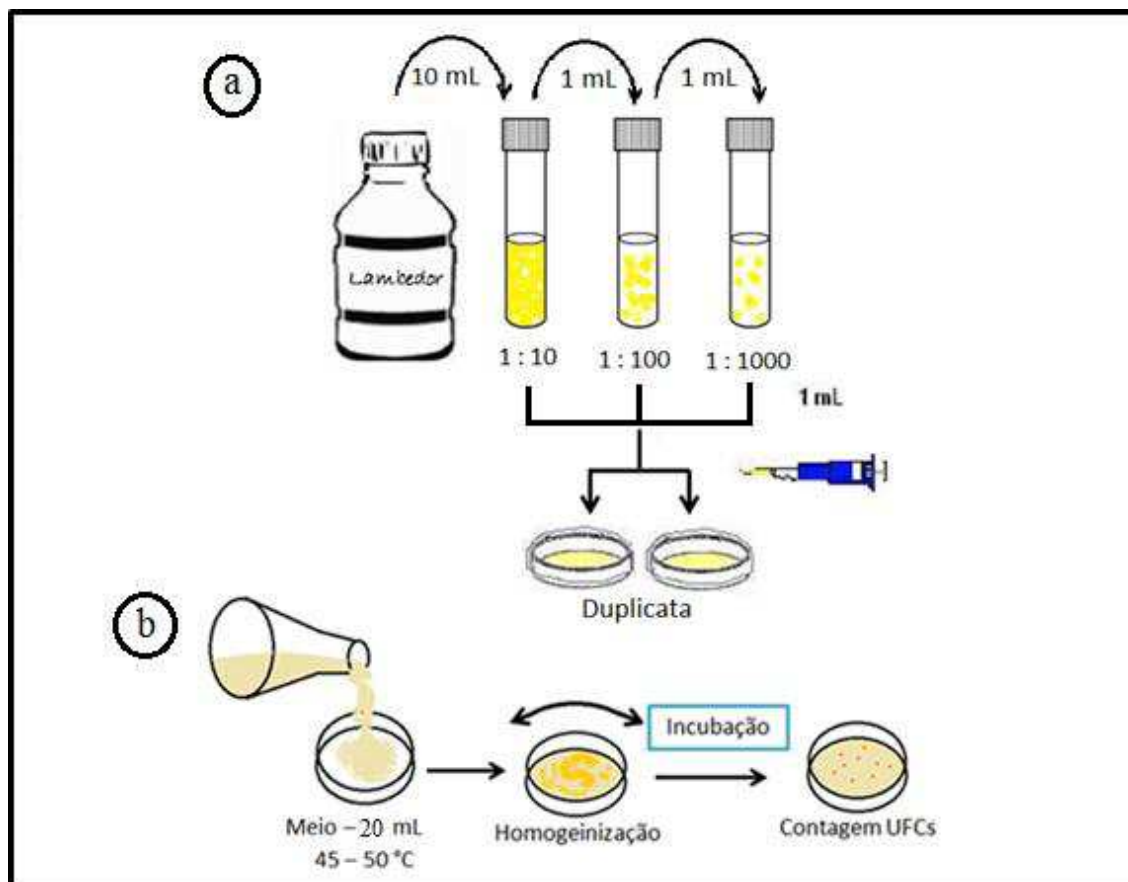
As amostras foram numeradas em ordem alfabética (A, B, C, D, E F, G e H) e foi realizada a assepsia com auxílio de gazes embebidas com álcool 70° GL.

4.2.2 Contagem de microrganismos viáveis

4.2.2.1 Diluição das amostras

Após a realização da assepsia externa das embalagens, foi transferido 10 mL da amostra para um recipiente contendo 90 mL de Peptona Caseína Soja Caldo para obtenção da diluição 1:10, e em seguida realizou-se mais duas diluições em série obtendo-se diluições 1:100 e 1:1000 (Figura 1a).

Figura 1 - Representação esquemática da metodologia de contagem de microrganismos viáveis.



Fonte: Pesquisadora, 2015.

4.2.2.2 Contagem em placas (Método *Pour-plate*)

Um dos métodos indicados na Farmacopeia Brasileira para contagem de microrganismos viáveis é o de contagem em placas, utilizando a técnica de semeadura em profundidade, como mostrado na figura 1.

Para a contagem de bactérias foi introduzido 1 mL de cada diluição (1:10, 1:100, 1:1000) em 2 placas de Petri estéreis (20 x 100 mm), pois o procedimento deve ser realizado em duplicata. Em seguida, foi vertido 20 mL do meio a 50 °C em cada placa para posterior homogeneização, utilizando movimento circulares (em forma de oito). (Figura 1b).

Para contagem de fungos, o procedimento realizado foi o mesmo utilizado para a contagem de bactérias, conforme as condições de incubação apresentadas no quadro 1.

Após a homogeneização das placas, esperou-se a solidificação dos meios e em seguida as placas foram invertidas e incubadas como descritas a seguir:

Quadro 1 - Condições de incubação.

Microrganismo	Meio de Cultura	Temperatura	Duração
Bactérias	Ágar Caseína-Soja	30 a 35 ° C	3 a 5 dias
Fungos	Ágar Sabouraud Dextrose	20 a 25 ° C	5 a 7 dias

Fonte: Farmacopeia Brasileira, 2010.

4.2.2.3 Contagem de Colônias

A contagem nas placas foi realizada apenas naquelas que apresentaram no máximo 300 colônias de bactérias e 100 de fungos. E foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$N = \frac{(P1 + P2)}{2} \times D$$

Onde:

N = N° de UFC/ g ou mL

P1 = N° de colônias na placa 1

P2 = N° de colônias na placa 2

D = Diluição utilizada

4.2.3 Pesquisa de patógenos

Foi transferido com alça, para placa com meio seletivo, o material enriquecido em meio não seletivo, usando o método de estrias em superfície. Em seguida, as placas foram encubadas por 24 à 48h à temperatura de 35°C. Os meios seletivos utilizados para pesquisa dos respectivos microrganismos estão descritos no Quadro 2, assim como as características que, após o crescimento, foram analisadas.

Quadro 2 - Pesquisa de patógenos.

Microrganismo	Meio Seletivo	Características Gerais das Colônias
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ágar Cetrimida	Pigmento verde – azulado.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ágar Manitol	Alteração da coloração do meio para a cor amarela.
<i>Escherichia coli</i>	MacConkey	Cor vermelho – tijolo.
<i>Salmonella</i>	Ágar Verde Brilhante	Razoavelmente grandes e produzem zona avermelhada ao redor.

Fonte: Farmacopeia Brasileira (1988).

Para as amostras que apresentaram colônias com as características determinadas anteriormente, foram realizadas os seguintes procedimentos para confirmação de cada patógeno em análise:

4.2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Foi realizado o teste de desoxirribonuclease (DNase), onde inicialmente foram preparadas placas contendo ágar de teste de DNase. Após solidificação, a colônia suspeita foi repicada para a placa contendo DNase, que foi incubada a 30-37°C durante 24 horas. Em seguida, foi adicionada uma pequena quantidade de Ácido Clorídrico 1 N e observado se ocorreu a formação de um halo transparente, que confirma a presença de *Staphylococcus aureus*.

4.2.3.2 *Salmonella* spp.

Para confirmação da presença de *Salmonella* spp. foram realizados os seguintes testes:

- Ágar tríplice açúcar-ferro (TSI): A colônia suspeita foi inoculada, furando a base não inclinada com fio reto e em seguida foi espalhada na superfície inclinada do TSI contido em tubo. O meio apresenta

coloração rosa avermelhada com centros pretos e a produção de gás H₂S quando for positivo.

- Lisina-descarboxilase: A colônia foi inoculada furando a base não inclinada duas vezes com fio reto, seguindo-se com o espalhamento pela superfície inclinada do tubo contendo ágar lisina-ferro. Ocorrendo alteração do meio de esverdeado para púrpura azulada quando o resultado for positivo e alteração do meio para a cor amarela nos casos negativos.
- Crescimento em citrato: A colônia foi repicada apenas na superfície do ágar citrato de Simmons contido em tubo inclinado. Observando que a coloração do meio muda de verde para azul intenso, se positivo. Permanecendo na cor inicial (verde), se for negativo.
- Teste de urease: O repique da colônia suspeita também ocorreu apenas na superfície do tubo inclinado contendo ágar de ureia. Verificando que ocorre alteração do meio para cor de rosa, se positivo e, permanece sem alteração da sua cor original (amarelo palha), se for negativo.

Em seguida, todos os tubos foram incubados a 30-37°C por 24 horas e em seguida analisados de acordo com o quadro 3 para confirmação da presença de *Salmonella* spp.

Quadro 3 - Identificação Bioquímica de *Salmonella* spp.

Microrganismo	Citrato	Hidrolise da Uréia	Lisina	H₂S
<i>Salmonella</i> spp.	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo

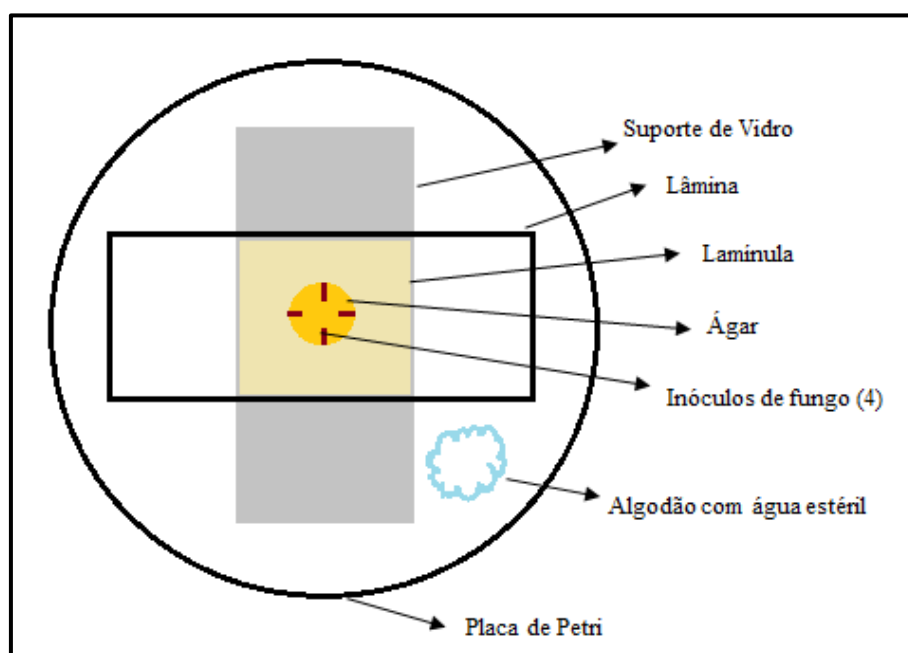
Fonte: KONEMAN et al., 2001.

4.2.3.3 Identificação de Fungos

Foi realizada a técnica de microcultivo (RIDDELL, 1950) para identificação de fungos filamentosos (figura 2). Inicialmente foi colocado sobre uma lâmina esterilizada, contida em uma placa de Petri estéril, um cubo de ASD. A lâmina foi posicionada sobre

um suporte, formado por duas outras lâminas. Em seguida o fungo foi semeado, a partir de repique recente, nos 4 lados do cubo de ágar e recoberto com uma lamínula esterilizada. Dentro da placa estéril também foi introduzido um pequeno chumaço de algodão estéril embebido com água destilada estéril, para evitar a dessecação do meio de cultura, durante o crescimento do fungo. Para finalizar o procedimento, a placa foi tampada e deixada à temperatura ambiente por 7 a 10 dias.

Figura 2 - Esquema da técnica de microcultivo para análise microscópica de fungos filamentosos.



Fonte: Pesquisadora, 2015.

Posteriormente, foi retirada a lamínula com auxílio de uma pinça, e adicionada uma gota de corante azul de metileno e em seguida montado sobre uma lâmina. O cubo de ágar, que ficou sobre a lâmina, foi retirado e em seu lugar foi adicionada outra gota de corante azul e recoberto com uma lamínula. Em seguida, foi observado em microscópio óptico com objetiva de 40 X, as características morfológicas dos fungos, para identificação destes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 8 amostras de lambedores de dois produtores, apresentando a composição descrita no quadro 4:

Quadro 4 - Descrição da composição dos lambedores.

AMOSTRA	NOME FANTASIA	COMPOSIÇÃO ROTULADA
A	Hortelã	Hortelã, menta, eucalipto, mentol, limão e sacarose.
B	Cupim do Cajueiro	Cupim de cajueiro, agrião, cumaru, cordão de frade, marapuama, mastruz, cidreira, urtiga branca, eucalipto, açúcar mascavo.
C	7 Ervas	Mel de abelha, gengibre, hortelã, agrião, cumaru, alho, malva rosa, limão, romã e sacarose.
D	Cebolinha Branca	Cebolinha branca, mel de abelha, romã, gengibre, própolis, hortelã, agrião, saion, jatobá, papaconha, cumaru, angico, aroeira, baba tenó, mastruz, eucalipto e sacarose.
E	7 Ervas	Água, limão, sacarose, capim santo, cidreira, mastruz, corama, fedegoso, angico, aroeira, cumarú, quina-quina, urtiga branca e jatobá.
F	Alho	Alho, água, limão, sacarose, mastruz, corama, angico, aroeira, cumarú.
G	Hortelã	Água, limão, sacarose, hortelã e mentol.
H	Abacaxi	Abacaxi, limão e sacarose.

5.1 Contagem de Microrganismos Viáveis

Os resultados obtidos na contagem microbiológica dos lambedores estão demonstrados na tabela 1. Das 8 amostras analisadas, apenas 1 não apresentou crescimento bacteriano e em todas as amostras ocorreu crescimento fúngico. Os níveis de microrganismos aeróbicos mesófilos viáveis totais encontrados variaram de $0,5 \times 10^1$ a 250×10^1 para bactérias e de $0,5 \times 10^1$ a 350×10^1 UFC/ mL. A figura 3 mostra exemplos do crescimento de colônias nos meios ACS e ASD.

Tabela 1 - Contagem de microrganismos viáveis.

Produto	Bactérias	Fungos
	UFC/ mL	
A	$5,0 \times 10^1$	$5,0 \times 10^1$
B	$3,0 \times 10^1$	$3,5 \times 10^1$
C	-	$5,0 \times 10^1$
D	$4,5 \times 10^1$	$0,5 \times 10^1$
E	$0,5 \times 10^1$	350×10^1
F	$2,0 \times 10^1$	10×10^1
G	$0,5 \times 10^1$	12×10^1
H	250×10^1	$0,5 \times 10^1$

Figura 3 - Contagem microbiana por sementeura em profundidade.



Fonte: Arquivos da autora, 2015.

A contaminação microbiana de um produto pode acarretar alterações em suas propriedades físicas e químicas e ainda caracteriza risco de infecção para o usuário. (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

A amostra C não apresentou crescimento bacteriano o que pode ter ocorrido devido a presença de Romã (*Punica granatum*) que segundo estudo realizado por Negi e Jayaprakasha (2003) o romã é rico em polifenóis, que possuem um forte efeito antisséptico e também atividade antibacteriana contra gram-negativas e gram-positivas.

Além da presença de Malva-rosa (*Pelargonio graveolens*) que também possui entre suas indicações terapêuticas, a atividade antimicrobiana (AL-SNAFI, 2013).

Verificou-se que 100 % dos lambedores analisados apresentaram populações de bactérias inferiores a 10^4 UFC/ mL, assim todas as amostras se encontram dentro dos padrões estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira para contagem de bactérias em produtos não estéreis (inferiores a 10^4 UFC/ mL) e foi evidenciado também que 75% das populações de fungos mostraram-se dentro dos padrões exigidos pela Farmacopeia Brasileira (2010), ou seja apresentaram valores inferiores a 10^2 UFC/ ml.

Além das plantas medicinais citadas anteriormente, outras plantas presentes nas amostras também apresentam atividade antibacteriana e também antifúngica, o que justifica o fato da maioria das amostras se encontra de acordo com as especificações da Farmacopeia Brasileira (2010). São espécies vegetais que possuem atividade antifúngica: Hortelã (*Mentha piperita*); Limão (*Citrus limon*); Caju (*Anacardium occidentale*); Cordão de frade (*Leonotis nepetifolia*); Mastruz (*Chenopodium ambrosioides*); Urtiga-branca (*Lamium álbum*); Eucalipto (*Eucalyptus globulus*); Gengibre (*Zingiber officinale*); Angico (*Piptadenia rigida* Benth); Aroeira (*Astronium urundeuva*); Fedegoso (*Senna occidentalis*) (CORZO-MARTÍNEZ et al., 2007; DI STASI et al., 1989; LORENZI E MATOS, 2002).

E algumas delas possuem atividade antibacteriana, o Alho (*Allium sativum*), Hortelã (*Mentha piperita*), Gengibre (*Zingiber officinale*), Cumaru (*Amburana cearenses*) (BRAVO et al., 1999; CORZO-MARTÍNEZ et al., 2007; ALVARENGA, 2007).

Em estudo realizado por Bugno et al. (2005), que avaliaram 91 espécies vegetais comercializadas na cidade de São Paulo, foi constatado que apresentaram populações de bactérias superiores a 10^4 cerca de 32,0% das drogas vegetais analisadas e 63,1% das populações de fungos superiores a 10^2 /g, sendo assim, os maiores níveis de população encontrada também foi de população de fungos e Zaroni et al. (2004) analisou 72 amostras obtidas em 7 regiões do estado do Paraná, e também verificaram que 72,22 % das bactérias apresentaram populações superiores a 10^4 e 95,83% dos fungos superiores a 10^2 .

Em estudo realizado por Barbosa et al. (2010), avaliando a qualidade microbiológica de plantas medicinais cultivadas e comercializadas em Montes Claros, MG, concluíram que um dos motivos da maior contaminação fúngica seria o contato das plantas com o solo, tornando importante a conscientização de agricultores no

sentido de adequarem às boas práticas do cultivo de plantas e, conseqüentemente, assegurar a qualidade microbiológica das mesmas.

5.2 Pesquisa de patógenos específicos

De acordo com as especificações da Farmacopeia Brasileira (2010), em produtos de origem vegetal em preparação para uso oral não estéreis não deve ocorrer a presença de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp e *Pseudomonas aeruginosa*. O quadro 5 mostra os resultados obtidos na pesquisa de patógenos:

Quadro 5 - Pesquisa de Bactérias Patogênicas.

Amostras	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella</i>
A	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
B	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
C	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
D	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
E	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
F	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
G	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
H	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
I	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Como visto no quadro acima, nas amostras A e B foi detectada a presença de *Staphylococcus aureus* em Ágar Manitol Salgado (Figura 4) e depois confirmada no meio DNase, essa contaminação pode ter sido originada a partir de portadores assintomáticos durante o processo de manipulação. Pois, segundo Oliveira et al. 2012 esse microrganismo podem ser encontrado no ambiente de circulação do ser humano, sendo o próprio homem seu principal reservatório, além de estar presente em diversas partes do corpo, como fossas nasais, garganta, intestinos e pele.

Figura 4 - Identificação de *S.aureus* em meio Ágar Manitol Salgado.



Fonte: Arquivos da autora, 2015.

Esses microrganismos podem provocar doenças, que vão desde uma simples infecção (espinhas, furúnculos e celulites) até infecções graves (bacteremia, pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia, osteomielite) (SANTOS et al. 2007).

O *S. aureus* é frequentemente isolado de feridas cirúrgicas infectadas, que podem representar focos para desenvolvimento de infecções sistêmicas. A broncopneumonia estafilocócica é observada usualmente em idosos, e está associada à pneumonia viral como fator predisponente. A pneumonia nosocomial produzida por *S. aureus* ocorre em casos de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), intubação e aspiração, e as doenças malignas subjacentes são reconhecidas como fatores de risco para o desenvolvimento de uma bacteremia por *S. aureus* (CARVALHO et al. 2005; CAVALCANTI et al. 2005)

Por ser um dos componentes normais da microbiota da pele, pacientes que fazem uso de cateteres endovenosos podem ser infectados pelo *S. aureus* por meio de sua invasão a partir do local de inserção do cateter. A bactéria é capaz de migrar pelo cateter até chegar à circulação sanguínea, podendo levar a quadros graves de bacteremia, principalmente se a microbiota abrigar cepas resistentes à meticilina, denominadas MRSA (*S. aureus* resistente à meticilina) (GOSBELL, 2005).

A bacteremia pode causar infecções em sítios anatómicos distantes, como endocardites, osteomielites, piodartrites e formação de abscessos metastáticos, em particular em pele, tecidos subcutâneos, pulmões, fígado, rins e cérebro (CAVALCANTI et al. 2005; FOSTER, HOOK 1998).

Como mostrado anteriormente na Tabela 4, a amostra F apresentou crescimento de *Salmonella* spp. em ágar verde brilhante com as características necessárias na realização das provas bioquímicas para confirmação da presença deste microrganismo como mostra a Figura 5, ou seja, resultados positivos para lisina e produção de H₂S e Negativos para citrato e ureia, caracterizando a presença de *Salmonella* spp.

Figura 5 - Provas Bioquímicas para identificação de *Salmonella* spp.



Fonte: Arquivos da autora, 2015.

A maioria dos sorotipos do gênero *Salmonella* é patogênica ao homem, apresentando diferenças de sintomatologia em decorrência da variação no mecanismo de patogenicidade, além da idade e da resposta imune do hospedeiro (GERMANO e GERMANO 2003; TRABULSI e ALTERTHUM, 2004) A salmonelose é uma das principais zoonoses para a saúde pública em todo o mundo (LOURENÇO, REIS e VALLS, 2004) exteriorizando-se pela suas características de endemicidade, alta morbidade e, sobretudo, pela dificuldade da adoção de medida no seu controle

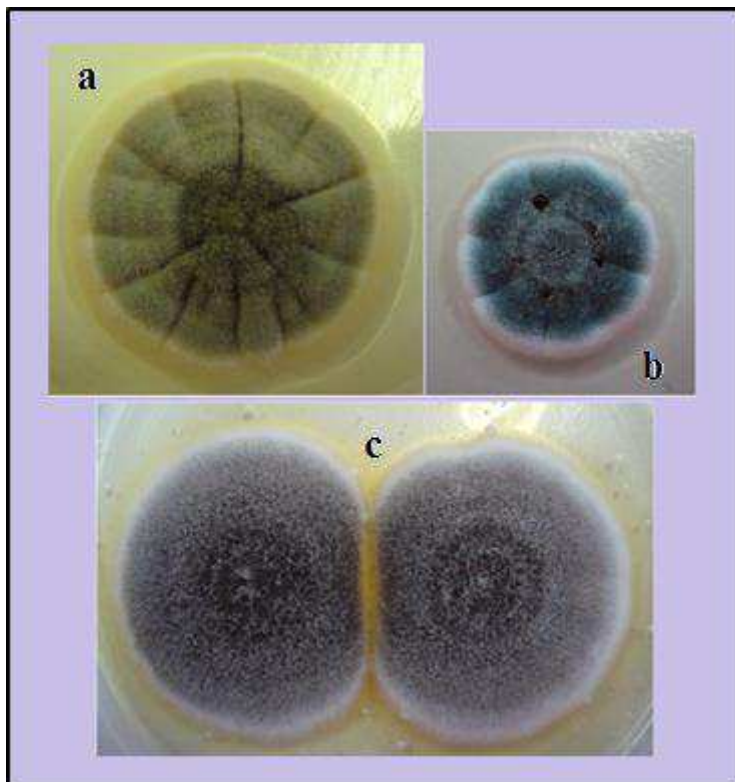
(GUERIN; VOLD; VILTSLAND, 2005). Além da importância das medidas preventivas para evitar o risco de infecção da salmonelose na população humana, o controle desta doença é de grande interesse para a economia dos países em que ocorrem esses surtos.

A infecção por *Salmonella* em humanos pode ocasionar enterite, gastroenterite e febre. Sendo que o sinal clínico mais comum é a gastroenterite com náusea, vômito e diarreia com ou sem febre (TAITT, SHUBIN e ANGEL, 2004).

5.3 Caracterização microscópica de fungos

A Farmacopeia Brasileira (1988) não traz nenhuma exigência sobre a presença de fungos específicos, mas devido a grande patogenicidade de algumas espécies, os fungos foram analisados microscopicamente, 40x, para possível identificação através de suas características morfológicas. As figuras 6 e 7 representam as características morfológicas de alguns fungos encontrados nas amostras analisadas.

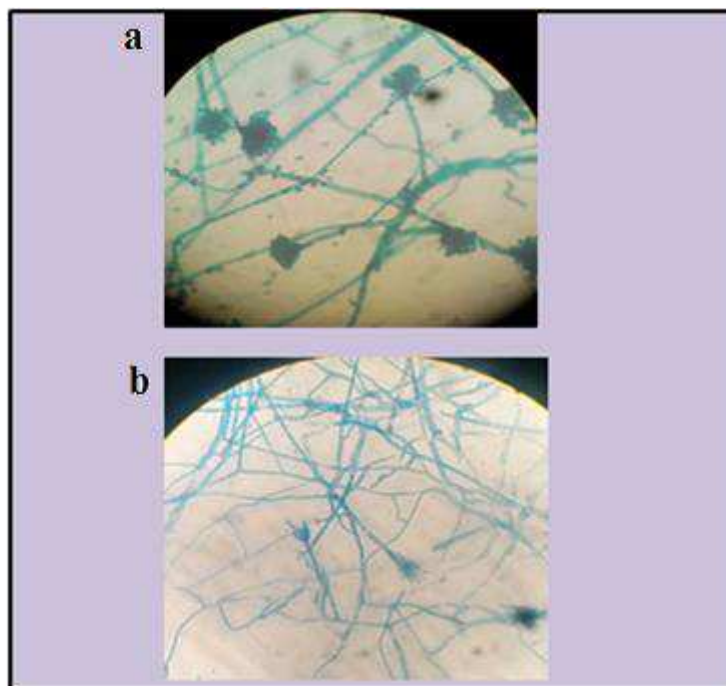
Figura 6 – Macromorfologia de fungos encontrados nas amostras



Fonte: Arquivos da autora, 2015.

Na figura 6a pode-se observar a presença de colônias esverdeadas, com aspecto aveludado e, na figura 6b verificou-se colônias de coloração esverdeada e aspecto aveludado e na 6c observou-se colônias com aspecto aveludado e preto-acinzentada. Sendo que, em nenhuma das colônias obteve-se a formação de exsudato.

Figura 7 – Micromorfologia dos fungos *Aspergillus* spp. (A) e *Penicillium* spp. (B) obtidos nas amostras. Aumento 400x.



Fonte: Arquivos da autora, 2015.

Na figura 7a pode-se observar as características microscópicas de *Aspergillus* spp., que trata-se de um fungo filamentoso septado, onde o conidióforo apresenta uma vesícula arredondada contendo esterigmas que são produtores de esporos. E na imagem 7b observa-se a presença de *Penicillium* spp., um fungo filamentoso septado, onde os conidióforos possuem ramificações secundárias, produzindo várias fiálides e, apresentando forma de vassoura com ramificações.

Os resultados obtidos pela análise microscópica estão expostos no quadro 6:

Quadro 6 - Gêneros/espécies identificados.

Amostras	Gêneros/espécies
A	<i>Penicillium</i> spp.
B	<i>Aspergillus</i> spp.
C	<i>Mycelia sterilia</i>
D	<i>Mycelia sterilia</i>
E	<i>Aspergillus</i> spp.
F	<i>Aspergillus</i> spp.
G	<i>Aspergillus</i> spp.
H	<i>Aspergillus</i> spp.
I	Não identificado

Observando os resultados notamos que, todas as amostras de lambedor apresentaram contaminação fúngica, sendo que em 62,5% das amostras houve o crescimento de colônias de *Aspergillus* spp., seguidos de *Mycelia sterilia* e do gênero *Penicillium* spp. Estes resultados corroboram com os de Furlaneto, Marins e Endo (2004) que analisaram dez espécies vegetais comercializadas em Londrina no estado do Paraná e encontraram o gênero *Aspergillus* em maior quantidade de amostras. Analisando microscopicamente amostras de boldo, Furlaneto et al. (2003) também detectaram a presença de *Aspergillus* sp. em 47% das amostras.

Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são produtores de micotoxinas que são metabólicos tóxicos produzidos enquanto os fungos estão se reproduzindo (VISOTTO et al., 2008).

A produção de micotoxinas depende do crescimento fúngico, portanto pode ocorrer em qualquer época do cultivo, colheita, ou estocagem dos grãos. Contudo, crescimento de fungos e produção de toxinas não são sinônimos, porque nem todos os fungos produzem toxinas. Por outro lado, as micotoxinas podem permanecer no produto mesmo depois que os fungos responsáveis tenham morrido (TANIWAKI; SILVA, 2001).

Dentre as micotoxinas, as aflatoxinas são as que podem causar maiores danos aos seres humanos e animais, pela sua alta toxicidade e ampla ocorrência (MALLMANN et al., 2003). Os principais fungos produtores de aflatoxinas são *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. Esses fungos estão amplamente

distribuídos na natureza e se desenvolvem bem em temperaturas acima de 25°C e umidade relativa acima de 80 % (NORDIN, 1995; SHUNDO et al., 2003).

No Brasil, o clima quente e úmido e as não tão adequadas condições tecnológicas de plantio, colheita, secagem e armazenamento dos produtos agrícolas propiciam condições favoráveis à proliferação de fungos produtores de aflatoxinas. Isso constitui um grave problema no plantio de plantas medicinais e na preparação de produtos a base destas, assim como um grande problema de saúde pública (COLAÇO et al., 1994). O maior problema decorre da ação crônica das aflatoxinas no homem, pois ocasionam desde alergias até distúrbios imunológicos e o aparecimento de câncer hepático (AMARAL et al., 2006; LACAZ et al., 2002).

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados podemos concluir que:

- As oito amostras apresentaram contagem de bactérias dentro dos limites farmacopéicos;
- Duas das amostras analisadas (E e G) apresentaram contagem de fungos acima dos limites aceitáveis (10^2);
- Em três amostras foram identificados microrganismos patogênicos, duas apresentaram *S. aureus* (A e B) e uma *Salmonella* ssp. (F);
- Apenas três amostras (C, D e H) apresentaram limites microbianos compatíveis com produtos não estéreis de origem natural.

Assim são necessárias medidas higiênico-sanitárias que deve ocorrer desde o cultivo da planta até a manipulação do produto e seu adequado armazenamento para que ocorra a diminuição dessa contaminação e estes produtos possam estar adequados para o consumo.

REFERÊNCIAS

- AL-SNAFI, A. E. The Pharmaceutical Importance of *Althaea officinalis* and *Althea rosea*: a Review. *Intern. J. of Pharm Tech Res.* v. 5, n. 3, p 1378 – 1385, 2013.
- AMARAL, K. A. et al. Aflatoxinas em produtos à base de milho comercializados no Brasil e riscos para a saúde humana. *Ciên. Tecnol. Aliment.*, v. 26. n.2 p.336-342, 2006.
- ALVARENGA, A.L. et al. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v.9, n.4, p.86-91, 2007.
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira, vol. 1. 4. ed. São Paulo, 1988.
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira, vol. 1. 5 Ed. Brasília, 2010.
- ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. *J. of Ethnopharm.* v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.
- ARAÚJO, A.C. et al. Caracterização socio-econômico-cultural de raizeiros e procedimentos pós-colheita de plantas medicinais comercializadas em Maceió, AL. *Rev Bras Pl Med.* v.11. n.1. p.81-91, 2009.
- BARBOSA, C.K.R. et al. Qualidade microbiológica de plantas medicinais cultivadas e comercializadas em Montes Claros, MG. *Biotem.* v. 23. n. 1. p. 77-81, 2010.
- BEERENDS, C. et al. *Curso de fitoterapia: Utilizando Adequadamente as Plantas Medicinai*s. Colombo: Fundação Herbarium, 2003.
- BOPP, C. A. et al. *Escherichia, Shigella and Salmonella*. In: MURRAY, P.R. et al. (Ed.). *Manual of Clinical Microbiology*. 8. ed. Washington: ASM Press.. v. 1, cap. 42, p. 654-671, 2003.
- BOUCHER, H.W.; COREY, G.R. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin.Infect Dis.* v.46. p.344-349, 2008.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 67, de 08 de outubro de 2007. Dispõe sobre as Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em Farmácias e seus anexos. *Diário Oficial da União*, 09 out. 2007.
- BRATU, S. et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Brooklyn, New York: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B. *European J. Clin. Microbiol. & Infect. Dis.* v. 24. n. 3. p. 196-201, 2005.
- BRAVO, J.A.; Bioactive phenolic glycosides from *Amburana cearensis*. *Phytochemistry.* v. 50, p. 71-74, 1999.

- BRESOLIN, T.M.B.; CECHINEL FILHO, V. (Org.). *Ciências farmacêuticas: contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos*. Itajaí: Ed. Univali, p. 11-2, 2003.
- BROOKS, G. F. et al. *Microbiologia médica*. 24^o ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 2009.
- BRUHN, J. G.; HOLMSTEDT, B. Ethnopharmacology, objectives, principles and perspectives. In: *Natural products as medicinal agents*. Stuttgart: Hippokrates, 1982.
- BUGNO, A. et al. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* v. 41. n. 4, 2005.
- CHAVES, T. P. Lamedor: um conhecimento popular em abordagem científica. *Rev. de Biol. e Farm.* v. 2, 2008.
- CARVALHO, C. et al. Monitoramento microbiológico sequencial da secreção traqueal em pacientes intubados internados em unidade de terapia intensiva pediátrica. *J Pediatr*, v. 81, n. 1, p. 29-33, 2005.
- CAVALCANTI, S. et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* introduced into intensive care units of a university hospital. *Braz J Infect Dis*, v. 9, n. 1, p. 5663, 2005.
- CEPEDA, J. A. et al. Isolation of patients in single rooms or cohorts to reduce spread of MRSA in intensive-care units: prospective two center study *The Lancet*, v.365, n.9456, p.295-304, 2005.
- COLAÇO, W.; FERRAZ, U.; ALBUQUERQUE, R. L. Incidência de aflatoxinas em amendoim e produtos derivados consumidos na Cidade de Recife, no período de 1989 a 1991. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* v. 54. p.1-4, 1994
- CORZO-MARTÍNEZ, M. et al. Biological properties of onions and garlic. *Trend in Food Sc. & Tech.*, v.18, n.12, p.609-25, 2007.
- CRUZ, G.A.S; ANDRADE, L.H.C. Plantas medicinais de uso pediátrico para doenças dos sistemas respiratório e gastrointestinal em aldeia, Camaragibe-PE. In: Congresso de Iniciação Científica da UFPE, 15., 2008, Recife. *Anais...* Recife, 2008.
- DANTAS, I. C. *O raizeiro e suas raízes: um novo olhar sobre o saber popular*. Campina Grande, 2002. 134 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) – Centro de Pós-Graduação, Universidade Estadual da Paraíba, 2002.
- DANTAS, V. S. *Análise das garrafadas indicadas e comercializadas pelos raizeiros na cidade de Campina Grande - PB*. Campina Grande, 2006. 59 f. Monografia (Especialização em Educação Ambiental), Universidade Estadual da Paraíba, 2006.
- DI STASI, L.C. et al. *Plantas medicinais na Amazônia*. São Paulo: Editora Universidade Estadual Paulista, 1989.

- ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia. *Cienc. Cult.*, v.55, n.3, p. 35-36, 2003.
- ELISABETSKY, E; SOUZA, G. C. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (org.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. cap. 6. p. 107-118.
- FATTOM, A. I. et al. Development of StaphVax, a polysaccharide conjugate vaccine against *S. aureus* infection: from the la bench to phase III clinical trials. *Vacc.*, v.22, n.7, p.880-887, 2004.
- FERREIRA, A. J. P.; KNOBL, T. Enfermidades bacterianas. In: JÚNIOR B.A.; SILVA, N. E.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. *Doenças das aves*. Campinas: Facta, cap. 4, p. 457-474, 2009.
- FOCACCIA, R. V. *Tratado de Infectologia*. Rio de Janeiro: Atheneu. p. 984-989, 2005.
- FOSTER, T. J.; HOOK, M. Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*, v. 6, p. 484-8, 1998.
- FURLANETO, L.; MARIN, V.D.; ENDO, R. Qualidade Microbiológica de Drogas Vegetais Comercializadas nas Ruas da Cidade de Londrina/PR e de seus Infusos. *Rev Saúde*.v.10. n. 5. p. 49-52, 2003.
- GALLES, A.C; JONES, R.N. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* infection isolates: Occurrence rates, antimicrobial susptibility patterns, and molecular typing from the global SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin. Infect. Dis.* v. 32. p. 146-155, 2001.
- GERMANO, M. L. P.; GERMANO, S. I. M. *Hig. e Vigil. Sanit.de Alimentos*. 3.ed. São Paulo: Varela, 2003
- GERMANO, M. L. P.; GERMANO, S. I. M. *Hig. e Vigil. Sanit.de Alimentos*. 4.ed. São Paulo: Manole, 2011.
- GORDON, R. J.; LOWY, F. D. Pathogenesis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Clin. infect. dis*, v.46, p.350-359, 2008.
- GOSBELL, I. B. Diagnosis and management of catheter-related bloodstream infections due to *Staphylococcus aureus*. *Intern Med J*, v. 35, p. 45-62, 2005.
- GUERIN P.J.; VOLD, L.A.A, VILTSLAND, P. Communicable disease control in a migrant seasonal workers population: a case sudy in Norway. *Euros.*, v. 10. p. 48-50, 2005.
- HOFFMAN, M.V.; OLIVEIRA, I.C.S. Conhecimento da família acerca da saúde das crianças de 1 a 5 Anos em uma Comunidade Ribeirinha: Subsídios para a Enfermagem Pediátrica. *Esc Anna Nery Rev Enferm.* v.13. n.4. p.750-756, 2009.

KARLOWSKY, J.A. et al. Stable antimicrobial susceptibility rates for clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from the 2001-2003 tracking resistance in the United States today surveillance studies. *Clin Infect Dis.* v.40. n.2. p.89-98, 2005.

KIPNIS, E.; SAWA, T.; WIENER-KRONISH, J. Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Med. et Maladies Infect*, v.36, n.2, p.78-91, 2006.

KNIEHL, E.; BECKER, A.; FORSTER, D. H. Bed, bath and beyond: pitfalls in prompt eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrier status in healthcare workers. *J. of Hospital Infect.*, v.59, n.3, p.180-187, 2005.

KOLLEF, M.H. gram-negative bacterial resistance: evolving patterns and treatment paradigms. *Clin. Infect. Dis.* v. 15. p. 85-88, 2005.

KONEMAN, E.W. et al. *Diagnóstico Microbiológico-Texto e Atlas Colorido.* 5 ed., Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.

KURODA, M. et al. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet*, v.357, p.1225-1240, 2001.

LACAZ, C.S et al. *Tratado de micologia médica.* 9. ed. São Paulo: Sarvier, p. 15-829, 2002.

LIMA, J. L. S. et al. *Plantas Medicinais de uso comum no Nordeste do Brasil.* Campina Grande: Ludigraf editora e gráfica, 2006.

LOURENÇO, M.C.S.; REIS, E.F.M, VALLS, R. *Salmonella* entérica subsp houtenae sorogrupo O:16 em um paciente HIV positivo: relato de caso. *Rev. Instit. de Medic. Trop. de São Paulo*, v. 46. p. 169-170, 2004.

LOPES, I.S.; Levantamento de Plantas Medicinais utilizadas na cidade de de Itapetim, Pernambuco, Brasil. *Rev. de Biol. e Farm.* v. 7. n. 1, 2012.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.* São Paulo: Nova Odessa/ Editora Plantarum, 2002.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim. Nova*, v. 25, n. p. 429-438, 2002.

MALLMANN, C. A. et al. Prevalência de aflatoxinas em amendoim e seus derivados, destinados ao consumo humano, no Estado do Rio Grande do Sul. In: 2º SIMPÓSIO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2003, Florianópolis.

MANDEEL, Q.A. Fungal contamination of some imported spices. *Mycopathologia.* v. 159. n. 2, p. 291-298, 2005.

MARINHO, M.G.V; SILVA, C.C.; ANDRADE, L.H.C. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de caatinga no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil. *Rev. Bras.de Plantas Med.*, v.13, n. 2. p. 170-182, 2011.

- MARTINS, E. R.. et al. *Plantas Medicinais*. 5ª reimpressão. Viçosa: UFV, 2003.
- MATOS, F. J. *Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projeto para pequenas comunidades*. 3 ed. Fortaleza: EUFC, 1998.
- MATOS, F. J. *Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projeto para pequenas comunidades*. 4 ed. Fortaleza: EUFC, 2002.
- MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; PFALLER M.A.; *Microbiologia médica*. 5º ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.
- NEGI, P. S. JAYAPRAKASHA, G. K. Antioxidant and antibacterial activities of *Punica granatum* peel extracts. *J Food Sci.*, 2003.
- NOGUEIRA, A. J. *Medicina Popular*. Rio de Janeiro: Prefeitura Municipal. 2005.
- NORDIN, N. S. D. *Detecção de aflatoxinas e zearalenona em milho (Zea mays), destinado à alimentação animal*. 1995, 98p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995.
- OLIVEIRA, V. L. S; CAETANO, R. M.; GOMES, F. C. O. Avaliação da qualidade de saneantes clandestinos comercializados em Belo Horizonte, Minas Gerais. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.*, v.33. n. 4. p. 577-582, 2012.
- OMS/Organización Mundial de la Salud. Pautas generales para las metodologías de investigación de la medicina tradicional. Ginebra, 2000.
- PATERSON, D.L. The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin. Infect. diseases*. v. 43, 2006.
- PINTO, T.J.A; KANEKO, T.M.; OHARA, M.T. *Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos*. São Paulo: Atheneu, 2000.
- PROCOP, G.W.; COCKERILL II, F. Enterites causadas por *Escherichia coli* e espécies de *Shigella* e *Salmonella*. In: WILSON, W.R. et al. (Eds). *Doenças infecciosas. Diagnóstico e tratamento*. Porto Alegre: Artmed. p. 563-580, 2004.
- RIDDELL, R. W. Permanent Stained Mycological Preparations Obtained by Slide Culture. *Mycologia*, v. 42, p. 265–270, 1950.
- ROCHA-COELHO, F. B.; SANTOS, M. G. Plantas medicinais utilizadas pela comunidade mumbuca Jalapão – TO: Um estudo etnofarmacológico. *Pesq. e conserv. do serrado*, Brasília, 2008.
- RODRIGUES, D. P. et al. *Doenças de Transmissão Alimentar: Aspectos Clínicos, Coleta e Transporte de Material*. Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Lab. Ref. Nacional Cólera e outras Enteroinfecções. Man. Lab. Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, 2008.

SADER, H.S.; GALES, A.C.; PFALLER, M.A. Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *BJID*. v.5. n.4. p. 201-213, 2001.

SALES, G.P.S.; ALBUQUERQUE, H.N.; CAVALCANTI, M.L.F. Estudo do uso de plantas medicinais pela comunidade quilombola Senhor do Bonfim – Areia-PB. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*. n.1, 2009.

SANTOS, L. S. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *J Bras Patol Med Lab*. v. 43. n. 6. p. 413-423, 2007.

SHUNDO, L.; SILVA, R. A.; SABINO, M. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializados na região de Marília – SP, Brasil no período de 1999-2001. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 62. n. 3. p. 177-181, 2003.

SILVA, S.R. et al. Plantas medicinais do Brasil: aspectos gerais sobre legislação e comércio. Brasília, DF: Ministério de Cooperação Econômica e Desenvolvimento da Alemanha. IBAMA, 2001.

SIMÕES et al. *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*, 6. ed., Editora da UFSC, UFRGS Editora, 2007.

TAITT, C.R.; SHUBIN, Y.S., ANGEL, R. Detection of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium by using a Rapid, Array-Based Immunosensor. *App. and Environ. Microbiology*. v. 70, 2004.

TAKAHASHI, L.S.A.T. et al. Condições de armazenamento e tempo de embebição na germinação de sementes de erva-doce (*Pimpinella anisum* L.). *Rev Bras Plantas Med*. v. 11. n.1. p.1-6, 2009.

TANIWAKI, M. H.; SILVA, N. Fungos em alimentos: ocorrência e detecção. Campinas, SP: Núcleo de Microbiologia/ITAL, 82 p. 2001.

TORRES, A.C.G. et al. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in an intensive care unit of a teaching hospital. *Brazil. J. Infect. Dis*. v.8. n.4. p.267-271, 2004.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. MARTINS, R. M. (trad. atual.). 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. MARTINS, R. M. (trad. atual.). 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

TRABULSI, L.; ALTERTHUM, F. *Microbiologia*. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

TSAKRIS, A. Outbreak of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-1 carbapenemase in Greece. *J. Clin. Microbiol*. v. 38, p. 1290-1292, 2000.

VASCONCELOS, D.A.; ALCOFORADO, G.G.; LIMA, M. M.O. Plantas medicinais de uso caseiro: conhecimento popular na região do centro do município de Floriano/PI.

In: Congresso Norte-Nordeste de Pesquisa e Inovação, 5., 2010, Maceió. *Anais...* Maceió, 2010.

VEIGA - JÚNIOR, F. et al. Plantas medicinais: cura segura?. *Quím. nova*, v. 28, n.3, p. 519-528, 2005.

VISOTTO, L. E. et al. Isolamento de fungos toxigênicos em grãos de café (*Coffea arábica* L.) e avaliação da produção IN VITRO de ocratoxina A. *R. Bras. Armaz., Especial Café*. n. 10. p.49-57, 2008.

ZARONI, M. et al. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v. 14, n. 1, 2004.