



MENDONÇA MB; HIDALGO AF; CHAVES FCM. 2009. Isolamento e identificação de fungos com potencial patogênico para a saúde humana em material vegetal de uso medicinal comercializado em Manaus. Horticultura Brasileira 27: S1208-S1214.

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS COM POTENCIAL PATOGENICO PARA A SAÚDE HUMANA EM MATERIAL VEGETAL DE USO MEDICINAL COMERCIALIZADO EM MANAUS

Maíra B. Mendonça¹; Ari de F. Hidalgo¹; Francisco Célio M. Chaves²

¹UFAM – Universidade Federal do Amazonas, Av. Rodrigo O. J. Ramos, 3000, Coroado I, 69077-000, Manaus – AM; ²EMBRAPA/CPAA - Embrapa Amazônia Ocidental, Rodovia AM-10, Km 29, Caixa Postal 319, 69048-660, Manaus/AM; e-mail: mairabmendonca@hotmail.com, hidalgo@ufam.edu.br, celio.chaves@embrapa.cpa.br

RESUMO

No Brasil a utilização de plantas em medicamentos caseiros é um hábito cultural, principalmente, por pessoas com baixo poder aquisitivo; no entanto, não há reconhecimento por parte dos órgãos reguladores e não há fiscalização quanto à identificação do material botânico, a higiene e a salubridade do ambiente em que são expostos à venda. O material vegetal utilizado foi adquirido em Manaus, no mercado Adolpho Lisboa. A escolha das espécies foi baseada em dados obtidos junto aos vendedores. Foram selecionadas três espécies de plantas nativas da Amazônia, cuja parte utilizada é a casca (andiroba, carapanaúba e mururé) e duas espécies nativas (açai e muirapuama) e uma exótica (gengibre), cujas partes utilizadas são os órgãos subterrâneos. A identificação botânica foi feita com auxílio das coleções de plantas medicinais da UFAM, do herbário do INPA e da literatura vigente. Fragmentos de material vegetal com e sem desinfecção (álcool a 70% durante 30 segundos, hipoclorito de sódio a 2% durante 20 segundos, seguidas de três lavagens com água destilada por 20 segundos), foram inoculados em placas de Petri com meio BDA com antibiótico cloranfenicol (250mg/ml), a 25°C por 10 dias. Após esse período, fragmentos de hifas foram repicados para outras placas com o mesmo meio. Para identificação das colônias

foram preparadas lâminas com azul de lactofenol e observadas em microscópio óptico, comparadas com as características estruturais reprodutivas e de infecção das chaves de identificação. Placas com material subterrâneo (rizoma e raízes) apresentaram contaminação por ácaros, impedindo a avaliação e identificação dos fungos presentes. As amostras de cascas apresentaram fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Botryodiplodia*, *Colletotrichum*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Pestalotia*, *Rhizopus* e *Thrichoderma*. Os gêneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Trichoderma* são patogênicos a saúde por produzirem micotoxinas; o gênero *Rhizopus* é saprófita oportunista, constituindo ameaça às pessoas imunodeprimidas.

PALAVRAS-CHAVE: Carapa guianensis; *Aspidosperma* sp., *Brosimum* sp., plantas medicinais, fungos patogênicos.

ABSTRACT

Isolation and identification of fungi with pathogenic potential to human health in the medicinal plants market in Manaus city

In Brazil the use of medicinal plants is a cultural habit, especially for people with low purchasing power; however, there is not



supervision on the identification of botanical material, hygiene and health of environment in which they are exposed for sale. The plant material used was purchased in Manaus, in the Adolpho Lisboa market. The choice of species was based on data obtained from the sellers. We selected three species of plants native to the Amazon, which part used is the bark (*Carapa guianensis*; *Aspidosperma* sp. and *Brosimum* sp.), and two native species (*Euterpe precatoria* and *Ptychopetalum olacoides*) and an exotic specie (*Zingiber officinale*), whose parts used are the underground parts. The botanical identification was made using the collections of medicinal plants of UFAM, the Herbarium of INPA and the current literature. Fragments of plant material with and without disinfection (alcohol at 70% for 30 seconds, sodium hypochlorite 2% for 20 seconds, followed by three washes with distilled water for 20 seconds), were inoculated in Petri dishes with PDA medium with antibiotic chloramphenicol (250mg/ml) at 25 °C for 10

days. After that, fragments of hyphae were transferred to other plates with the same medium. For identification of the colonies were prepared for slides with lactophenol blue and observed under optical microscope, compared with the structural characteristics and reproductive infection of the keys to identification. Plates with material underground (rhizome and roots) showed contamination by mites, preventing the assessment and identification of fungi present. Samples of bark showed fungi of the genera *Aspergillus*, *Botryodiplodia*, *Colletotrichum*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Pestalotia*, *Rhizopus* and *Trichoderma*. The genera *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* and *Trichoderma* are pathogenic to health by producing mycotoxins, the genus *Rhizopus* is opportunistic saprophyte, is threatening to immunosuppressed persons.

KEYWORDS: *Carapa guianensis*; *Aspidosperma* sp., *Brosimum* sp., medicinal plants, pathogenic fungus.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais é um recurso alternativo no tratamento de problemas de saúde humana. Mesmo com o avanço da ciência de medicamentos, as plantas superiores são, ainda, indispensáveis na obtenção de substâncias ativas e material fresco para muitas preparações. Materiais vegetais de uso medicinal popular comercializados em Manaus são encontrados, principalmente, em bancas no mercado municipal Adolpho Lisboa, em feiras populares e em mercados de bairros. Nessas bancas, nota-se pouca higienização, presença de contaminantes como poeira, areia e insetos.

Os materiais vegetais não apresentam padronização na apresentação comercial (embalagens e rótulos), não há cuidados com o armazenamento e são encontrados expostos sobre bancadas de aparência pouco higiênica, sobre jornais ou diretamente no chão. Tal situação foi observada em Umuarama (PR), onde 61,67% do material vegetal analisado apresentaram parasitos vivos e mortos, produtos de metabolismos e areia, e 45,33% apresentaram contaminação microbiana (Cortez et al., 2000). Matos (1998), alerta sobre alguns cuidados que se deve ter no manuseio de materiais vegetais, tais como a correta secagem, a manutenção de condições mínimas de higiene para se evitar o desenvolvimento de mofo e evitar que o material entre em contato com o chão, poeira ou chuva. A falta de preocupação com estes cuidados pode levar à deterioração, tais como, a degradação de substâncias ativas, contaminação por parasitas, roedores, fungos e outros microrganismos (Silva et al., 1995).

Apesar do uso de plantas medicinais fazer parte do cotidiano do amazonense, aparentemente não há fiscalização, por parte dos órgãos competentes, no que se refere à segura identificação do material vegetal, nos aspectos de higiene e salubridade, tanto do material vegetal quanto do ambiente em que ficam expostos à venda. O objetivo deste estudo foi proceder à análise microbiológica do material vegetal comercializado como medicinal no mercado Adolpho Lisboa, em Manaus, verificando os principais fungos contaminantes, com ênfase àqueles com potencial patogênico à saúde humana.

METODOLOGIA

O trabalho foi realizado nos Laboratórios de Bioativos, de Microbiologia e de Plantas Medicinais da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal do Amazonas – UFAM. O material vegetal foi adquirido em bancas especializadas no mercado municipal Adolpho Lisboa, sendo consideradas duas classes de material vegetal: casca e órgãos subterrâneos (rizomas e raízes). A seleção das espécies foi baseada no levantamento feito por Pires (1999), onde são registradas as espécies de plantas medicinais mais procuradas pelos consumidores. Foram escolhidas três espécies nativas da Amazônia para a parte vegetal casca (andiroba - *Carapa guianensis*, carapanaúba - *Aspidosperma* sp., mururé - *Brosimum* sp.), para órgãos subterrâneos foram selecionadas duas espécies também nativas (açai – *Euterpe precatoria* e muirapuama – *Ptychopetalum olacoides*) e uma exótica (gengibre – *Zingiber officinale*). Após a compra, o material vegetal foi embalado em sacos de papel e levado ao laboratório de microbiologia, onde foi feita a identificação pelo nome comum. Para proceder à identificação botânica foram utilizadas as coleções botânicas dos Laboratório de Plantas Medicinais da FCA/UFAM e do Herbário do INPA, como parâmetros de comparação das características específicas dos vegetais e, também, a literatura vigente.

O procedimento para o isolamento de fungos associados ao material vegetal foi realizado através de dois tratamentos, um sem desinfecção superficial e o outro com desinfecção superficial em ambiente asséptico. Foram cortados 100 fragmentos de aproximadamente 0,5cm² de cada material vegetal, 50 fragmentos foram utilizados sem desinfecção e o restante foi submetido a uma seqüência de lavagens.

A primeira lavagem ocorreu em álcool a 70% durante 30 segundos, a segunda em hipoclorito de sódio a 2% durante 20 segundos, seguida de três lavagens com água destilada por 20 segundos cada uma. Após a desinfecção, o excesso de água dos fragmentos foi retirado com papel filtro e em seguida foram colocados cinco fragmentos em cada placa de Petri contendo meio de cultura BDA com antibiótico cloranfenicol (250mg/ml). As placas foram devidamente vedadas e colocadas à temperatura de 25°C em prateleiras no laboratório de bioativos da UFAM por 10 dias (Brasil, 2003, adaptado às normas do Laboratório de Bioativos FCA – UFAM). Ao surgirem os primeiros fragmentos de hifas nos meios de cultura, estes foram repicados para placas de Petri contendo o mesmo meio citado anteriormente, para as individualizações das colônias fúngicas. Após o crescimento das colônias individualizadas foram preparadas lâminas coradas com azul de lactofenol e observadas ao microscópio óptico. A identificação dos fungos isolados foi realizada por comparação das características estruturais reprodutivas e de infecção de cada isolado, como descritas nas chaves de identificação de fungos disponíveis na literatura especializada (Barnet & Hunter, 1972; Carmichael et al., 1980; Sutton, 1980).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que as três amostras de cascas (andiroba, carapanaúba e mururé) apresentaram contaminação fúngica, sendo identificadas espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Botryodiplodia*, *Colletotrichum*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Pestalotia*, *Rhizopus* e *Trichoderma*. As amostras de órgãos subterrâneos de açaí, gengibre e muirapuama sofreram contaminação por ácaros impossibilitando o isolamento e a identificação das colônias fúngicas encontradas. Foram identificados cinco gêneros considerados patogênicos, quatro destes por produzirem micotoxinas: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Trichoderma*.

O gênero *Rhizopus* é considerado patogênico por ser saprófita oportunista (Esteves et al., 1990; Bugno et al., 2005). As aspergiloses são micoses produzidas por fungos oportunistas do gênero *Aspergillus*, principalmente *A. fumigatus* e com menos frequência por *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. terreus* (Mezzari & Cauduro, 1996). O gênero *Fusarium* tem como principais agentes *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme* e *F. chlamydosporum*, podendo provocar hialohifomicose, ou seja, doença provocada por qualquer fungo saprófita que produz hifa hialina septada em tecidos (Mezzari & Cauduro, 1996). A zigomicose é uma doença ocasional, com manifestações clínicas cutâneas, subcutâneas e sistêmicas que é provocada por fungos oportunistas que se tornam patogênicos, conforme o estado geral do hospedeiro. Segundo Lehrer et al. (citados por Mezzari & Cauduro, 1996), as espécies *Rhizopus oryzae*, *R. rhizoposiformis* e *R. microsporus* são agentes patogênicos desta doença. De acordo com Mezzari & Cauduro (1996), os gêneros *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Acremonium* sp. são saprófitas na natureza, mas também podem provocar doenças no homem, sempre que houver um desequilíbrio entre o hospedeiro e o parasita. Considerando que os resultados obtidos nas análises microbiológicas dos materiais vegetais foram positivos para dez gêneros de fungos, sendo cinco destes potencialmente patogênicos, a ingestão desses materiais contaminados pode ser considerado um risco à saúde do consumidor. Dessa forma, faz-se necessário que se estabeleçam medidas adequadas de controle higiênico-sanitário para garantir a qualidade e segurança deste tipo de produto desde a coleta, armazenamento, manipulação até o produto final (medicamentos caseiros ou fitoterápicos). Além dessas adequações, o controle microbiológico do material vegetal e de seus derivados devem ser mais rigorosos e eficientes por parte dos fabricantes e mais exigidos pelos órgãos governamentais responsáveis para garantir a segurança, eficácia e qualidade dos produtos.

REFERÊNCIAS

- BARNET HL; HUNTER BB. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 3ª Ed. Minneapolis (Minnesota): Burgess Publishing Company.
- BRASIL. 2003. Ministério da Agricultura. Comunicado técnico 101. 1ª. Edição.
- BUGNO, A.; BUZZO, A.; A.; NAKAMURA, C. T. et al. 2005. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Vol. 41, n. 4, out./dez.
- CARMICHAEL, J.W. et al. 1980. Genera of hyphomycetes. 1ª Ed. Alberta (Canadá): The university of Alberta Press Edmonton.

CORTEZ, L.E.R.; GRIGIO, A.; SOEID, C.A. et al. 2000. Avaliação da qualidade de algumas espécies de chás comercializados. Recife, XVI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, resumos.

ESTEVES, J. A.; CABRITA, J. D.; NOBRE, G. N. 1990. Micologia médica. 2ª Ed. Porto (Lisboa): Fundação Calouste Gulbenkian.

MATOS, F.J.A. 1998. Farmácias vivas. 3ª Ed., Fortaleza: EUFC.

MEZZARI, A.; CAUDURO, P. F. 1996. Micologia no laboratório. Porto Alegre: Sagra.

PIRES, I. E. D. de S. 1999. Levantamento sobre a comercialização de plantas medicinais no mercado municipal Adolpho Lisboa. p. 42. Monografia (Bacharelado em Engenharia Agrônômica). Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas. Manaus, Amazonas.

SILVA, I.; FRANCO, S.L.; MOLINARI, S.L et al. 1995. Noções sobre o organismo humano e utilização de plantas medicinais. 3ª Ed., Cascavel (PR): Assoeste.

SUTTON, B.C. 1980. The Coelomycetes. 1ª Surrey: Commonwealth Mycological Institute Kew.

Tabela 1. Fungos com potencial patogênico à saúde humana encontrados em cascas de material vegetal comercializados no mercado municipal Adolpho Lisboa em Manaus (AM) [Fungi with pathogenic potential to human health found in the bark of medicinal plants traded on Adolpho Lisboa municipal market in Manaus city(AM)], 2009.

Gênero	Andiroba Carapa guianensis - Meliaceae		Carapanaúba Aspidosperma sp. - Apocynaceae		Mururé Brosimum sp. - Moraceae	
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com
	desinfecção	desinfecção	desinfecção	desinfecção	desinfecção	desinfecção
Aspergillus sp.	x	x	x	x		
Aspergillus niger	x	x	x	x	x	x
Aspergillus flavus			x	x		
Botryodiplodia sp.				x	x	x
Colletotrichum sp.				x		
Chaetomium sp.				x		
Fusarium sp.		x				
Nigrospora sp.		x				
Penicillium sp.	x	x	x			
Pestalotia sp.	x	x				
Rhizopus sp.	x	x	x	x	x	
Trichoderma sp.		x			x	x
Não identificado	x					



Figura 1. Material vegetal à venda no mercado Adolpho Lisboa [Medicinal plants on the market Adolpho Lisboa].



Figura 2. Carapanaúba (*Aspidosperma sp.*).

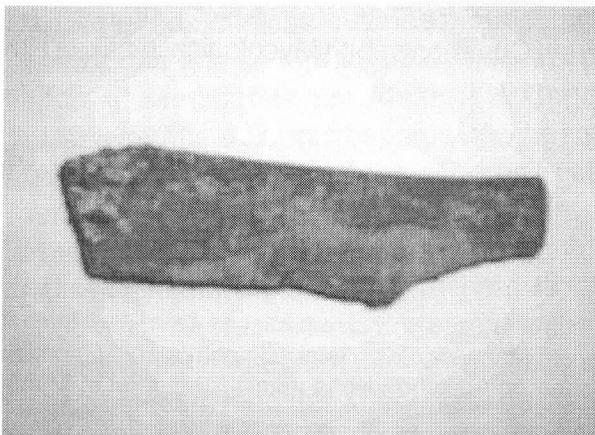


Figura 3. Casca de mururé (*Brosimum sp.*) [Bark of *Brosimum sp.*].

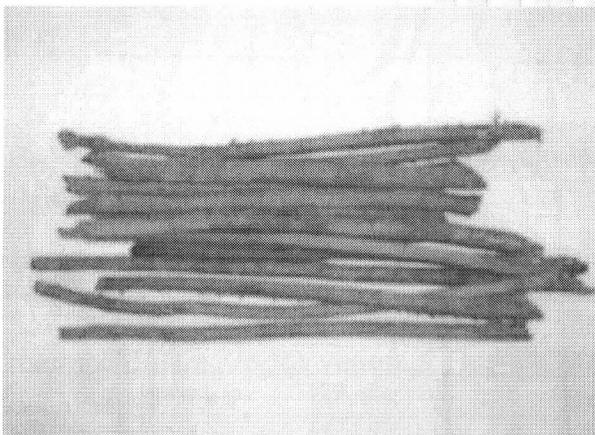
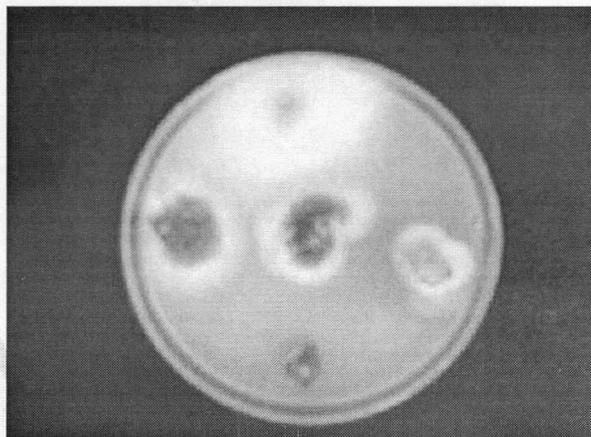
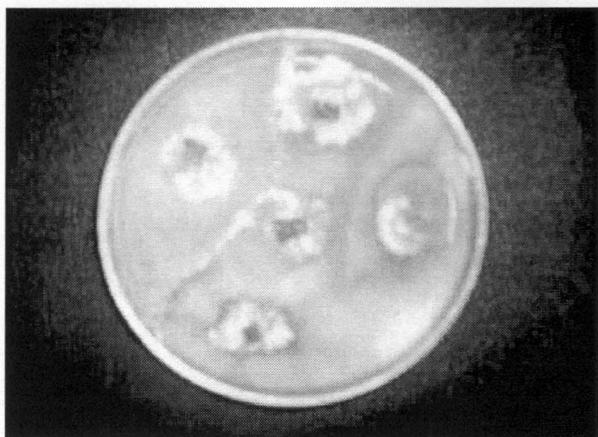
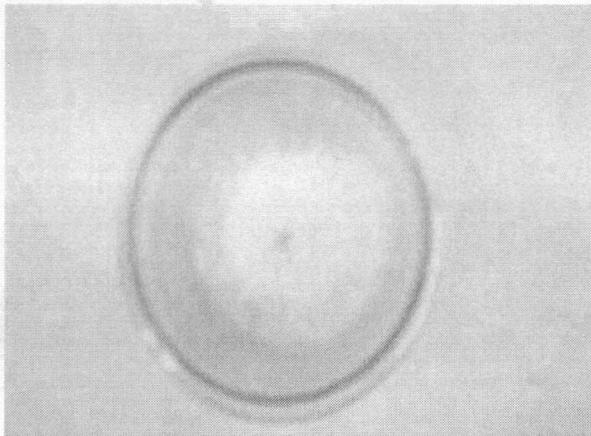
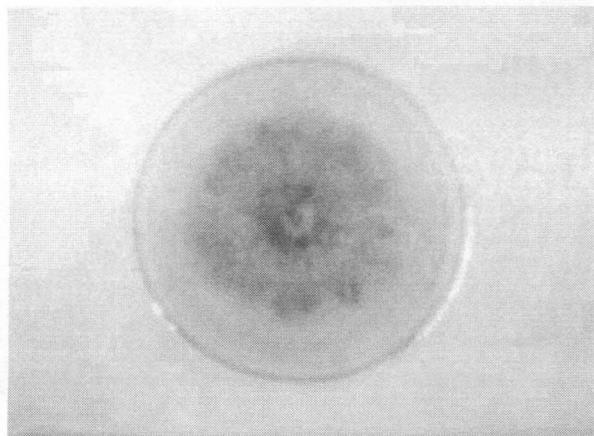


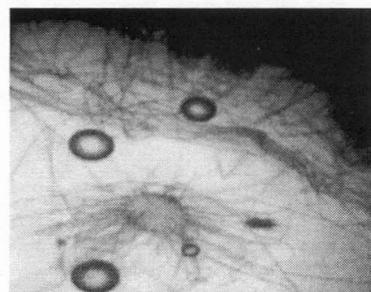
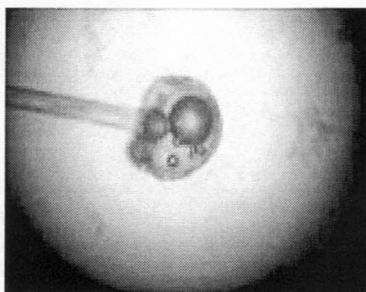
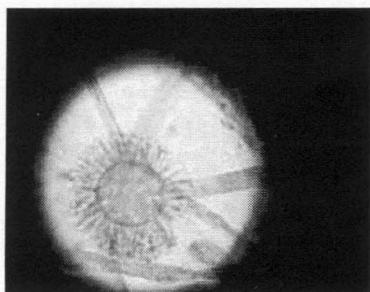
Figura 4 e 5. Raiz de açai (*Euterpe precatoria*) e rizoma de gengibre (*Zingiber officinale*) [Root of *Euterpe precatoria* and rizome of Zingi].



Figuras 6 e 7. Placas com crescimentos de varias colônias de fungos [Plates with growth of many colonies of fungi].



Figuras 8 e 9. Colônias isoladas de *Trichoderma* e *Pestalotia*, respectivamente [Isolated colonies of *Trichoderma* and *Pestalotia*, respectively].



Figuras 10, 11 e 12. *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp. e *Chaetomium* sp., respectivamente [Aspergillus sp., Rhizopus sp. and Chaetomium sp., respectively].