



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DEPARTAMENTO DE
FARMÁCIA

Beatriz Martins Ferraris

**CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DE EXTRATO
AQUOSO E DROGA VEGETAL DE *Eugenia dysenterica*.**

BRASÍLIA
2023

Beatriz Martins Ferraris

CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DO EXTRATO

AQUOSO E DROGA VEGETAL DE *Eugenia Dysenterica*.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia noturno da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília - Campus Darcy Ribeiro como requisito parcial para obtenção do título em Bacharel no curso de Farmácia.

Orientadora:

Prof^a. Dr (a). Pérola de Oliveira Magalhães Dias Batista

Co-Orientadora:

Prof^a. Dr (a). Paula Monteiro de Souza

BRASÍLIA
2023



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DEPARTAMENTO DE
FARMÁCIA

**CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO
DO EXTRATO AQUOSO E DROGA VEGETAL DE
Eugenia dysenterica.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Farmácia
noturno da Faculdade de Ciências da
Saúde da Universidade de Brasília -
Campus Darcy Ribeiro como requisito
parcial para obtenção do título em
Bacharel no curso de Farmácia.

Aprovado em 27/06/2023

BANCA EXAMINADORA

Me. Joel de Abreu

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, à Deus, que permitiu que eu conseguisse alcançar meus objetivos, e aos poucos, conquistar o que pedia em oração durante todos meus anos de estudos. Por ter permitido saúde e persistência e total determinação para não desistir durante minha graduação, tendo força em todos os obstáculos.

À minha mãe e irmã, que me deu suporte todo esse tempo, me ajudando no necessário, me dando auxílio em momentos difíceis e compreendendo minha ausência enquanto me dedicava. Ao meu pai, por acreditar no meu potencial, muito mais que eu mesma. A todos meus familiares, tios, primos, avós, que mesmo de longe, sempre torceram e oraram por mim. Aos meus amigos que me acompanharam nessa grande jornada, aos que eu conquistei nesse tempo, amigos do estágio da Anvisa, que me auxiliaram nos mínimos detalhes, amizades que esse tempo na Universidade me proporcionou. A Luana, que me acompanhou em todo esse tempo, da primeira à última matéria, nos apoiando e estando presente em todos os momentos bons e ruins. Ao meu namorado Josias, que me auxiliou em tudo que podia me deu suporte em todo momento, esteve comigo nos momentos complicados e nos momentos gratificantes da minha graduação, transbordando amor e companheirismo.

À professora Pérola, que desde o início de minha graduação abriu as portas de seu laboratório e permitiu minha paixão por pesquisa, bancada, e que desde 2016 me orientou em estágios, iniciações científicas, e hoje, em meu Trabalho de Conclusão de Curso. A professora Paula, por auxiliar do início ao fim deste trabalho. Às técnicas Julia e Patrícia, que me deram suporte na realização dos ensaios.

A Universidade, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior e todos que contribuíram, de alguma forma, para a realização desse trabalho, que me incentivaram, e tiveram impacto em minha graduação.

RESUMO

O uso de plantas medicinais como opção terapêutica tem sido praticada ao longo dos anos para o tratamento de enfermidades e promoção da saúde de diferentes populações. No Brasil, essa abordagem vem ganhando cada vez mais destaque. A tradicionalidade do uso de plantas medicinais pelo povos originários e pelos quilombolas hoje já é reconhecida pela sociedade, que busca a cura de muitas enfermidade nos produtos naturais. Desta forma, a qualidade dos fitoterápicos tem sido uma preocupação constante, com estudos e legislações que visam um acompanhamento rigoroso do controle da qualidade em todas as etapas, do desenvolvimento a produção, desde a coleta da planta até a disponibilização do produto final. Neste sentido, este estudo teve como objetivo principal avaliar a qualidade microbiológica da droga vegetal e do extrato aquoso obtido das folhas da planta *Eugenia dysenterica*. Para a realização das análises, foram empregadas as metodologias apresentadas na Farmacopéia Brasileira 6ª edição, na sessão de análise de produtos não-estéreis. Foram realizados testes para identificar a presença de microrganismos mesofílicos e patogênicos. Com base nos resultados obtidos, as amostras avaliadas atenderam as exigências estabelecidas pela Farmacopéia Brasileira.

Palavras-chaves: Espécies vegetais; *Eugenia dysenterica*; Contaminação microbiológica; Controle de qualidade.

ABSTRACT

The use of medicinal plants as a therapeutic option has been practiced for years to treat diseases and promote health in different populations. In Brazil, this approach is becoming increasingly important. The traditional use of medicinal plants by indigenous peoples and quilombolas is now recognized by society, which seeks cures for many diseases through natural products. Thus, the quality of herbal medicines has been a constant concern, with studies and legislation aimed at strict monitoring of quality control at all stages, from development to production, from collection of the plant to the availability of the final product. In this sense, the main objective of this study was to evaluate the microbiological quality of the plant drug and the aqueous extract obtained from the leaves of the plant *Eugenia dysenterica*. To perform the analyses, the methodologies presented in the Brazilian Pharmacopeia 6th edition, in the session on the analysis of non-sterile products, were used.

Tests were performed to identify the presence of mesophilic and pathogenic microorganisms. Based on the results obtained, the samples evaluated met the requirements established by the Brazilian Pharmacopeia.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1.	O Cerrado	15
2.2.	Plantas Medicinais	16
2.3.	A Família Myrtaceae	16
2.4.	<i>Eugenia dysenterica</i>	17
2.5.	Atividades farmacológicas	18
2.6.	Controle de qualidade	18
2.7.	Controle Microbiológico	19
3.	OBJETIVOS	20
4.	MATERIAIS E METÓDOS	21
4.1.	Detalhes da coleta	21
4.2.	Identificação do material botânico	21
4.3.	Caracterização organoléptica	21
4.4.	Secagem e conservação	22
4.5.	Obtenção do extrato bruto aquoso.	22
4.6.	Meios de Cultura	23
4.7.	Determinação de bactérias	23
4.8.	Determinação de fungos	24
4.9.	Determinação de Microorganismos patogênicos	24
4.10.	Contagem de Microorganismos	27
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.	27
5.1.	1. Detalhes da coleta	27
5.2.	Identificação do material botânico	27
5.3.	Caracterização organoléptica	27
5.4.	Determinação de contaminantes mesófilos	27
5.5.	Determinação de contaminantes patógenos	30
5.6.	Contagem total de Colônias	33
6.	CONCLUSÃO.	34
7.	REFERÊNCIAS	35

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. *Eugenia dysenterica* Mart. ex DC: planta inteira e adulta. Especimen localizado no Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil 17**
- Figura 2: Folhas saudáveis de *E. desynterica* Mart. Ex DC: folhas da planta inteira e adulta. Especimen localizado no Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil 22**
- Figura 3. Esquema ilustrando Amostra 1(diluição da droga vegetal) e 2 (diluição do extrato aquoso). Esquema representando a diluição para as placas de Ágar Caseína. 24**
- Figura 4. Esquema de ensaio para *E. coli*. Demonstrando as soluções mãe e o processo para a subcultura em placas de Mac Conkey. 25**
- Figura 5. Esquema de Ensaio para *Salmonella*. Utilizado o meio Rapapport e Placas de Petri contendo Ágar Xilose. 26**
- Figura 6. Esquema de ensaio para Bilitorelante. Foi Utilizado Caldo Mosseul e Placas de Petri contendo Meio Vermelho Neutro Bile Glicose. 26**
- Figura 7: Placas para a Determinação de bactérias em extrato aquoso no Ágar Caseína Soja , A: diluída em 10^1 , B: diluída em 10^2 , C: diluída em 10^3 e D: controle. 28**
- Figura 8: Placas para a determinação de bactérias em droga vegetal em Ágar Caseína Soja , A: diluída em 10^1 , B: diluída em 10^2 , C: diluída em 10^3 e D: controle. 29**
- Figura 9: Placas para a Determinação de fungos em extrato aquoso no Ágar Sabouraud-Dextrose. A: diluída em 10^1 , B: diluída em 10^2 , C: diluída em 10^3 e D: controle. 29**
- Figura 10. Placas para a Determinação de fungos em droga vegetal no Ágar Sabouraud-Dextrose . A: diluída em 10^1 , B: diluída em 10^2 , C: diluída em 10^3 e D: controle. 30**
- Figura 11. Placas para a Determinação de *E. coli* em droga vegetal no Ágar Mac Conkey. A: Placa amostra, B: Placa controle 31**
- Figura 12: Placas para a Determinação de *E. coli* em extrato aquoso no Ágar Mac Conkey .A: Placa amostra, B: Placa controle 31**
- Figura 13: Placas para a Determinação de *Salmonella* em droga vegetal no Ágar Xilose. A: Placa amostra, B: Placa controle 31**

Figura 14: Placas para a Determinação de *Salmonella* em extrato aquoso no Ágar Xilose. A: Placa amostra, B: Placa controle 32

Figura 15: Placas para a Determinação de Bilitorelantes em extrato aquoso no Ágar Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose. A: Placa amostra, B: Placa controle 32

Figura 16: Placas para a Determinação de Bilitorelantes em droga vegetal no Ágar Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose. A: Placa amostra, B: Placa controle 32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados referentes às análises de crescimento de mesófilos, patógenos, bilitolerante, E. coli e Salmonella para a extrato aquoso. 33

Tabela 2. Resultado do cálculo do número de unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC/g). 33

LISTA DE ABREVIATURAS

OMS - Organização Mundial da Saúde

PNPIC - Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

PNPMF - Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

FB - Farmacopéia Brasileira

SUS - Sistema Único de Saúde

EG - *Eugenia dysenteric*

MF - Medicamentos Fitoterápicos

PTF - Produtos Tradicionais Fitoterápicos

RCQ - Requisitos de Controle da

Qualidade

IFAV - Controle do Insumo Farmacêutico Ativo Vegetal

RENAME - Relação Nacional de Medicamentos Essenciais

UFC - Unidade Formadora de Colônia

1. INTRODUÇÃO

O bioma Cerrado abrange cerca de um quarto do território nacional Brasileiro (1). Esse ecossistema tem sua característica pela sua biodiversidade, incluindo inúmeras espécies com um possível uso para a medicina popular. Entre estas se destacam espécies da família *Myrtaceae*, como é o caso da espécie *Eugenia dysenterica* (2). O uso de plantas medicinais como forma de terapia tem sido praticado ao longo da história e é amplamente documentado, reconhecido e apreciado em todo o mundo devido ao seu potencial para promover a saúde e o bem-estar. (3,4). Essa forma de terapia tem crescido, e com isso, surge preocupações mediante ao seu controle de qualidade e de como esse produto chega a população. Neste contexto, a realização de testes microbiológicos são essenciais para o controle de qualidade de plantas medicinais, no intuito de proporcionar a segurança e a efetividade (5).

Com a intenção de promover pesquisas e investigar plantas com potencial terapêutico, destaca-se a espécie *E. dysenterica* Mart. DC (*Myrtaceae*) como uma espécie nativa relevante e valiosa no contexto do bioma Cerrado, além de possuir um extenso histórico de uso tradicional. Conhecida popularmente como cagaita ou cagaiteira, suas folhas são tradicionalmente utilizadas para efeitos antidiarreicos, enquanto os frutos possuem propriedades com efeito laxante. (6). *E. dysenterica* é uma valiosa fonte de uma variedade de metabólitos secundários que desempenham um papel significativo em várias atividades biológicas. Em estudos recentes, foram identificados nessa planta componentes como terpenos, flavonóides (como catequina, quercetina, ácido epicatequina elágico), taninos (elagitaninos e proantocianidinas), folatos e carotenóides. Essas substâncias possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimutagênicas, anticancerígenas e muitas outras, o que lhes confere relevância nas áreas farmacêutica, cosmética e alimentícia (7,8).

A garantia da eficácia, segurança e qualidade dos medicamentos fitoterápicos requer um controle de qualidade abrangente. Esses medicamentos são desenvolvidos a partir de substâncias ativas de origem vegetal, e a verificação de sua qualidade envolve uma série de procedimentos e análises rigorosas. No Brasil, o controle de qualidade de medicamentos fitoterápicos é regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 26/2014, que estabelece os requisitos mínimos para registro e aceitação desses produtos. Além dessa norma, há outras legislações e diretrizes que também desempenham um papel relevante no controle de qualidade de medicamentos

fitoterápicos (9).

O controle microbiológico de plantas medicinais e fitoterápicos é crucial e deve levar em consideração que, devido à sua origem, esses produtos vegetais estão em contato direto com o ambiente (10). A presença de microrganismos pode resultar na baixa qualidade do material devido à ação de enzimas e patógenos, o que pode levar ao desenvolvimento de doenças. No Brasil, a preocupação com a contaminação de materiais vegetais remonta à década de 80, quando estudos sobre qualidade microbiológica foram iniciados. As Resoluções têm sido atualizadas, estabelecendo parâmetros de controle microbiológico de produtos não-estéreis (11).

Produtos não estéreis, como as plantas medicinais e seus derivados, devem estar dentro de limites aceitáveis de carga microbiana, desde que não comprometam a estabilidade e segurança do produto, conforme estabelecido pela Farmacopéia Brasileira. O controle microbiológico tem como objetivo realizar ensaios para quantificar e identificar a presença de micro-organismos no meio, garantindo a qualidade do produto e assegurando que este esteja em conformidade com os padrões estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira. A legislação brasileira estabelece os critérios de controle de qualidade microbiológica que devem ser aplicados às plantas medicinais (12).

O objetivo do estudo foi realizar o controle microbiológico do extrato aquoso e da droga vegetal das folhas de *E. desynerica*, preenchendo assim essa lacuna de conhecimento. Para isso, foram consideradas as diretrizes presentes na legislação para o controle de qualidade da matéria-prima vegetal, utilizando técnicas embasadas na Farmacopéia Brasileira.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cerrado

O Cerrado é considerado um dos principais biomas do Brasil, abrangendo uma vasta região no centro-oeste do país, bem como partes de Minas Gerais, Maranhão, Tocantins e Bahia. Com cerca de 24% do território nacional, ele se destaca como o segundo maior bioma brasileiro em extensão. (16). É considerada uma das savanas mais ricas em biodiversidade do mundo, com uma grande variedade de flora e fauna (17).

No Cerrado, encontramos uma rica diversidade de plantas medicinais. Essas plantas são utilizadas há séculos pela população local para o tratamento de diversas condições de saúde, e muitas delas têm sido objeto de estudos científicos para verificar suas propriedades terapêuticas. Entre as espécies de plantas medicinais do Cerrado, destacam-se aquelas pertencentes às famílias Myrtaceae, Asteraceae, Lamiaceae e Fabaceae, entre outras (18).

2.2 Plantas medicinais

De acordo com a definição da Organização Mundial da Saúde (OMS), as plantas medicinais são aquelas que possuem substâncias em um ou mais de seus órgãos que podem ser utilizadas com propósitos terapêuticos ou como precursoras de substâncias de semissínteses químico-farmacêuticas. Essas plantas podem ser adquiridas livremente, porém é essencial procurar orientação de profissionais que possuam conhecimento científico no uso farmacológico de fitoterápicos, como farmacêuticos e outros profissionais da saúde (16).

Ao longo de um extenso período histórico, as plantas medicinais foram valorizadas não apenas por suas propriedades nutricionais, mas também reconhecidas por suas capacidades curativas, tanto de maneira prática quanto em rituais. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que aproximadamente 80% da população mundial depende da medicina tradicional. A prática de utilizar plantas e outras fontes naturais como terapias tem recebido cada vez mais atenção globalmente, recuperando seu status como uma fonte de produtos medicinais. Isso é impulsionado pelo crescente interesse em estilos de vida saudáveis pelos desafios enfrentados no tratamento de certas doenças e na resistência microbiana (10, 17, 18). No contexto brasileiro, a fitoterapia surge como uma opção terapêutica adequada às necessidades de atenção primária à saúde em muitos municípios (19). A expansão dessa abordagem terapêutica pode ser atribuída a uma série de fatores, como os efeitos adversos associados aos medicamentos sintéticos, a preferência dos consumidores por tratamentos "naturais", o aumento do respaldo científico das propriedades farmacológicas das espécies vegetais, o desenvolvimento de novos métodos analíticos para controle de qualidade, avanços na preparação e administração dos produtos, além de custos relativamente baixos. (20).

2.3 A Família *Myrtaceae*

A família *Myrtaceae*, pertencente à divisão *Magnoliophyta*, classe *Magnoliopsida* e ordem *Myrtales*, é amplamente distribuída naturalmente em todos os continentes do hemisfério sul. Os frutos dessa família possuem um sabor agradável, o que os torna uma valiosa fonte de alimento para a fauna silvestre. Devido a essa interação frequente com os dispersores, as *Myrtaceae* desempenham um papel significativo na preservação dos serviços ambientais, especialmente na proteção natural, conferindo a essa família um potencial elevado para ser utilizada na recuperação de áreas degradadas (21-24).

Entre os gêneros da família *Myrtaceae*, destaca-se o gênero *Eugenia*, que possui espécies

de valor comercial, nutritivo e potencial para a obtenção de fármacos (25, 26). Apesar de sua importância ecológica e potencial de exploração comercial, muitas espécies de *Eugenia* apresentam uma baixa densidade de ocorrência em áreas nativas (27).

2.4 *Eugenia dysenterica*

E. dysenterica DC., conhecida como cagaita ou cagaiteira, é uma espécie frutífera nativa do bioma Cerrado e amplamente empregada pela população local tanto para fins alimentares quanto medicinais (28). A árvore da cagaita é uma espécie frutífera que pode alcançar até 10 metros de altura, com tronco e ramos retorcidos e uma casca espessa e fissurada, conforme exemplificado na figura 1 (figura 1). Suas folhas são simples e opostas, com formato oval ou elíptico, ponta protegida afilada e base que varia de obtusa a subcordada. A nervura das folhas apresenta uma rede, mas não forma uma nervura marginal clara. Os frutos têm formato globoso, consistência carnosa, cor amarelo-claro e um sabor ligeiramente ácido. A casca dos frutos é fina e membranosa (29). Os frutos da cagaita são comestíveis e tradicionalmente utilizados como um agente catártico (28), auxiliando na regulação do funcionamento intestinal. Por outro lado, a infusão feita com as folhas de *E. dysenterica* é empregada na medicina popular para tratar diarreia e disenteria (30).



Figura 1. *E.dysenterica*. ex DC: planta inteira e adulta. Especimen a qual foi realizada a coleta. localizado no Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil

2.5 Atividades farmacológicas

Um estudo no Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia investigou o extrato aquoso das folhas de *E. dysenterica* e constatou que essa espécie apresenta atividade gastroprotetora em um modelo animal de lesões gástricas induzidas pela administração de solução hidroalcoólica acidificada (31). Essa atividade está associada à presença de taninos condensados no extrato, que foram identificados por análises fitoquímicas. Outro estudo realizado por Galheigo e colaboradores revelou que o óleo essencial das folhas de *E. dysenterica* é capaz de inibir a diarreia por sua capacidade de inibir a secreção intestinal e aumentar a absorção (32). Compostos polifenólicos, como flavonoides e taninos, estão associados às propriedades gastroprotetoras de plantas da família Myrtaceae, incluindo *E. dysenterica* (30-34).

Além dos efeitos gastroprotetores, estudos indicaram outras atividades farmacológicas da *E. dysenterica*, como atividade anti-helmíntica e ação antifúngica. Um estudo utilizando o óleo essencial extraído das folhas da planta mostrou um potencial efeito cicatrizante em feridas (31, 35, 36). Também foram demonstradas propriedades neuroprotetoras em um estudo que utilizou um extrato hidroalcoólico preparado a partir das folhas de *E. dysenterica* em um modelo experimental *in vivo* (37).

Outra pesquisa sugere que *E. dysenterica* pode ter efeitos benéficos no tratamento da obesidade e também pode ser utilizada na composição de cosméticos dermatológicos com propriedades antienvhecimento (38). No entanto, até o momento, não há registros na literatura sobre os possíveis efeitos analgesia e anti-inflamatórios do extrato aquoso de *E. dysenterica*. A maioria das ações farmacológicas mencionadas parece estar relacionada à presença de metabólitos secundários, como taninos, flavonóides, terpenos e saponinas nas folhas da planta (39, 40).

2.6 Controle da Qualidade

Conforme definido pela legislação sanitária brasileira, os medicamentos fitoterápicos são produtos obtidos exclusivamente a partir de matérias-primas vegetais (40). Esses medicamentos de origem vegetal sempre ocuparam uma posição significativa no mercado farmacêutico. Embora haja uma falta de investimento significativo em pesquisas com plantas medicinais, estima-se que pelo menos metade das plantas contenham substâncias conhecidas

como princípios ativos, as quais possuem propriedades curativas e preventivas para diversas doenças (41).

É possível examinar a forma como esses produtos estão sendo disponibilizados aos consumidores, aderindo às regulamentações específicas e critérios cientificamente prolongados, devido à sua elevada demanda. (43). Estabelecer um padrão para as plantas medicinais é de suma importância, uma vez que essa abordagem terapêutica continua sendo adotada devido à eficácia e ao uso de produtos naturais no tratamento de doenças. Nesse contexto, é crucial direcionar a atenção para a qualidade das plantas e seus derivados, que são produzidos, comercializados e utilizados pela população (44).

No Brasil, a produção e distribuição de drogas vegetais são mantidas em um controle de qualidade baseado em legislação específica. As diretrizes da Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos (45, 46) ressaltam a importância de regular o cultivo, o manejo sustentável, a produção, a distribuição e o uso de plantas medicinais e fitoterápicos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabeleceu regulamentos para os fitoterápicos no país, classificando-os como medicamentos convencionais que devem atender a critérios de qualidade, segurança e eficácia. Esses critérios são embasados em levantamentos etnofarmacológicos sobre o uso, bem como em estudos farmacológicos e toxicológicos pré-clínicos e clínicos (15).

2.7 Controle Microbiológico

A Farmacopéia Brasileira desempenha um papel fundamental no uso e desenvolvimento de medicamentos, sendo a sua 6ª edição (2019) uma referência importante nesse campo. Essa publicação estabelece os procedimentos para o controle de qualidade, abrangendo desde análises sensoriais até ensaios específicos para técnicos de limites microbiológicos de cada espécie vegetal reconhecida e registrada pela Anvisa (47). Os testes recomendados pelas farmacopéias são direcionados a diferentes formas farmacêuticas. Além disso, o teste de análise organoléptica é aplicado a todas as formas farmacêuticas, incluindo espécies vegetais, e envolve a avaliação de características como aparência, cor, odor e sabor (48).

O controle de qualidade em uma indústria farmacêutica é dividido em dois setores: controle de qualidade físico-químico e controle de qualidade microbiológico. No entanto, as atividades de controle de qualidade vão além das atividades laboratoriais, devendo estar presentes em todas as decisões relacionadas à qualidade do produto (49). A Farmacopéia

Brasileira estabelece os testes microbiológicos a serem realizados tanto para produtos estéreis quanto não estéreis, com o objetivo de garantir a qualidade do produto a ser comercializado. Além disso, a Farmacopéia estabelece os limites microbianos que cada produto pode ou não apresentar (48, 49). Com a popularização do uso de plantas medicinais, surge uma preocupação em relação à possibilidade de carga microbiana natural ou contaminação durante as etapas de preparação. Portanto, é necessário conhecer as propriedades das plantas para evitar contaminações e garantir a segurança e qualidade dos produtos (50).

As monografias e Resoluções de Diretoria Colegiada (RDCs) estabelecem requisitos relacionados à ausência de microrganismos, considerando suas características e quantidade. Essas diretrizes definem limites de aceitação baseados na origem da matéria-prima vegetal, com o objetivo de estabelecer uma margem segura para o uso, garantindo a ausência de riscos à saúde da população (51, 52).

A Farmacopeia Brasileira 6ª edição de 2019 estabelece as seguintes especificações microbiológicas: é permitida a presença de uma contagem total de bactérias aeróbias de até 10^5 UFC/g ou mL, e uma contagem total de fungos de até 10^3 UFC/g ou mL. Também aborda os microrganismos que podem estar ausentes em produtos de origem vegetal, como *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e bactérias gram-negativas biliares tolerantes. Esses microrganismos são identificados por meio de pesquisa de microrganismos patogênicos, bem como a pesquisa de microrganismos mesófilos para determinar a presença de fungos e bactérias (48).

As análises realizadas no controle de qualidade microbiológica devem ser seguidas com rigor, pois muitas das doenças que prejudicaram os seres humanos têm origem microbiana. Isso evidencia a necessidade dos fabricantes de cumprir as legislações e regulamentos estabelecidos, a fim de garantir a qualidade do produto final para o consumidor (51, 52).

3 OBJETIVOS

Realizar a avaliação da qualidade microbiológica do extrato aquoso e da droga vegetal das folhas de *E. dysenterica*, com o objetivo de alcançar os seguintes propósitos específicos: Caracterizar de forma o material botânico da espécie *E. dysenterica*;

Obter os produtos derivados das folhas de *E. dysenterica* de maneira adequada;

Realizar análises abrangentes de controle microbiológico para determinar a presença de bactérias e fungos;

Verificar a existência de microrganismos patogênicos, bactérias bilitolerantes, *E.coli* e

Salmonella por meio de métodos validados e recomendados pela Farmacopéia Brasileira 6^o edição, no intuito de assegurar um controle de qualidade microbiológica eficiente.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Detalhes da coleta

A coleta da droga vegetal foi realizada manualmente no período matutino de abril de 2023, por volta das onze horas, em áreas de Cerrado localizadas no campus da Universidade de Brasília, no Distrito Federal, Brasil. A planta em questão é de ocorrência natural e foi encontrada nas seguintes coordenadas geográficas: 15° 46' 18" S e 47° 51' 60" W. Durante esse período, as condições climáticas registravam alta incidência de raios solares, com temperatura e umidade em torno de 27°C e 45%, respectivamente.

4.2 Identificação do material botânico

A identificação da planta foi realizada pela Profa Dra Sueli Maria Gomes, do Instituto de Biologia da UnB, uma profissional habilitada. Uma amostra da espécie, conhecida como exsicata, encontra-se depositada no Herbário da Universidade de Brasília com a catalogação UB 914.

O cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, foi realizado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado sob o número de cadastro n° AF6618D.

4.3 Caracterização organoléptica

A análise dos atributos organolépticos foi realizada por meio de observação visual e olfativa, a fim de identificar características importantes da planta, como o aspecto do tronco, a coloração e o odor, como algumas características das folhas ilustradas na próxima figura (figura 2). Além disso, foram comparados os resultados obtidos com informações disponíveis na literatura, para verificar possíveis semelhanças (53, 54).



Figura 2: Folhas saudáveis de *E. desynerica* Mart. Ex DC: folhas da planta inteira e adulta. Especimen localizado no Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil

4.4 Secagem e conservação

As folhas da planta foram desidratadas utilizando uma estufa (modelo SL - 102 Solab, Brasil). Durante o processo, as folhas foram cuidadosamente dispostas de forma uniforme dentro da estufa e expostas a uma temperatura de 40°C por um período de 3 dias, garantindo sua completa desidratação. Uma vez que as folhas estavam secas, a droga vegetal foi triturada em um moinho de facas (modelo Croton MA-580 Marconi, Brasil), utilizando mesh 20. Em seguida, o material resultante foi armazenado em frascos de vidro para preservar sua integridade.

4.5 Obtenção do extrato bruto aquoso

O extrato aquoso foi gentilmente cedido pela Dr. Sandra Marcia Mazzuti da Silva, esse material obtido durante a realização de seu trabalho de doutorado. Para essa amostra, as folhas

foram coletadas em Agosto de 2014 por volta da 10 horas no campus da Universidade de Brasília, em Brasília, Distrito Federal, Brasil. A planta esta localizada nas seguintes coordenadas 15° 46' 18'' S e 47° 51' 60'' O. O clima era de alta incidência de raios solares e temperatura e umidade de aproximadamente 27°C e 34% respectivamente. Após a seleção das folhas, as mesmas foram secas em estufa e pulverizada, assim, produziu-se o extrato aquoso, sendo obtido por infusão do material botânico (100g) em água destilada (500mL) aproximadamente 70°C (47). A mistura foi deixada arrefecer até 40°C, sendo então submetida à filtração. A solução extrativa resultante foi mantida a -80°C e após, foi submetida ao processo de liofilização (Advantage Plus XL-70, SP Scientific) (55).

4.6 Meios de cultura

Os meios de cultura foram preparados a partir de uma base desidratada disponível comercialmente, foram preparados conforme as instruções de cada fabricante. Após, foram esterilizados em autoclave a 120°C e 1 atm por 15 minutos, resfriados em banho maria e vertidos em placas de Petri estéreis.

Os meios utilizados para a contagem total de bactérias e fungos mesófilos, foram o Ágar Caseína Soja e o Ágar Sabouraud-dextrose, respectivamente. Os meios para bilitolerante foi Ágar Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose, para *Escherichia coli* foi o Mac Conkey e para *Salmonella* foi usado o meio Xilose todos os meios baseados na FB.

4.7 Determinação de bactérias

Para realização, toda a manipulação foi realizada em uma capela de fluxo laminar, em todos os ensaios realizados. Para a determinação de bactérias foi baseado no método

5.5.3.1.2 da FB 6 edição, o método de contagem em placas. Foram feitos testes com a droga vegetal e o extrato aquoso. Para as amostras, foi diluído para a amostra 1, 10 g da droga seca em 90 mL do Caldo caseína, essa foi a amostra da droga vegetal. Para a amostra 2 foi diluído 10 g do extrato liofilizado em 90 mL do Caldo Caseína, sendo usado como amostras mãe, a amostra 1 e a amostra 2. Assim, em ambas amostras foi-se pipetado 100 uL das amostras preparadas (extrato aquoso e droga vegetal) e colocadas em placas de Petri devidamente identificadas seguindo suas respectivas diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . As placas de Petri foram preparadas anteriormente sendo adicionado 15mL do meio Ágar caseína soja estéril fundido e esperado até sua solidificação. Das três diluições foram colocados nas placas em triplicata além de 1 placa controle contendo apenas o meio de cultura conforme demonstrado no esquema da figura 3. Em seguida foi realizado o método de estrias em placa e incubadas em estufas bacteriológica na temperatura de $32,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ onde permaneceram por 5 dias (47).

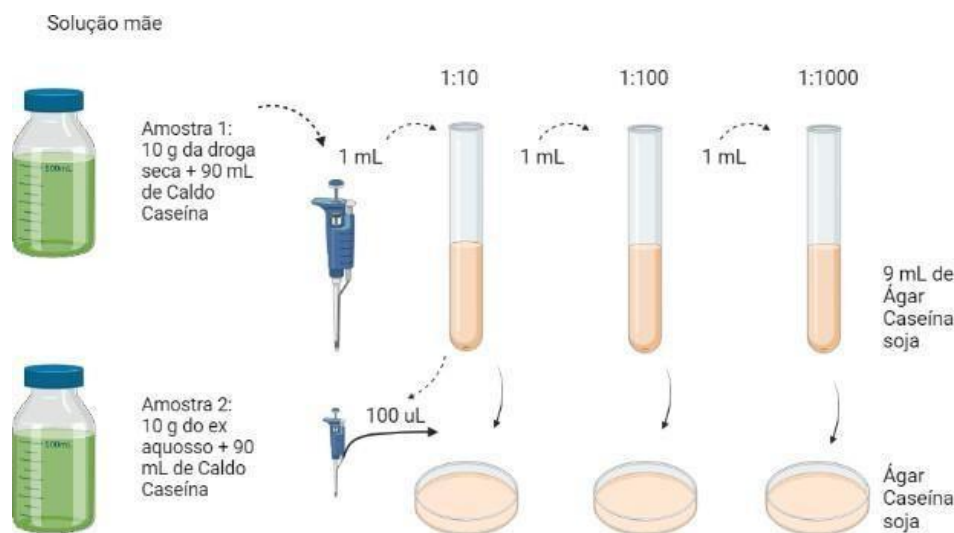


Figura 3. Esquema ilustrando Amostra 1 (diluição da droga vegetal) e 2 (diluição do extrato aquoso). Esquema representando a diluição para as placas de Ágar Caseína.

4.8 Determinação de fungos

Para realização do método de contagem em placas, foram feitos testes com a droga vegetal e o extrato aquoso (amostra 1 e 2). 1 mL das soluções mãe foram colocadas em placas de Petri devidamente identificadas seguindo suas respectivas diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , contendo o meio Ágar Sabouraud dextrose estéril fundido e mantido em temperatura de 25°C. Todas as diluições foram feitas em triplicata além de 1 placa controle contendo apenas o meio de cultura. Em seguida foi feita por meio de inoculação de superfície foram incubadas em a 25°C por 7 dias, todo o ensaio baseado no método 5.5.3.1.3 da Farmacopéia Brasileira 6° edição (47). Todo processo foi feito da mesma forma do esquema da figura 3, tendo a diferenciação do meio das placas, somente.

4.9 Determinação de microrganismo patogênicos

Nas análises de determinação dos microrganismos foram realizadas sementeiras em placas contendo meios seletivos, utilizando o método de superfície descrito na Farmacopéia Brasileira 6° edição(47). As análises foram feitas em capela de fluxo laminar, para determinação da presença de patógenos como, *Escherichia coli*, *Salmonella* e bactéria Gram Negativas Bile Tolerantes. Todo o ensaio baseado no método 5.5.3.1.3 da Farmacopéia Brasileira 6° edição (47). Para análises dos patógenos seguiu-se os seguintes passos também demonstrados no esquema da figura 4.

Para a pesquisa de *E. coli*, foram feitos testes com a droga vegetal e o extrato aquoso (amostra 1 e 2). Inicialmente foi feito o enriquecimento não seletivo, transferindo 10 mL da amostrapreparada da diluição, para 90 mL de caldo de enriquecimento caseína soja, o qual foi incubado a

temperatura de 35°C por 24h. Após o período, foi-se adicionado 1 mL em 100 mL de Caldo MacConkey e incubadas à temperatura de 43°C por 24h, após, com o auxílio de alça bacteriológica estéril descartável, foi feita a subcultura utilizando o método de estrias em superfície transferindo 100 uL do material para a placa Petri contendo o meio seletivo Ágar MacConkey, ficando incubada a 32,5°± 2,5°C por 24h (47).

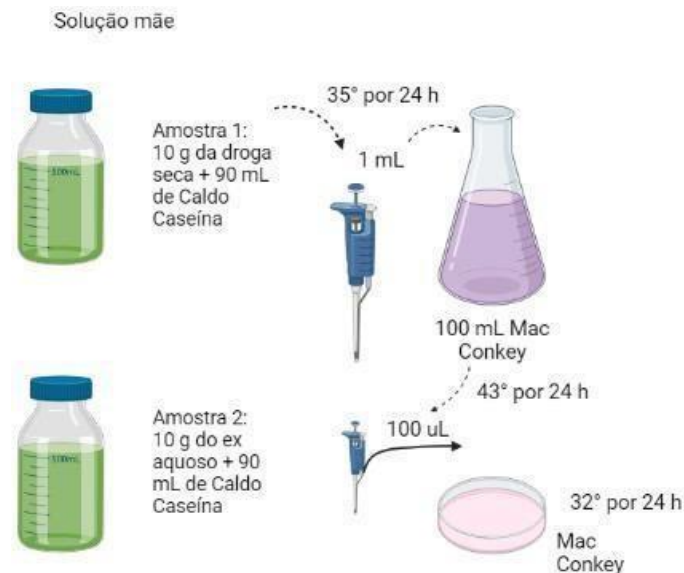


Figura 4. Esquema de ensaio para *E.coli*. Demonstrando as soluções mãe e o processo para a subcultura em placas de Mac Conkey.

Para a pesquisa da presença de *Salmonella*, foram feitos testes com a droga vegetal e o extrato aquoso (amostra 1 e 2). Primeiramente foi realizado o enriquecimento não seletivo, transferindo 10g da amostra para um frasco contendo 90 mL do caldo de enriquecimento caseína soja, e incubando-o a 36° ± 1°C por 24h.

Após o período de incubação, com auxílio de um pipetador, foi transferido 100 uL do caldo para um frasco contendo 10 mL de caldo de enriquecimento seletivo Rappaport Vassiliadis e incubado a 32°C por 24h, conforme demonstrado no esquema da figura 5. Passado o tempo, com o auxílio de alça bacteriológica estéril descartável, foi feita a subcultura utilizando

o método de estrias em superfície com o material pipetado para a placa Petri contendo o meio seletivo Ágar Xilose lisina desoxicolato, ficando incubada a 32,5°± 2,5°C por 24h (47).

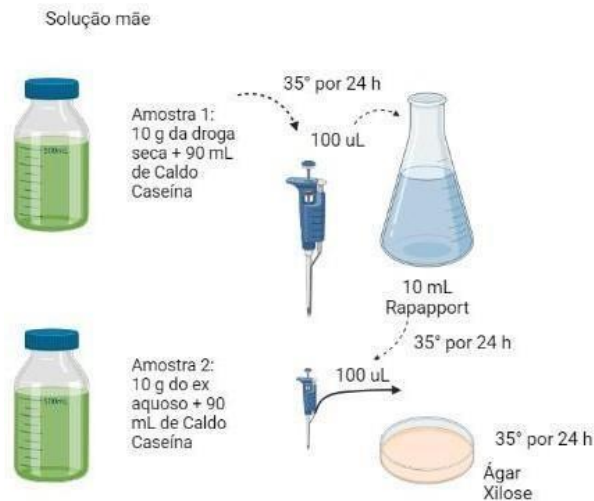


Figura 5. Esquema de Ensaio para *Salmonella*. Utilizado o meio Rapaport e Placas de Petri contendo Ágar Xilose.

Para a pesquisa da presença de bactérias biletolerantes, foram feitos testes com a droga vegetal e o extrato aquoso. Primeiramente foi realizada o enriquecimento não seletivo, transferindo 1 mL da solução preparado da diluição 10^1 , para 9 mL do caldo não seletivo ágar caseína, incubando-o a $22,5^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ por 3h. Após o tempo determinado, 1mL da solução foi transferida para 9mL do caldo de enriquecimento para enterobactérias Mossel, sendo diluído em 1:10, 1:100 e 1:1000, incubando-o novamente por 24h a temperatura de 35°C . Após o período, com o auxílio de alça bacteriológica estéril descartável, foi feita a subcultura utilizando o método de estrias em superfície transferindo 100 uL do material para a placa Petri contendo o meio seletivo Ágar violeta vermelho neutro bile glicose, ficando incubada a $32,5^\circ \pm 2,5^\circ\text{C}$ por 24h, conforme demonstrado no esquema da figura 6 (47).

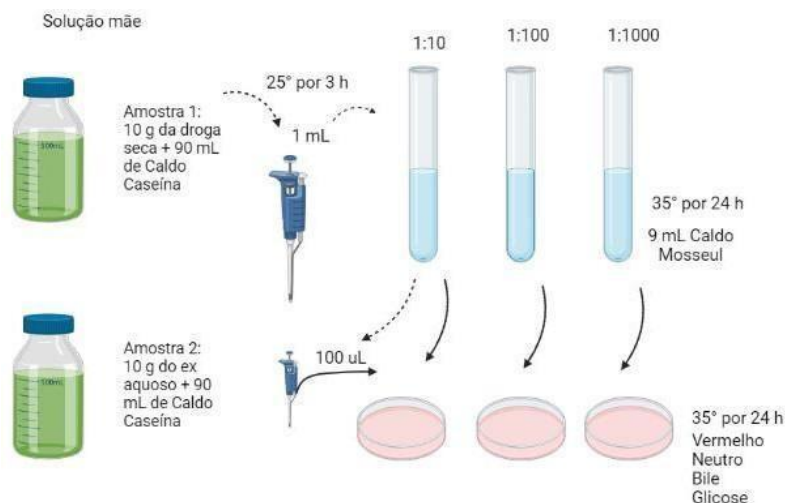


Figura 6. Esquema de ensaio para Bilitorelante. Foi Utilizado Caldo Mosseul e Placas de Petri contendo Meio Vermelho Neutro Bile Glicose.

4.10 Contagem total de colônias

Os números de colônias encontradas foram multiplicados pelo fator de diluição correspondente e os resultados foram expressos em números de Unidades Formadoras de Colônias por grama da amostra (UFC/mL) (47).

Para a contagem das UFCs, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$N = (P1 + P2/Q) \times D$$

Onde:

N = Número de UFC/g ou mL

P1, P2... = Número de colônias das placas utilizadas

D = Diluição utilizada

Q = Quantidade de placas utilizadas

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Detalhes da coleta

A matéria-prima vegetal coletada foi desidratada em estufa. Logo após o processo foi pulverizada e pesada, tendo assim o valor de 157,46g. O material obtido foi armazenado em frasco de vidro.

5.2 Identificação do material botânico

A espécie em questão corresponde a *E. desynerica* DC., que está classificada no gênero *Eugenia* e pertence à família Myrtaceae, está em concordância (56, 57).

5.3 Caracterização organoléptica

As folhas possuem um aroma distinto e apresentam uma coloração avermelhada quando estão jovens, enquanto na maturidade adquirem uma tonalidade verde brilhante. Essas características, conforme descritas em estudos prévios podem ser úteis para identificar a espécie. (57-61).

5.4 Determinação de contaminantes microbiológicos

Considerando que as drogas vegetais estão em contato direto com o ambiente, é importante destacar que podem ser expressos à presença de contaminantes, como fungos e bactérias. Portanto,

o controle microbiológico de plantas medicinais é de extrema importância (60-62). A presença dessas contaminações pode resultar na má qualidade da matéria-prima e até no desenvolvimento de doenças nos usuários. Assim, é crucial garantir a qualidade e segurança desses produtos em todas as etapas, desde a coleta até o produto final (47, 62, 63).

Na contagem do número total de microrganismos mesófilos nas folhas pulverizadas de *E. dysenterica*, foi observado crescimento de bactérias e fungos somente nas amostras da drogavegetal, conforme mostrado nas figuras de 7 a 10.

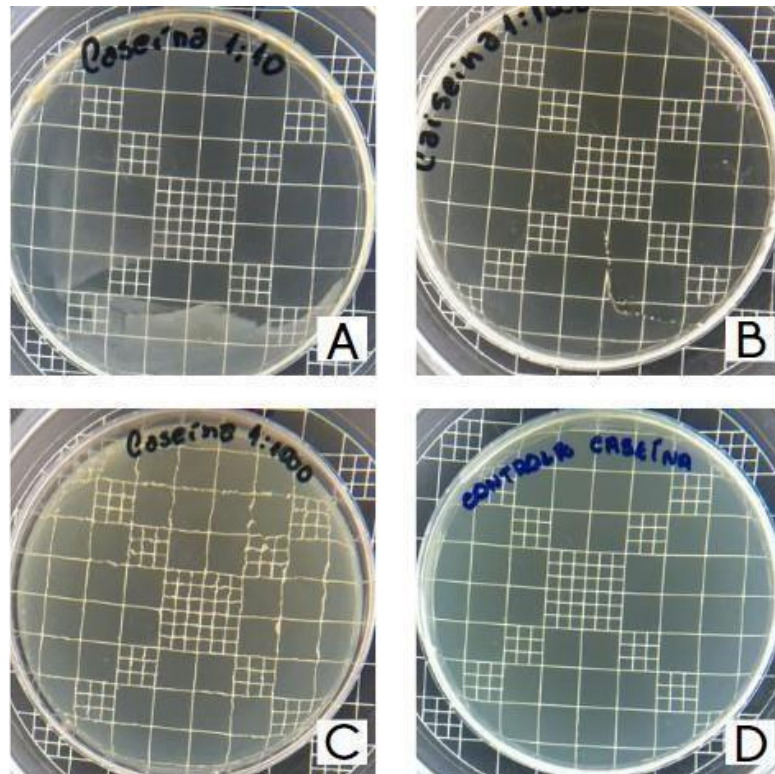


Figura 7: Placas para a determinação de bactérias e fungos em extrato aquoso no Ágar Caseína Soja , A: diluída em 10^1 , B: diluída em 10^2 , C: diluída em 10^3 e D: controle.

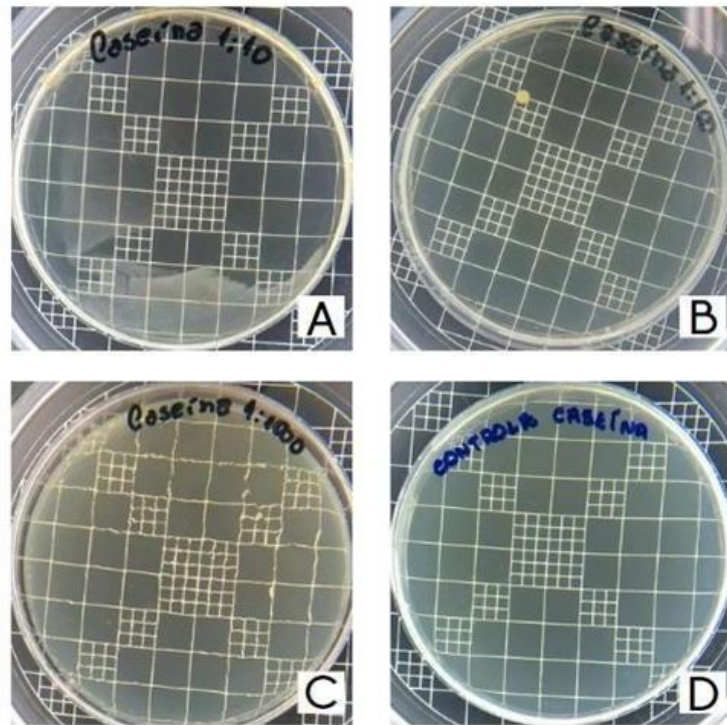


Figura 8: Placas para a determinação de bactérias e fungos em droga vegetal em Ágar Caseína Soja , A: diluída em 10^1 , B: diluída em 10^2 , C: diluída em 10^3 e D: controle.

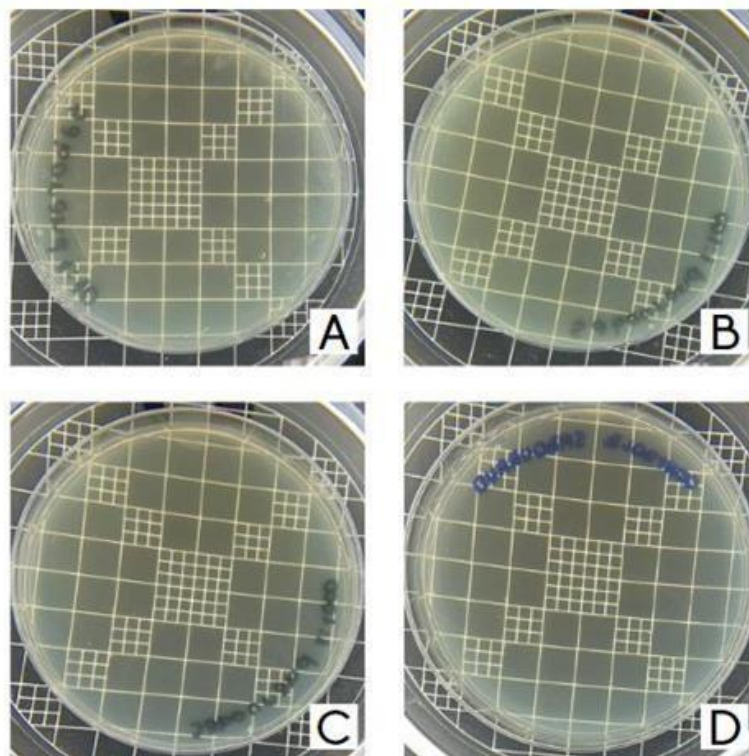


Figura 9: Placas para a determinação de fungos em extrato aquoso no Ágar Sabouraud-Dextrose. A: diluída em 10^1 , B: diluída em 10^2 , C: diluída em 10^3 e D: controle.

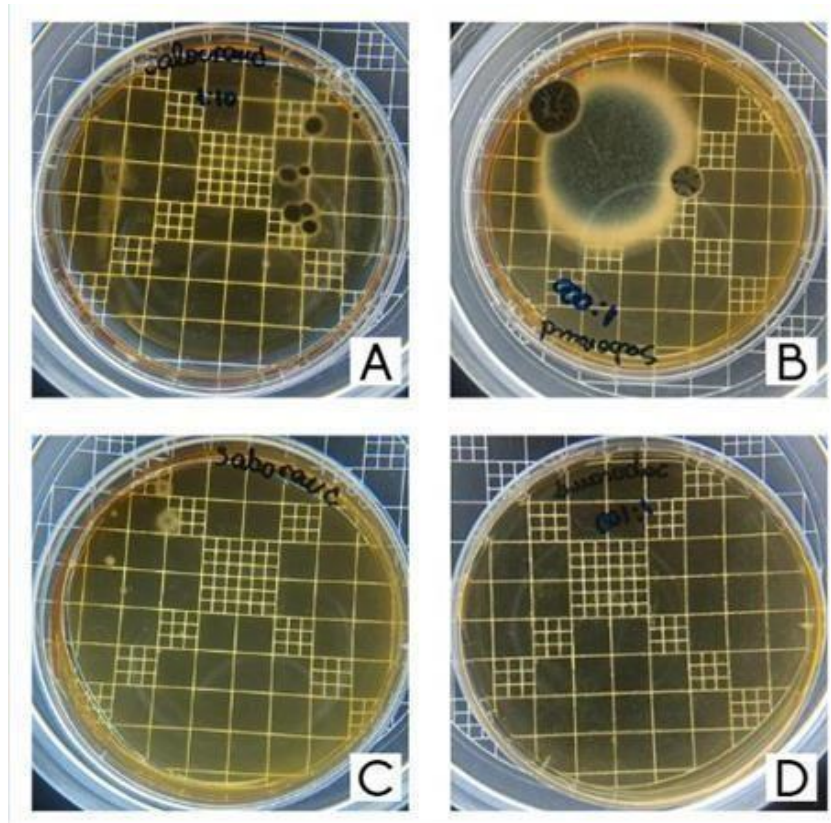


Figura 10. Placas para a determinação de fungos em droga vegetal no Ágar Sabouraud Dextrose . A: diluída em 10^1 , B: diluída em 10^2 , C: diluída em 10^{-1} e D: controle.

5.5 Determinação de microrganismo patogênicos (*E.coli*, *Salmonella*, Bactérias Bilitolerantes)

Foi avaliado se houve o crescimento de colônias vermelhas de provável de *E. coli*, mas não houve crescimento tanto no extrato aquoso quanto na droga vegetal. Também foi avaliado se houve o crescimento de colônias indicando presença provável de *Salmonella*, mas não houve crescimento em nenhum dos testes, e finalizando, também não foi encontrado crescimento de *Salmonella* e bactérias bilitolerante em nenhuma das amostras. Logo, os produto cumpre os testes, pois não foi observado crescimento de tais colônias como retratado nas figuras de 11 a 16.

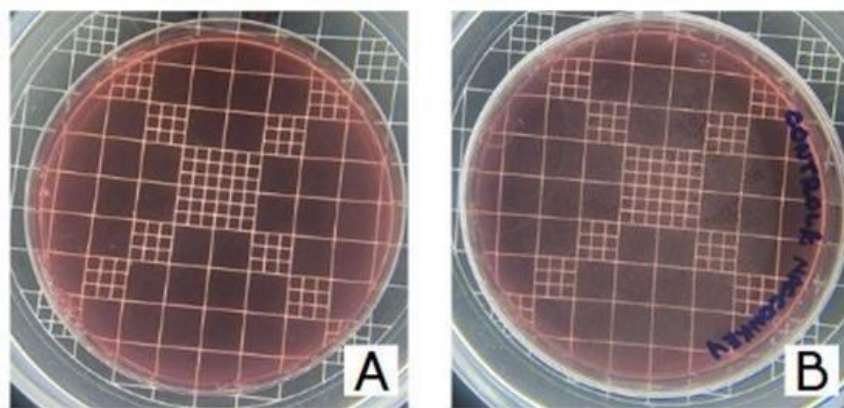


Figura 11. Placas para a determinação de *E. coli* em droga vegetal no Ágar Mac Conkey.

A:Placa amostra, B: Placa controle.

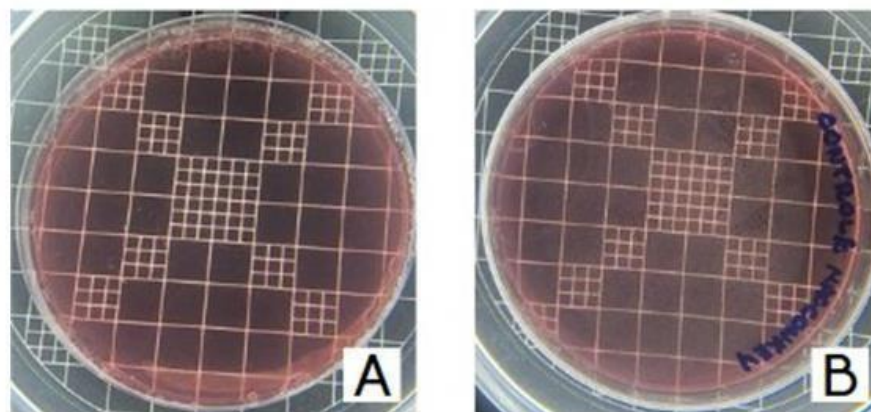


Figura 12:Placas para a determinação de *E. coli* em extrato aquoso no Ágar Mac Conkey

.A: Placa amostra, B: Placa controle.

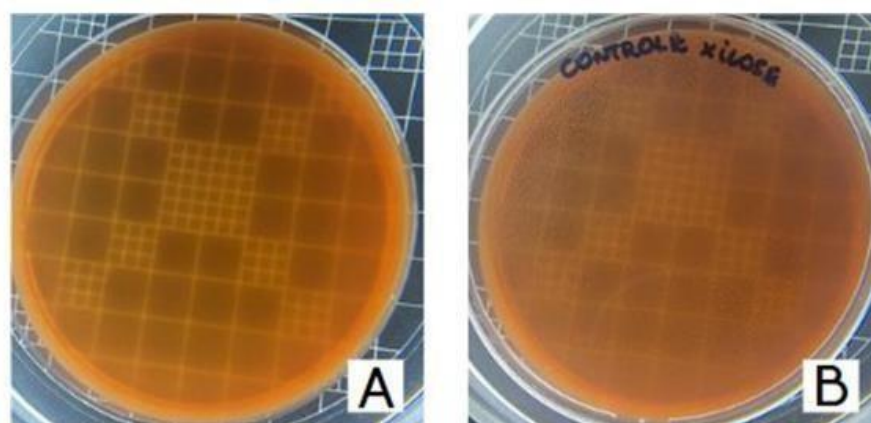


Figura 13: Placas para a determinação de *Salmonella* em droga vegetal no Ágar Xilose. A: Placa amostra, B: Placa controle

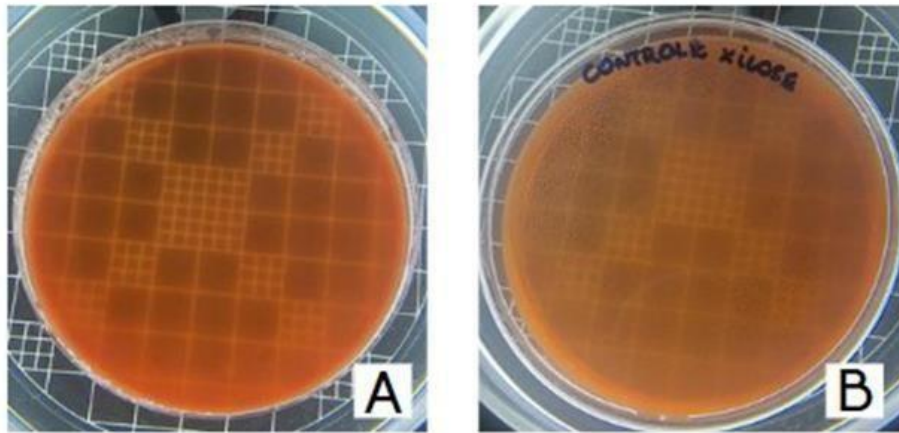


Figura 14: Placas para a determinação de *Salmonella* em extrato aquoso no Ágar Xilose.

A: Placa amostra, **B:** Placa controle.

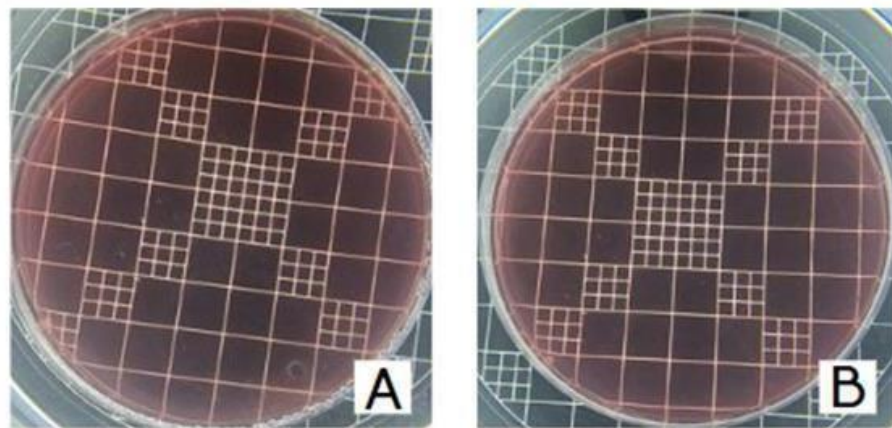


Figura 15: Placas para a Determinação de Bilitorelantes em extrato aquoso no Ágar Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose. **A:** Placa amostra, **B:** Placa controle.

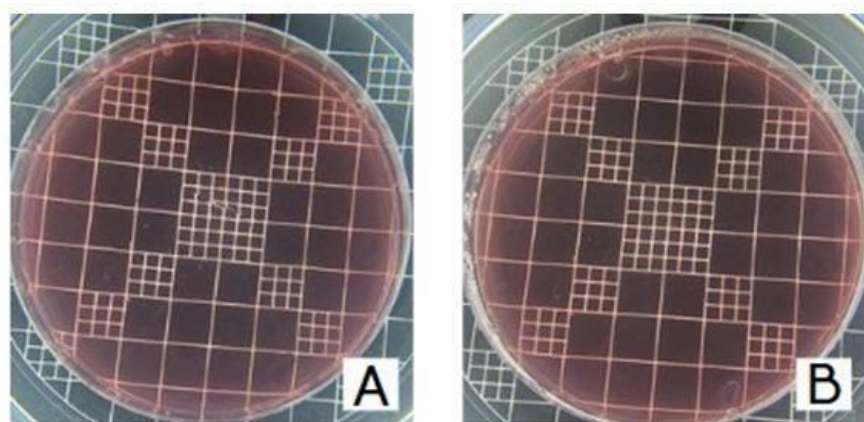


Figura 16: Placas para a Determinação de Bilitorelantes em droga vegetal no Ágar Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose. **A:** Placa amostra, **B:** Placa controle.

5.5 Contagem total de colônias

Foram encontradas 6 colônias de fungos nas placas de Sabouraud com diluição 1:10 e 3 colônias de fungos, na diluição 1:100. Em ágar caseína-soja foi visualizada 1 colônia de bactéria na diluição 1:100. A Farmacopeia orienta que sendo o número de colônias nas placas de todas as diluições menor que 20, deve se registrar a contagem presente na menor diluição e expressar como UFC/g ou mL,

A Tabelas 1 e 2 apresenta os resultados obtidos para as análises de crescimento de mesófilos , no extrato aquoso e na droga vegetal. Considerando os valores determinados pela legislação vigente brasileira todos os crescimentos estão dentro dos limites aceitáveis pela ANVISA. O controle microbiológico para patógeno resultou em resultados concordantes com a preconizado pela Farmacopeia, ou seja, ausência de crescimento dos patógenos avaliados.

Tabela 1 – Resultados referentes às análises de crescimento de mesófilos, para o extrato aquoso e para a droga vegetal

Diluição/UFC	Droga vegetal ágar Caseína- soja	Extratoaquoso ágar Caseína- soja	Droga vegetal ágar Sabouraud	Extrato aquoso ágar Sabouraud
1:10	Ausente	Ausente	6 colônia	Ausente
1:100	1 colônias	Ausente	3 colônias	Ausente
1:1000	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Tabela 2. Resultado do cálculo do número de unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC/g).

Droga vegetal ágar Caseína-soja	Extrato aquoso ágar Caseína-soja	Droga vegetal ágar sabouraud	Extrato aquoso ágar sabouraud
100 UFC/g	<10 UFC/g	60 UFC/g	<10 UFC/g

7 CONCLUSÃO

O controle de microbiológico foi utilizado para avaliar a presença de mesófilos e patógenos nas amostras em estudo. Na análise realizada, observou-se que não houve crescimento de microrganismos nas placas contendo o extrato aquoso, porém, houve crescimento nas placas contendo a droga vegetal. Apesar desse crescimento evidente, todas as etapas verificadas do controle de qualidade, necessárias para o registro de um medicamento fitoterápico, demonstraram que as matérias-primas atenderam aos requisitos estabelecidos.

As características descritas para *E. dysenterica* fornecem suporte para sua identificação e representam uma contribuição para o controle de qualidade da droga vegetal e seus derivados. Diante do exposto, foram encontradas características desejáveis de acordo com as diretrizes da farmacopéia.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. NETO, M.S; et.al. Emissão de gases do efeito estufa em diferentes usos da terra no Bioma Cerrado. R. Bras. Ci. Solo, 35:63-76, 2011, p.64.
2. GOBBO-Neto L, Lopes NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Química Nova. 2007;30(2):374.
3. COWAN MM. Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews. 1999;12(4):564-82.
4. HARAGARUSHI LMM, Carvalho OBd. Plantas medicinais: do curso de plantas medicinais. Plantas medicinais: do curso de plantas medicinais: Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente; 2010.
5. SOUZA- Moreira TM, Salgado, HRN, Pietro RCLR. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. Rev Bras Farmacogn. 2010 Jul;20(3):435-440, doi:http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2010000300023.
6. PALHARES D. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae Jussieu). Revista Lecta. 2003;21(1/2):29-36.
7. SILVA, S. M. M.; Costa, C. R. R.; Gelfuso, G. M.; Guerra, E. N. S.; Nóbrega, Y. K. M.; Gomes, S. M.; Pic-Taylor, A.; FonsecaBazzo, Y. M.; Silveira, D.; Magalhães, P. O.; Wound healing effect of essential oil extracted from *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) leaves. Molecules 2018, 24, 2. [Crossref] [PubMed]
8. PANCHE, A. N.; Diwan, A. D.; Chandra, S. R.; Flavonoids: an overview. Journal of Nutritional Science 2016, 5, e47. [Crossref] [PubMed] 14. Parra, M. R.; Coutinho, R. X.; Pessano, E. F. C.; Um breve olhar sobre a cienciometria: origem, evolução, tendências e sua contribuição para o ensino de ciências. Revista Contexto & Educação 2019, 34, 126. [Crossref]
9. Resolução da diretoria colegiada- RDC nº 26, de 13 de Maio de 2014. Disponível em:< https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf> Acessado em: 16 Jun. 2023.
10. ROCHA LO, Soares MMSR, Corrêa CL 2004. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* Delile (sene) e *Peumus boldus* (Molina) Lyons (boldo-doChile) comercializadas na cidade de Campinas, Brasil. Rev Bras Cien Farmac 40: 521-527
11. FISHER DCH, Ohara MT, Saito T 1996. Padrão microbiano em medicamentos não estéreis de uso oral: enquadramento de produtos fitoterápicos. Rev Bras Farmacogn 5: 29- 54
12. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária -ANVISA. Farmacopeia Brasileira: Métodos Gerais. Fundação Oswaldo Cruz. 5a ed.Brasília, 2010.
13. LIMA, J. E. F. W. Situação e perspectivas sobre as águas do cerrado. Cienc. Cult. vol.63 no.3 São Paulo July 2011, p.1

14. COUTINHO, L.M. Aspectos do Cerrado : Clima, USP, 2016. Disponível em: <http://eco.ib.usp.br/cerrado/aspectos_clima.htm> Acesso em: 11 de Junho de 2023.
15. CARDOSO, E. et al. Mudanças Fitofisionômicas no Cerrado: 18 anos de sucessão ecológica na estação ecológica do Panga, Uberlândia – MG. Revista Caminhos de Geografia, Uberlândia, v. 10, n. 32 dez/2009 p. 254 – 268.
16. OLIVEIRA NETO, A. P. F. et al. Estudo das garrafadas comercializadas por raizeiros em feiras livres de Arapiraca-Al. 65ª Reunião Anual da SBPC. 2013. Disponível em: . Acesso em: 25 mar. 2023.
17. De Smet PAGM 2004. Health risks of herbal remedies: an update. Clin Pharmacol Ther 76: 1-17
18. Giveon SM, Liberman N, Klang S, Kahan E 2004. Are people who use “natural drugs” aware of their potentially harmful side effects and reporting to family physician? Patient Educ Couns 53: 5-11
19. Eldin S, Dunford A 2001. Fitoterapia na atenção primária à saúde. São Paulo: Manole.
- 20 Cañigüeral S, Dellacassa E, Bandoni AL 2003. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿indicadores de dependencia o factores de desarrollo? Acta Farm Bonaerense 22: 265- 278.
21. JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. & DONOGHUE, MJ, 2009. Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético. 3a ed. Artmed, Porto Alegre. 632p.
22. LORENÇO, A. R. L.; BARBOSA, M. R. V. Myrtaceae em restingas no limite norte dedistribuição de Mata Atlântica, Brasil. Rodriguésia, Rio de Janeiro, v.63, n.02, p.373-393, set. 2012.
23. BARROSO, G.M. et al. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 443 p.
24. BACKES, P.; IRGANG, B. Árvores do Sul: guia de identificação & interesse ecológico. Porto Alegre/RS, 2002. 328p
25. CARVALHO, A.R. Jr.; GOMES, G.A.; FERREIRA, R.O.; CARVALHO, M. G. Constituintes químicos e atividade antioxidante de folhas e galhos de *Eugenia copacabanensis* Kiaersk (Myrtaceae). Quimica Nova 2014; 37(3): 477-482.
26. SILVA, C.V.; BILIA, D.A.C.; MALUF, A.M.; BARBEDO, C.J. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess. - Myrtaceae). Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v.26, n.2, p.213-221, 2003
27. RIBEIRO, J. F.; SILVA, J. C. S.; BATMANIAN, G. J. Fitossociologia de tipos de cerrado em Planaltina - DF. Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v.8, p.131-142, 1985.
28. ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: espécies

vegetais úteis. Planaltina: Embrapa CPAC, DF. 464p., 1998.

29. RIBEIRO, J.F.; PROENÇA, C.E.B.; ALMEIDA, S.P. Potencial frutífero de algumas espécies frutíferas nativas do cerrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 8, 1986, Brasília, Anais v. 2, p. 491-500.

30. LIMA, T. B.; SILVA, O. N.; OLIVEIRA, J. T. A.; VASCONCELOS, I. M.; SCALABRIN, F. B.; ROCHA, T. L.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; SILVA, L. P.; GUADAGNIN, R. V.; QUIRINO, B. F.; CASTRO, C. F. S.; LEONARDECZ, E.; FRANCO, O. L. Identification of *E. dysenterica* laxative peptide: a novel strategy in the treatment of chronic constipation and irritable bowel syndrome. *Peptides*, v. 31, p. 1426-1433, 2010.

31. PRADO L. C.; SILVA, D. B.; DE OLIVEIRA-SILVA, G. L.; HIRAKI, K. R.; CANABRAVA, H. A.; BISPO-DA-SILVA, L. B. The gastroprotective effects of *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) leaf extract: the possible role of condensed tannins. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 37, p. 722-730, 2014.

32. GALHEIRO MR, Prado LC, Mundin AM, Gomes DO, Chang R, Lima AM, Canabrava HA, Bispo-da-Silva LB. Antidiarrhoeic effect of *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) leaf essential oil. *Nat Prod Res*. 2016;30(10):1182-5. doi: 10.1080/14786419.2015.1043633. Epub 2015 Jul 7. PMID: 26150261.,

33. A. M. C.; CANABRAVA, H. A. N.; BISPO-DA-SILVA. Antidiarrhoeic effect of *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) leaf essential oil. *Natural Product Research*, v. 7, p. 1- 4, 2015.

34. MADALOSSO, R. C.; OLIVEIRA, G. C.; MARTINS, M. T.; VIEIRA, A. E.; BARBOSA, J.; CALIARI, M. V.; CASTILHO, R. O.; TAGLIATI, C. A. *Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav. as a gastroprotective agent. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 139, p. 772-779, 2012.

35. COSTA, T. R.; FERNANDES, O. F. L.; SANTOS, S. C.; OLIVEIRA, C. M. A.; LIÃO, L. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R.; FERREIRA, H. D.; SALES, B. H. N.; SILVA, M. R. R. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 72, p. 111–117, 2000.

36. CARDOSO, L. M.; DUARTE, H. S. M.; MOREIRA, A. V. B.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) of the cerrado of Minas Gerais, Brasil: physical and chemical characterization, carotenoides and vitamins, *Food Research International*, v. 44, p. 2151-2154, 2011.

37. COSTA, Victor Ferreira. Atividade antinociceptiva do extrato aquoso das folhas de *Eugenia dysenterica* (cagaita) em modelo experimental in vivo. 2019. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.

38. MOREIRA, L. C.; ÁVILA, R. I.; VELOSO, D. F. M. C.; PEDROSA, T. N.; LIMA, E. S.; COUTO, R. O.; LIMA, E. M.; BATISTA, A. C.; PAULA, J. R.; VALADARES, M. C. In vitro safety and efficacy evaluations of a complex botanical mixture of *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae): Prospects for developing a new dermocosmetics product. *Toxicologia in Vitro*, 2017.

39. PESTANA, C. M. D.; DONADO, P. R. S.; DAZA, L. D.; BELCHIOR, T.; FESTUCCIA, G. T.; GENOVESE, M. I. Cagaita fruit (*Eugenia dysenterica* DC) and obesity: Role of polyphenols

on already established obesity. Food Research International, 2017.

40. VIEIRA, S. C. H.; SÓLON, S.; VIEIRA, M. do C.; ZÁRETE, N. A. H. Levantamento de fitoterápicos manipulados em farmácias magistrais de Dourados – MS. Revista Bras. de Farmacognosia, vol. 20, nº 1, Janeiro/Março, Curitiba, 2010.

40. COUTO, R. O.; VALGAS, A. B.; BARA, M. T. F.; PAULA, J. R. Caracterização físico- química do pó das folhas de *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae). Revista Eletrônica de Farmácia, v. 4, p. 59–69, 2009 (In Portuguese).

41. LORENZI, H. C.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

43. FENNEL , C. W. et al. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicology. Journal of Ethnopharmacology, Limerick, v. 94, p. 205-217, 2004.

44. CARVALHO, L. M.; et al. Qualidade em plantas medicinais. Edição 1. Embrapa Tabuleiros Costeiros. Aracaju, SE, 2010. 56p.

45. BRASIL 2006. Ministério da Saúde. Decreto no 5813 de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. Brasília, de 23 de junho de 2006.

46. BRASIL 2006. Ministério da Saúde. Portaria no 971 de 03 de maio de 2006. prova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS PNPIC. Brasília, 04 de maio de 2006.

47. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, 6ª ed., 2019.

48. SOUZA, C. A. S. et al. Controle de qualidade físico-químico e caracterização fitoquímica das principais plantas medicinais comercializadas na feira-livre de Lagarto-SE. Revista Scientia Plena, set 2017.

49. VIEIRA, N. dos. REIS; VIANNA, V. de O; ALMEIDA, J. F. M. de. Controle de qualidade microbiológica de produtos não estéreis. Braz. J. of Develop, Curitiba, v. 6, n. ° 1, p. 2889-2901, jan 2020

50. VIEIRA, K. V. et al. Qualidade microbiológica de ervas e chás consumidos em um hospital público de campina grande – PB. Revista Bio Farm, V. 13, nº1, março 2017.

51. SANTOS, ELBA BRITO dos. Controle de qualidade de quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* L.) comercializadas em casa de produtos naturais em um município baiano. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Faculdade Maria Milza, Governador Mangabeira – Ba, 2017.

52. BRAZ, P.DE H.; MELO, T.L. DE.; BRANDÃO, R.S.; PINTO, M.V.; GONÇALVES, V.S. Análise microbiológica de preparações medicinais adquiridas em raizeiros na cidade de Sanclerlândia Goiás. Revista Faculdade Montes Belos (FMB), v. 8, n. ° 1, p. 1-10, 2015.
53. Oliveira DL. Viabilidade Econômica de Algumas Espécies Medicinais Nativas do Cerrado. Estudos. 2011;38(2):301-32.
54. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária -ANVISA. Farmacopeia Brasileira: Métodos Gerais. Fundação Oswaldo Cruz. 5a ed.Brasília, 2010.
55. SILVA, S. Desenvolvimento e avaliação de formulações tópicas contendo derivados de *Eugenia dysenterica* DC. Tese, doutorado - Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília - Unb - Brasília . p .181. 2018.
56. SILVA SMM, SILVA CAG, FONSECA-BAZZO YM, MAGALHÃES PO,SILVEIRA D. *Eugenia dysenterica* Mart. Ex DC.(cagaita): planta brasileira compotencial terapêutico. Infarma Ciências Farmacêuticas. 2015;27(1):49-95.
57. Oliveira DL. Viabilidade Econômica de Algumas Espécies Medicinais Nativas do Cerrado. Estudos. 2011;38(2):301-32.
58. Martinotto C, Paiva R, Soares F, Santos B, Nogueira R. Cagaiteira(*Eugeniadysenterica* DC.)2008. 1-21 p.
59. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária.Consolidado de normas da COFID (Versão V). In: (Anvisa). ANdVS, editor. Brasília.2015.
60. Souza-Moreira TM, Salgado HR, Pietro RC. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. Brazilian Journal of Pharmacognosy.2010;20(3):435-40.
61. Kneifel W, Czech E, Kopp B. Microbial Contamination of Medicinal Plants-AReview. Planta Medica. 2002;68(01):5-15.
62. ALMEIDA, A.A. B. S; SEVERINO, R.P. Estudo químico de *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) buscando compostos bioativos. Universidade Federal de Goiás, Campus Catalã, 2011, p.2. Disponível em: Acesso em: 05 de Maio de 2023
63. Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Química Nova. 2007;30(2):374.