

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO**

**GLEUBER HENRIQUE ROCHA**

**ANÁLISE DO PERFIL MICROBIOLÓGICO EM AMOSTRAS DE *Cannabis sativa* APREENDIDAS PELA POLÍCIA CIVIL DE MINAS GERAIS**

**UBERABA**

**2022**

**GLEUBER HENRIQUE ROCHA**

**ANÁLISE DO PERFIL MICROBIOLÓGICO EM AMOSTRAS DE *Cannabis sativa* APREENDIDAS PELA POLÍCIA CIVIL DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica da Universidade Federal do Triângulo Mineiro como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Mônica Hitomi Okura

**UBERABA**

**2022**

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do  
Triângulo Mineiro**

R573a Rocha, Gleuber Henrique  
Análise do perfil microbiológico em amostras de *Cannabis sativa*  
apreendidas pela Polícia Civil de Minas Gerais / Gleuber Henrique  
Rocha. -- 2022.  
75 p. : il., graf., tab.

Dissertação (Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica) --  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2022  
Orientadora: Profa. Dra. Mônica Hitomi Okura

1. Cannabis. 2. Micro-organismos. 3. Microbiologia. I. Okura,  
Mônica Hitomi. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro.  
III. Título.

CDU 582.635.38:579

GLEUBER HENRIQUE ROCHA

**ANÁLISE DO PERFIL MICROBIOLÓGICO EM AMOSTRAS DE *CANNABIS*  
SATIVA APREENDIDAS PELA POLÍCIA CIVIL DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação Profissional em Inovação Tecnológica da Universidade Federal do Triângulo Mineiro como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Uberaba, 29 de junho de 2022

**Banca Examinadora:**

Dra. Mônica Hitomi Okura – Orientadora  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dra. Ana Claudia Granato Malpass  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dr. Yuri Machado  
Polícia Civil de Minas Gerais



Documento assinado eletronicamente por MONICA HITOMI OKURA, Professor do Magistério Superior, em 29/06/2022, às 16:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 87, de 17 de agosto de 2021](#).



Documento assinado eletronicamente por ANA CLAUDIA GRANATO MALPASS, Professor do Magistério Superior, em 29/06/2022, às 16:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 87, de 17 de agosto de 2021](#).



Documento assinado eletronicamente por Yuri Machado, Usuário Externo, em 05/07/2022, às 22:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 87, de 17 de agosto de 2021](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.uftm.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.uftm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador 0760647 e o código CRC AFC30A53.

---

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, à minha mãe, Lalada, ao meu falecido pai, Arnaldo, à minha irmã, Graziela, ao meu cunhado-irmão, Pauer, ao meu primo-irmão, Daniel, às minhas tias Cleuza e Dulce, à minha avó, Dona Luizinha, e ao meu falecido avô, João Bento, por serem a base da minha vida, por sempre torcerem por mim e por estarem presentes em minha caminhada, mesmo eu estando distante.

À minha orientadora de pesquisa, Profa. Dra. Mônica Hitomi Okura, pela sabedoria e competência ao me guiar nos caminhos a seguir, por me adotar como um de seus filhos e, sobretudo, pela parceria, empenho, incentivo, conversas e ensinamentos.

Ao perito criminal da Polícia Civil de Minas Gerais, Pablo Alves Marinho, pela sugestão do tema deste trabalho, por me receber tão bem na Seção Técnica de Física e Química Legal do Instituto de Criminalística da PCMG e por sua pronta disposição em colaborar com o andamento do projeto.

À Superintendência de Polícia Técnico-Científica da Polícia Civil do Estado de Minas Gerais, por disponibilizar acesso às amostras utilizadas neste trabalho e por me permitir utilizar sua estrutura laboratorial.

À colega Wanessa Maria dos Santos e ao Hospital das Clínicas da UFTM, pelas trocas de conhecimentos e pelo fornecimento de alguns insumos que foram utilizados na presente pesquisa.

Aos meus colegas da UFTM, por todas as conversas e comilanças que tornam mais leves as jornadas diárias de trabalho.

A todos os meus amigos e familiares, próximos ou distantes que, por meio de seus exemplos, continuam lapidando minhas certezas e incertezas, contribuindo para que eu me torne uma pessoa melhor a cada dia.

A todos vocês, muito obrigado!

“A menos que modifiquemos nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

Albert Einstein

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil e a carga microbiológica de amostras de *Cannabis sativa* apreendidas pela Polícia Civil de Minas Gerais, no âmbito do estado, a fim de avaliá-las quanto ao risco à saúde de seus usuários, em especial os imunossuprimidos. Foram analisados artigos científicos nacionais e internacionais envolvendo o tema, assim como outros estudos e reportagens sobre a *Cannabis*, a fim de dar um panorama geral sobre a planta, aspectos históricos, a legislação que envolve a droga e seu potencial mercadológico e terapêutico. Com a metodologia utilizada, foram encontradas cargas consideráveis e potencialmente prejudiciais de bactérias e fungos. 98% das amostras excederam os limites de bactérias estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e 67% excederam os limites estabelecidos para fungos filamentosos/leveduras. Das 49 amostras analisadas, somente uma exibiu contagem de microrganismos adequados ao consumo. Com as análises procedidas para identificação dos microrganismos presentes, foi possível identificar bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus* e *Kurthia*, além de bacilos Gram-positivos e Gram-negativos não identificados; leveduras dos gêneros *Candida* e *Geotrichum*; e fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Concluiu-se que a quantidade e os tipos de microrganismos encontrados na *Cannabis* ilegalmente comercializada em Minas Gerais configuram-se como um risco à saúde dos usuários e que a liberação do plantio para fins medicinais, atualmente em discussão no Congresso Nacional, pode ser uma alternativa para diminuir o risco à saúde pública.

Palavras-chave: *Cannabis*, microrganismos, microbiologia.

## ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the profile and microbiological load of samples of *Cannabis sativa* seized by the Civil Police of Minas Gerais, in order to evaluate them regarding the risk to users health, especially those who are immunosuppressed. National and international scientific articles on the subject were analyzed, as well as other studies and news on *Cannabis*, in order to provide an overview of the plant, historical aspects, legislation involving the drug and its market and therapeutic potential. With the methodology used, considerable and potentially harmful loads of bacteria and fungi were found. 98% of the samples exceeded the limits of bacteria established by the Brazilian Pharmacopeia and 67% exceeded the limits established for fungi/yeasts. From 49 samples analyzed, only one showed a count of microorganisms suitable for consumption. With the analysis used to identify the microorganisms present, it was possible to identify bacteria of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus* and *Kurthia*, in addition to unidentified Gram-positive and Gram-negative bacilli; *Candida* and *Geotrichum* yeasts; and filamentous fungi of the genera *Aspergillus* and *Penicillium*. It was concluded that amount and types of microorganisms found in *Cannabis* illegally traded in Minas Gerais constitute a risk to the health of users and that the release of planting for medicinal purposes, currently under discussion in the National Congress, may be an alternative to reduce the risk to public health.

Keywords: *Cannabis*, microorganisms, microbiology

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – A planta <i>Cannabis</i> , em fase de floração.....	17
Figura 2 – Anatomia das plantas masculinas e femininas de <i>Cannabis</i> .....	18
Figura 3 – Estruturas químicas dos canabinoides THC e CBD encontrados na <i>Cannabis</i> .....	20
Figura 4 – Flores de maconha secando na roça, no Paraguai.....	29
Figura 5 – Maconha estragada em uma roça no Paraguai, aguardando para ir à prensa.....	30
Figura 6 – Amostras de 1g fornecidas pela PCMG.....	37
Figura 7 – Tubo contendo água peptonada tamponada e 1g da droga apreendida, após agitação. ....	38
Figura 8 – Produção dos tubos inclinados.....	39
Figura 9 – Placas invertidas contendo as diluições e o meio de cultura NA, na BOD.....	40
Figura 10 – Representação do método de estrias simples para isolamento.....	41
Figura 11 – Cor assumida pelas bactérias ao microscópio, após efetuada a coloração de Gram.....	42
Figura 12 – Tipo de hemólise: alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) e gama ( $\gamma$ ) .....	45
Figura 13 – Gráfico de contagem total de bactérias presentes nas amostras de <i>Cannabis</i> , em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g) versus o número de amostras.....	52
Figura 14 – Gráfico de contagem total de leveduras presentes nas amostras de <i>Cannabis</i> , em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g) versus o número de amostras.....	53
Figura 15 – Levedura rugosa de coloração branca encontrada na amostra nº 20.....	53
Figura 16 – Beta-hemólise encontrada para a amostra 33, à direita.....	57
Figura 17 – Resultado positivo do teste de bÍlis-esculina para a amostra 2.....	57
Figura 18 – Fungo <i>Aspergillus</i> encontrado na amostra nº 48, à esquerda.....	60
Figura 19 – Fungo <i>Penicillium</i> encontrado na amostra nº 14.....	61

Figura 20 – Tubo germinativo observado em microscópio na amostra nº 30.....	62
Figura 21 – Colônia de levedura de coloração rosa encontrada na amostra nº 38.....	63

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Patentes e pedidos de patente relacionadas à <i>Cannabis</i> depositados no Brasil.....	25
Tabela 2 – Limites microbianos para produtos acabados de origem vegetal não estéreis.....	28
Tabela 3 – Local e data de apreensão das amostras analisadas de <i>Cannabis sativa</i> analisadas neste estudo.....	35
Tabela 4 – Identificação das espécies de <i>Staphylococcus</i> de maior importância clínica.....	44
Tabela 5 – Tabela presuntiva de estreptococos de importância clínica.....	45
Tabela 6 – Interpretação do resultado da prova do meio TSI.....	46
Tabela 7 – Triagem inicial para bacilos e cocobacilos Gram positivos.....	47
Tabela 8 – Principais diferenças entre bacilos e coco-bacilos Gram positivos.....	48
Tabela 9 – Características bioquímicas de espécies de <i>Candida</i> de importância médica.....	50
Tabela 10 – Identificação das principais leveduras de interesse médico.....	50
Tabela 11 – Resultados dos testes de coloração de Gram e prova de catalase.....	54
Tabela 12 – Resultados dos testes aplicados às bactérias da família <i>Micrococcaceae</i> .....	56
Tabela 13 - Resultados dos testes aplicados às bactérias da família <i>Streptococcaceae</i> .....	58
Tabela 14 – Resultados dos testes aplicados aos bastonetes Gram-positivos e sua identificação.....	58
Tabela 15 – Identificação dos fungos filamentosos encontrados nas amostras.....	61
Tabela 16 – Resultado dos testes aplicados às leveduras.....	63
Tabela 17 – Resumo dos resultados encontrados.....	65

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BOD	<i>Biochemical Oxygen Demand</i>
CBD	Canabidiol
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
ICTE1	Instituto de Ciências Tecnológicas e Exatas 1
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
INPI	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
NA	<i>Nutrient Agar</i>
PCMG	Polícia Civil de Minas Gerais
PDA	<i>Potato Dextrose Agar</i>
PYR	Pyrrolidonyl-aminopeptidase
SIM	Sulfeto Indol Motilidade
THC	Tetrahydrocannabinol
TSI	<i>Triple Sugar Iron</i>
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UFTM	Universidade Federal do Triângulo Mineiro
sp.	Espécie
spp.	Espécies
STFQL	Seção Técnica de Física e Química Legal
USPTO	<i>United States Patente and Trademark Office</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
3.1 A PLANTA <i>CANNABIS</i> .....	17
3.2 OS CANABINOIDES .....	19
3.3 ASPECTOS HISTÓRICOS DO USO DA <i>CANNABIS</i> .....	20
3.4 USO MEDICINAL DA <i>CANNABIS</i> NO BRASIL E ASPECTOS JURÍDICOS.....	22
3.5 POTENCIAL COMERCIAL E INOVATIVO DA <i>CANNABIS</i> .....	24
3.6 ESTUDOS NA LITERATURA SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DA <i>CANNABIS SP.</i> .....	26
3.7 CARACTERÍSTICAS DOS MICRORGANISMOS .....	30
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>35</b>
4.1 AMOSTRAGEM .....	35
<b>4.1.1 Origem das amostras</b> .....	<b>35</b>
<b>4.1.2 Condição das amostras</b> .....	<b>36</b>
<b>4.1.3 Isolamento de microrganismos das amostras de <i>Cannabis sativa</i> apreendidas pela Polícia Civil do Estado de Minas Gerais (PCMG)</b> .....	<b>37</b>
4.2 PREPARO DOS MEIOS DE CULTURA UTILIZADOS NO ESTUDO .....	38
4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS INICIAIS .....	39
<b>4.3.1 Quantificação da carga microbiana (bactérias e leveduras)</b> .....	<b>39</b>
<b>4.3.2 Isolamento dos microrganismos</b> .....	<b>41</b>
4.3.2.1 Bactérias .....	41
4.3.2.2 Leveduras .....	41
4.3.2.3 Fungos filamentosos .....	41

4.4 TÉCNICAS PARA IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS .....	42
<b>4.4.1 Bactérias .....</b>	<b>42</b>
4.4.1.1 Cocos Gram-positivos .....	43
4.4.1.3 Bastonetes Gram-positivos .....	46
<b>4.4.2 Fungos filamentosos .....</b>	<b>48</b>
<b>4.4.3 Leveduras .....</b>	<b>48</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>51</b>
5.1 QUANTIFICAÇÃO DA CARGA MICROBIANA.....	51
<b>5.1.1 Bactérias .....</b>	<b>51</b>
<b>5.1.2 Leveduras .....</b>	<b>52</b>
5.2 IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS .....	54
<b>5.2.1 Bactérias .....</b>	<b>54</b>
5.2.1.1 Cocos Gram-positivos .....	55
5.2.1.2 Bastonetes Gram-positivos .....	58
<b>5.2.2 Fungos filamentosos .....</b>	<b>60</b>
<b>5.2.3 Leveduras .....</b>	<b>61</b>
5.3 RESUMO DOS RESULTADOS.....	64
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>67</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>68</b>
<b>ANEXO I – AUTORIZAÇÃO DO PROJETO PELA PCMG .....</b>	<b>75</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A *Cannabis* sp. é uma planta herbácea da família das Canabiáceas, mais conhecida por sua utilização na produção de maconha, droga ilícita mais consumida no mundo, com cerca de 209 milhões de usuários (UNODC, 2022). É também usada para produzir outros entorpecentes, como o haxixe, muito usada também na indústria têxtil pelo uso de suas fibras e nos últimos anos vem sendo utilizada no Brasil, de modo legítimo, para fins medicinais, no tratamento de comorbidades como a epilepsia e o glaucoma por suas propriedades analgésicas e relaxantes. Seu uso é também permitido para uso ritualístico-religioso, desde que com autorização legal, como regulamenta a Lei nº 11.343, de 2006 (BRASIL, 2006).

A planta possui em sua composição vários canabinoides, sendo os mais conhecidos e mais abundantes na planta o tetrahydrocannabinol (THC) e o seu isômero estrutural, o canabidiol (CBD). Estes são responsáveis pelos efeitos psicoativos, relaxantes e antidepressivos da *Cannabis*, de fórmula química  $C_{21}H_{30}O_2$  (MAPA da maconha, 2019).

Segundo o Ministério da Justiça e Segurança Pública, no primeiro semestre de 2020, o Brasil registrou um recorde de apreensões de drogas, sendo 1,2 mil toneladas somente de maconha. Minas Gerais foi o segundo estado com mais apreensões feitas pela polícia estadual, o que pode indicar um alto consumo de entorpecentes na região quando comparada ao restante do país (DIÁRIO Tempo Real, 2020).

A *Cannabis* tem sido usada em diversos tratamentos pelo mundo, aliviando dores e proporcionando maior qualidade de vida a pacientes com doenças como câncer, dor crônica, epilepsia e glaucoma. A grande maioria dos medicamentos produzidos a partir da maconha tem como principal substância o CBD, elemento da *Cannabis* com propriedades analgésicas e relaxantes (FIOCRUZ, 2020). Nesse sentido, é possível, desde 2015, importar medicamentos à base de *Cannabis* no Brasil (MINISTÉRIO da Saúde, 2015) e, apesar de ser proibido seu plantio, decisões judiciais têm permitido o plantio em casa para fins estritamente medicinais (TORQUATO, 2022). No entanto, os medicamentos importados têm custo elevado e o trâmite judicial é burocrático e dispendioso, o que pode levar algumas famílias a utilizar a droga ilícita para o tratamento de doenças e alívio dos sintomas.

Uma vez que o uso de maconha é proibido no Brasil, a droga chega ao usuário sem nenhum tipo de controle de sua qualidade e observância de boas práticas de produção, já que é feita de modo clandestino e artesanal (MAXX, 2017). Isto pode levar a contaminações químicas e/ou microbiológicas de quem consome a planta, tanto os lícitos como os ilícitos, o que se configura como um risco de saúde pública relevante no país.

Pesquisas recentes feitas nos Países Baixos (HAZEKAMP, 2006), em Israel (RUCHLEMER et al., 2015), na Costa Rica (CHAVES et al., 2016), em Madri (MORENO et al., 2019) e no Brasil (CARMO, 2019) evidenciaram altas cargas de bactérias e fungos nas amostras de *Cannabis*, dentre eles microrganismos como *Escherichia coli*, *Aspergillus* sp., *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Enterobacter*, *Bacillus* e *Candida*, que em altas quantidades podem ser os responsáveis pelos sintomas já relatados por usuários como diarreia, febre alta e vômitos. No entanto, poucas pesquisas foram feitas sobre este tema, o que justifica a proposição do presente projeto de pesquisa. Assim, considerando a sua utilização com fins terapêuticos, este trabalho tem como objetivo traçar o perfil microbiológico de amostras de *Cannabis sativa* apreendidas pela Polícia Civil de Minas Gerais (PCMG) e caracterizar o seu potencial risco a saúde de seus usuários.

## 2 OBJETIVOS

Avaliar o potencial risco de *Cannabis sativa* comercializada de forma ilícita na transmissão de patógenos para os usuários.

### 2.1 OBJETIVO GERAL

- Caracterizar o perfil microbiológico de amostras de *Cannabis* apreendidas pela Polícia Civil de Minas Gerais e compará-lo aos limites de tolerância estabelecidos por órgãos reguladores.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

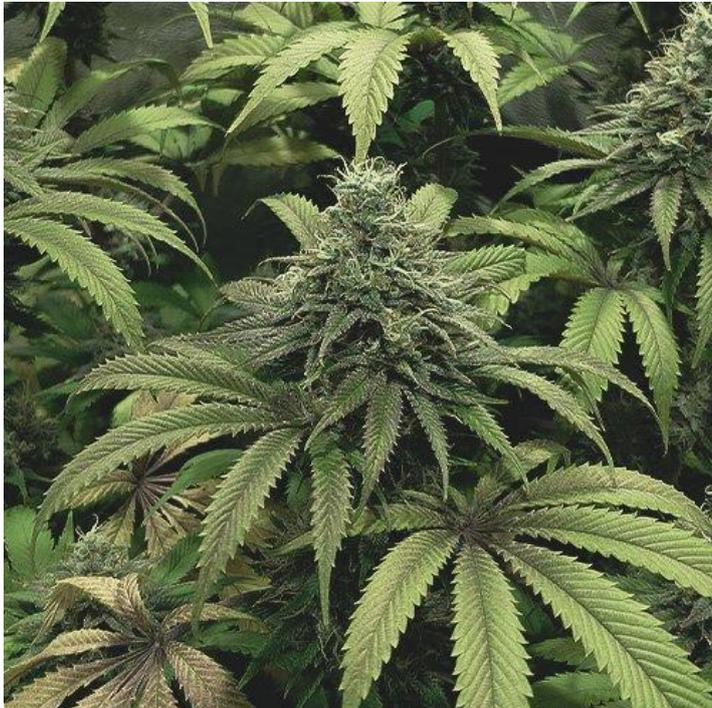
- Quantificar a carga microbiana presente nas amostras de *Cannabis*.
- Isolar e identificar os microrganismos encontrados.
- Avaliar o risco microbiológico do uso da *Cannabis* apreendida.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 A PLANTA *CANNABIS*

O termo *Cannabis* se refere ao gênero de uma planta angiosperma herbácea, da família das canabiáceas (*Cannabaceae*), que pode chegar a mais de dois metros de altura, originária das regiões central e sul da Ásia, muito conhecida atualmente por seus efeitos psicoativos. (AMA+ME, 2017). Existem três espécies dentro deste gênero: *Cannabis sativa*, *C. indica* e *C. ruderalis*. A planta é exibida em sua fase de floração na Figura 1.

Figura 1 – A planta *Cannabis*, em fase de floração



Fonte: ROYAL Queen Seeds, [20--?]

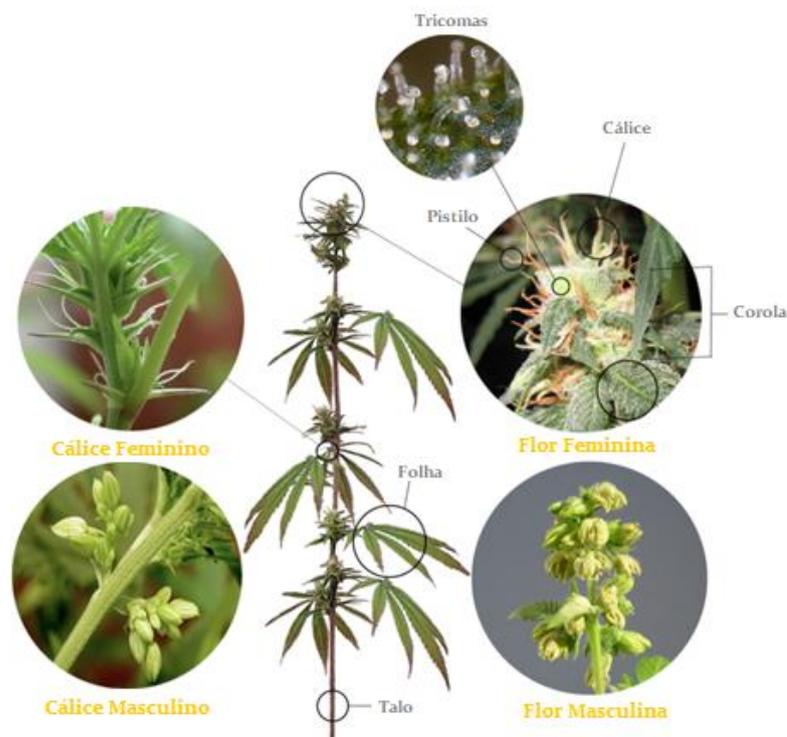
As plantas da espécie *C. sativa* têm folhas longas e finas, de cor mais clara. Os botões são longos e finos e apresentam coloração vermelha ou laranja. Elas tendem a conter altos níveis de tetrahydrocannabinol (THC) e baixos de CBD. A espécie *C. indica* têm folhas largas, largas e profundas. Os botões são densos e bem compactados, apresentando coloração roxa. Geralmente contém níveis médios do canabinoide THC e uma quantidade maior de canabidiol (CBD). Seus efeitos são frequentemente descritos como relaxantes e calmantes. Atualmente, a maioria das

espécies são híbridas, que podem reunir as melhores qualidades de ambas em uma única planta (MAPA da maconha, 2019).

Além disso, há também o cânhamo, que não possui efeito psicoativo devido ao seu baixo nível de THC, com amplo uso na indústria: desde suplementos alimentares, até roupas e acessórios pelo uso de suas fibras (MAPA da maconha, 2019). Segundo a agência americana FDA (*Food and Drug Administration*), o cânhamo é uma variedade da *Cannabis* contendo não mais do que 0,3% de THC em peso seco. Acima desta concentração, classifica-se a planta como maconha. (FDA, 2021).

A *Cannabis* é uma planta dioica, o que significa que existem indivíduos machos, fêmeas e ambos (hermafrodita). As plantas femininas são as mais cobiçadas, pois são elas que produzem as flores (os chamados “*buds*”) ricas em tricomas que secretam resinas ricas em canabinoides, que são usados para fumar ou para fins terapêuticos. Os machos produzem uma quantidade insignificante de resina e suas inflorescências são formadas por sacos (estames) de pólen para a polinização das fêmeas. (COUTINHO, 2020). A anatomia das plantas masculinas e femininas é mostrada na Figura 2.

Figura 2 – Anatomia das plantas masculinas e femininas de *Cannabis*



Fonte: Adaptado de INSTITUTO Brasil *Cannabis*, 2018

Existem sementes criadas para produzir somente plantas fêmeas, denominadas sementes feminizadas, eliminando a necessidade de se determinar o sexo da planta em crescimento. Em geral, os *buds* das plantas fêmeas são cortados e colocados para secar, curar e, após esse período, estão prontas para serem consumidas *in natura* (COUTINHO, 2020).

Os tricomas são pequenas glândulas em forma de cogumelo que ocupam a superfície das flores e das folhas da *Cannabis*. Estes produzem uma resina rica em canabinoides, terpenos e flavonoides. Na natureza, as plantas produzem estes metabolitos secundários para se protegerem contra as pragas e o calor excessivo. A resina também ajuda o pólen a agarrar-se nas flores (ROYAL Queen Seeds, [20--?]).

### 3.2 OS CANABINOIDES

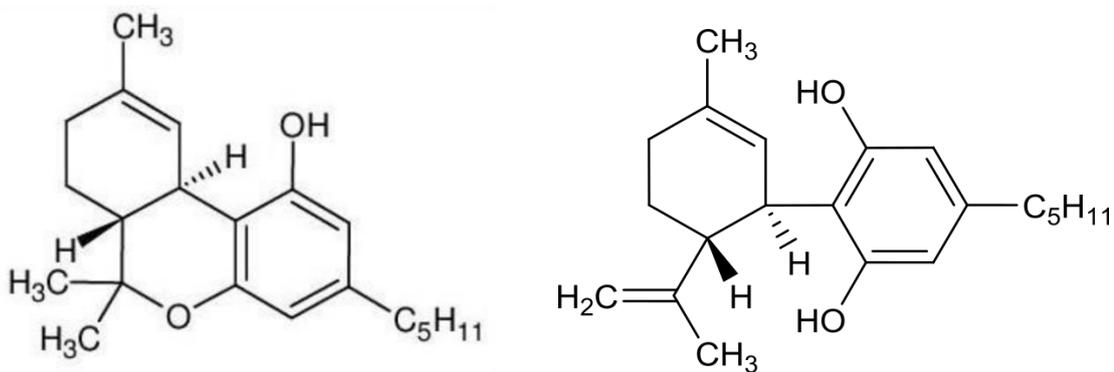
Os canabinoides são quaisquer substâncias, de origem endógena ou vegetal, que interagem com receptores canabinoides presentes nas diversas classes de vertebrados (mamíferos, aves, anfíbios, répteis e peixes) e alguns invertebrados (moluscos e ouriços do mar). (PEREIRA, A. et al., 2020). Englobam os fitocanabinoides encontrados na planta *Cannabis* (segundo Correia-da-Silva (2019), cerca de 100 compostos) e estruturalmente relacionados com o THC; os endocanabinoides, que são encontrados nos sistemas nervoso e imunológico dos animais e seres humanos, e que ativam os receptores canabinoides; e, por fim, os canabinoides sintéticos, uma diversidade de substâncias que se ligam a receptores de canabinoides (SECRETARIA de Estado de Saúde, 2015).

Os canabinoides mais conhecidos e estudados são o tetrahydrocannabinol, ou THC, e o canabidiol, ou CBD. O CBD não tem ação euforizante e por isso não provoca nenhuma alteração da percepção da realidade. Destaca-se principalmente pelas propriedades analgésicas, anti-inflamatórias, antinociceptivo, ansiolíticas, anticonvulsivante e antiemético. Também age como modulador da atuação do THC relacionada a efeitos indesejados como os psicomiméticos, ansiogênicos e psicóticos. (DA SILVA, 2016).

Já o THC é o que confere à *Cannabis* sua ação psicoativa amplamente conhecida, caracterizada pela sensação de euforia e perda da memória recente, embora possua propriedades medicinais importantes. É estimulante do apetite, sedativo, analgésico e anti-inflamatório. (STELLA, s. d.). Atua também sobre náuseas

e vômitos induzidos por quimioterapia, além de ter um efeito anestésico após uso oral. Mesmo assim, efeitos colaterais como ansiedade, alucinação, paranoia, aumento momentâneo da pulsação cardíaca e perda da memória recente podem ser impeditivos para determinados pacientes e contraindicados em algumas situações. (GONÇALVES, 2014). Na Figura 3, são exibidas as estruturas químicas similares dos isômeros THC e CBD.

Figura 3 – Estruturas químicas dos canabinoides THC (à esquerda) e CBD (à direita) encontrados na *Cannabis*



Fonte: QUÍMICA Nova Interativa, s. d.

### 3.3 ASPECTOS HISTÓRICOS DO USO DA *CANNABIS*

A história da *Cannabis* sp. no mundo, segundo estudos históricos e arqueológicos, iniciou-se há aproximadamente 12 mil anos, em uma vila de Taiwan, China. Apesar de não estar claro para os pesquisadores, os achados sugerem que seu primeiro uso foi como fonte de fibra para produção de cordas e tecidos. Neste sentido, o Livro dos Ritos da cultura chinesa antiga, datado do século II a. C., ordenava que, em dias de luto, roupas feitas de tecido de cânhamo deveriam ser usadas em respeito aos mortos - costume utilizado até os tempos modernos (ABEL, 1980).

Ainda na China antiga, há registros do uso medicinal da planta para o combate a inflamações, além de tratamentos para dores e convulsões em outras partes do mundo. Apesar de não se saber quando se deu seu início, o uso recreativo da *Cannabis* também é reportado nos registros históricos, incluindo-se, segundo Bertolote (2021, p. 2), “registros da alteração emocional e comportamental causada pela queima tradicional dessa planta pelos citas (povo nômade iraniano das estepes pôntico-cáspias), feita por Heródoto em 440 a.C.” (BERTOLOTE, 2021).

Segundo documento oficial do governo brasileiro (Ministério das Relações Exteriores, 1959), a maconha, que não é nativa do Brasil, foi introduzida em nossas terras por meio do tráfico negreiro:

"A planta teria sido introduzida em nosso país, a partir de 1549, pelos negros escravos, como alude Pedro Corrêa, e as sementes de cânhamo eram trazidas em bonecas de pano, amarradas nas pontas das tangas" (Pedro Rosado, 1959, apud CARLINI, 2006, p. 315).

Segundo Bertolote (2021, p. 1):

O cânhamo chegou à América em 1492, com Cristóvão Colombo, uma vez que as velas e o cordame de suas naus eram feitos desse material. Da mesma forma, chegou ao Brasil em 1500, com a frota de Pedro Álvares Cabral. Todavia, sementes para serem cultivadas alegadamente como fonte de fibra, segundo documentos históricos, foram levadas ao Chile pelos espanhóis em 1545 e trazidas para o Brasil pelos escravos africanos no século XVII.

Existem diversos termos usados para se referir à *Cannabis* e seus derivados. Alguns exemplos são: maconha (palavra proveniente de africanos de língua quimbundo, trazidos com o tráfico negreiro, atualmente mais utilizada para se referir à droga ilícita), cânhamo (derivada do latim, semanticamente mais associada à fibra da planta utilizada na indústria têxtil), marijuana, hemp, haxixe, entre outros. Curiosamente, apesar de possuírem origens diferentes, a palavra maconha é um anagrama da palavra cânhamo (BERTOLOTE, 2021).

Foi Napoleão Bonaparte quem criou a primeira lei proibindo a *Cannabis*, o que aconteceu quando o general francês conquistou o Egito, em 1798. Napoleão alegava que, ao consumir o produto, os egípcios ficavam mais violentos (OLIVEIRA, 2013). Apesar da relação histórica do homem e a *Cannabis*, seu uso veio a se tornar maciçamente ilegal no mundo somente no início do século XX, com as Convenções Internacionais do Ópio (a primeira, em 1912, Convenção de Haia), a Lei Harrison (1914), nos Estados Unidos e o Marijuana Tax Act (Lei Tributária sobre a Maconha), também nos Estados Unidos, de 1937, que proibiu o cultivo, a distribuição e a comercialização da maconha (CINCO, 2014).

No Brasil, a proibição se iniciou oficialmente em 1830 no Rio de Janeiro e, mais tarde, em 1932. Segundo Saad (2018, p.16-17):

O primeiro documento conhecido que restringe o uso da maconha foi uma postura da Câmara Municipal do Rio de Janeiro, de 1830, penalizando a venda e o uso do "pito do pango", sendo "o vendedor [multado] em 20\$000,

e os escravos, e mais pessoas que dele usarem, em 3 dias de cadeia”. É possível que posturas semelhantes tenham sido criadas em outras cidades do Império do Brasil. Segundo ditado popular da época, “maconha em pito faz negro sem vergonha”. A referência explícita aos escravos na postura carioca sugere que era entre eles que estava mais divulgado o uso da maconha e a postura então vincula a repressão de seu consumo ao controle da população negra. Uma legislação proibitiva mais abrangente – de caráter nacional – sobre a maconha só apareceria mais de cem anos depois, através da inclusão da planta na lista de substâncias proscritas em 1932. Porém, mesmo antes de sua proibição, a maconha “era diretamente associada às classes baixas, aos negros e mulatos e à bandidagem”.

Por anos a maconha permaneceu criminalizada, até que em 1996 o estado da Califórnia, nos EUA, legalizou seu uso para fins medicinais. Logo depois outros 18 estados americanos também tomariam a mesma decisão. Em 2003, o Canadá se tornou o primeiro país do mundo a legalizar a utilização da *Cannabis* para fins medicinais. Antes dele, os Países Baixos já haviam liberado, em 1976, o uso para fins recreativos (OLIVEIRA, 2013).

Atualmente, o uso de *Cannabis* é ilegal e tipificado como crime no Brasil, nos termos da Lei nº 11.343/2006, chamada Lei de Drogas. No entanto, não há pena de prisão para uso pessoal, somente advertência sobre os efeitos da droga, prestação de serviços à comunidade e medida educativa de comparecimento à programa ou curso educativo. Cabe ao juiz avaliar se a droga apreendida se destinava a consumo pessoal, levando em conta a natureza e a quantidade da substância apreendida, o local e as condições em que se desenvolveu a ação, as circunstâncias sociais e pessoais, bem como a conduta e os antecedentes do agente. (BRASIL, 2006).

### 3.4 USO MEDICINAL DA *CANNABIS* NO BRASIL E ASPECTOS JURÍDICOS

Estudos vêm indicando que o uso de derivados da *Cannabis* pode ser benéfico no tratamento de doenças como Alzheimer (BARBOSA, 2020), Parkinson (DOS SANTOS, 2019), glaucoma (MACMILLAN, 2019), autismo (MINELLA, 2021) e epilepsia (MATOS, 2017). Além disso, há evidências conclusivas da eficácia dos canabinoides contra dores crônicas (BAENA, 2021); no tratamento de câncer, apresentando efeitos antitumoral e também contra enjoos causados pela quimioterapia e no tratamento da espasticidade causada pela esclerose múltipla (NASCIMENTO, 2021).

Os canabinoides também demonstraram evidências moderadas de que são efetivos para o tratamento da fibromialgia (ALVES, 2020); distúrbios do sono, como

no tratamento de síndrome da apneia obstrutiva do sono; para aumento do apetite e diminuição da perda de peso em pacientes com HIV; para a melhora nos sintomas de síndrome de Tourette (ABI-JAOUDE, 2017); nos sintomas de ansiedade e para a melhora nos sintomas de transtorno pós-traumático (NASCIMENTO, 2021).

Em 2015, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) expediu a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 17, que define os critérios e os procedimentos para a importação, em caráter de excepcionalidade, de produto à base de Canabidiol em associação com outros canabinoides, por pessoa física, para uso próprio, mediante prescrição de profissional legalmente habilitado, para tratamento de saúde (MINISTÉRIO da Saúde, 2015).

Após esta autorização para a importação, os pedidos de autorização aumentaram de maneira expressiva. Segundo Nascimento (2021, s. p.), em 2015 foram 902 solicitações; em 2019, até outubro, mais de 5,3 mil. No início de 2020, havia cerca de 7,8 mil pacientes cadastrados para importar estas medicações. “Os produtos importados são, contudo, vendidos a preços proibitivos para a grande maioria da população brasileira. A caixa de Mevatyl® [um dos medicamentos autorizados e registrados na Anvisa] com três frascos de 10 ml [mililitros] custam por volta de R\$ 3 mil. Mesmo antes do seu registro, houve casos de pacientes que recorreram à judicialização para obter medicamentos canabinoides pelo Sistema Único de Saúde”.

Apesar disto, o plantio da *Cannabis* no Brasil ainda não é regulamentado para fins medicinais ou científicos. No entanto, encontra-se em tramitação no Congresso Nacional o Projeto de Lei nº 399/2015 que visa esta regulamentação, que vai desde o cultivo de *Cannabis*, para extração de CBD, THC e outros canabinoides, à fabricação e comercialização de produtos, com uma série de exigências para garantir qualidade, eficácia e segurança aos processos e aos resultados finais. O texto também prevê a autorização de pesquisa científica da *Cannabis* de um modo geral e regulamenta o plantio de cânhamo (sem THC) para uso industrial (TORQUATO, 2022).

O único recurso legal disponível hoje para quem deseja cultivar maconha para fins medicinais é a via judicial, por meio de um pedido de *Habeas Corpus*, que tem como objetivo a proteção da liberdade de quem decide fabricar seu próprio remédio e, deste modo, escapar dos altos custos cobrados pelos medicamentos importados. No entanto, o processo é longo. Primeiramente, é preciso que um médico ateste a necessidade do uso da *Cannabis*. Em seguida, é necessário ter em mãos um laudo com todo o histórico clínico do paciente e os tratamentos já feitos e seus efeitos

colaterais. O foco do documento deve ser a gravidade da doença e se o paciente corre risco de morte. Com a receita médica, o paciente deve solicitar na Anvisa uma autorização de importação. Antes de pedir o *Habeas Corpus*, é importante que o paciente ou responsável consiga comprovar que sabe cultivar. Associações como a Cultive promovem cursos de extração de óleo e de cultivo. Neste caso, basta uma autodeclaração da experiência adquirida. O interessado deve então reunir os documentos citados aos seus documentos pessoais e acionar um advogado, que dará início ao processo (SECHAT, 2020).

Em decisão inédita, em 14 de junho de 2022, o Supremo Tribunal de Justiça (STJ) deu salvo-conduto para três pessoas cultivarem maconha para fins medicinais. A decisão vale para as famílias e pacientes que recorreram ao STJ, mas o entendimento pode orientar decisões de outros processos que tramitam por tribunais da primeira e segunda instâncias de todo o país, o que pode facilitar o processo (JORNAL Nacional, 2022).

### 3.5 POTENCIAL COMERCIAL E INOVATIVO DA *CANNABIS*

O ecossistema canábico, independentemente das decisões legais que seguem pendentes, vem tomando forma com a chegada de *players* internacionais, *startups*, aceleradoras, médicos ativos pela causa – sem contar o aumento do interesse por parte de pacientes. Segundo estudo promovido pela *New Frontier Data*, em parceria com a *The Green Hub* em 2018, a projeção mais otimista é que, em 36 meses após a legalização das vendas no país, o Brasil tenha 3,9 milhões de pacientes, o que representa um mercado de R\$ 4,7 bilhões (IODICE, 2021).

De acordo com levantamento da empresa de inteligência de mercado de *Cannabis Kaya Mind*, a regulamentação da planta no Brasil poderia gerar 117 mil empregos e movimentar R\$ 26,1 bilhões em quatro anos no país. O cálculo realizado pela consultoria – que levou em conta a regulamentação de todas as formas de consumo, ou seja, medicinal, cânhamo (planta de *Cannabis*) e recreativo – considera, ainda, uma arrecadação de R\$ 8 bilhões em impostos no mesmo período (NICOCELI, 2021).

Em pesquisa no site do Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), é possível perceber que, além de um grande mercado, a *Cannabis* representa também um potencial de inovação. Buscando pelo termo “*Cannabis*” na base de dados do INPI,

existem 21 pedidos de patente e uma patente concedida no Brasil, consistindo das mais diversas tecnologias, como exposto na Tabela 1. Em bases de patentes internacionais, buscando pelo mesmo termo somente no título, o número de tecnologias é muito maior, sendo de 276 na base de dados do *United States Patente and Trademark Office* - USPTO (base americana), enquanto que na base de dados do *Espacenet* (base Europeia), o número chega a 1397.

Tabela 1 – Patentes e pedidos de patente relacionadas à *Cannabis* depositados no Brasil

<b>Título da Patente</b>	<b>Data de Depósito</b>	<b>Data de Concessão</b>
Composição de canabinóide [sic] e método para tratar TEPT e/ou ansiedade	03/07/2019	-
Composição e método para tratar dor	03/07/2019	-
Terapêutica à base de cannabis e método de uso	25/02/2019	-
Uso de um canabidiol (CBD) em combinação com um fármaco antiepiléptico (AED) que atua por meio de agonista de receptores gaba	22/01/2019	-
Composição farmacêutica compreendendo extrato de cannabis, produto farmacêutico, processo de preparação da dita composição	21/12/2018	-
Canabidiol para uso no tratamento de epilepsia iniciada na infância, e, método de tratamento de epilepsia iniciada na infância	30/11/2018	-
Canabidiol para uso no tratamento de convulsões associadas à síndrome de Lennox-Gastaut, e, método para tratar convulsões associadas à síndrome de Lennox-Gastaut.	15/11/2018	-
Composições comestíveis de canabinoides	27/09/2018	-
Uso de canabidiol	21/06/2018	-
Composições para distúrbios do sono e tratamentos do mesmo	19/06/2018	-
Método e aparato para processamento de cannabis com energia radiante de baixa pressão	08/02/2018	-
Matéria prima padronizada obtida a partir de raízes de cannabis sativa para fins farmacêuticos	08/12/2017	-
Método e aparelho para pasteurizar e desidratar maconha	30/08/2017	-
Plantas e métodos para aumentar e diminuir a síntese de canabinoides	18/08/2017	-
Composição de cannabis	03/08/2017	-
Composição auto-emulsificante de alta concentração, forma de dosagem oral de alta resistência e método de tratamento de um sintoma, doença ou distúrbio responsivo ao canabinóide [sic]	12/07/2017	-
Plantas de cannabis melhoradas e método para fazer e usar as mesmas	14/04/2017	-
Composição farmacêutica, método de tratamento de um paciente, e, uso de uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição	22/06/2016	-
Sistema e método para triagem de alta produtividade de células cancerosas	04/05/2016	-

Título da Patente	Data de Depósito	Data de Concessão
Extratos de cannabis e métodos de sua preparação e uso	21/10/2015	-
Composição farmacêutica compreendendo os fitocanabinóides [sic] canabidivarina (CBDV) e o canabidiol (CBD)	14/09/2012	-
Sistema incluindo sensores piezeletricos [sic] modificados ouimicamente [sic] para detecção [sic] de canabinoides e cocaína [sic]	29/08/2011	08/09/2020

Fonte: Elaborado pelo Autor, dados extraídos do site do INPI, 2022.

### 3.6 ESTUDOS NA LITERATURA SOBRE AS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DA *CANNABIS* SP.

Existem estudos na literatura, conduzidos em algumas partes do mundo, que evidenciaram a presença de cargas consideráveis de microrganismos em mercadorias produzidas com a *Cannabis*.

Nos Países Baixos, a *Cannabis* produzida e comercializada para fins medicinais tem sua qualidade supervisionada pelo Escritório de *Cannabis* Medicinal (OMC). No entanto, devido ao preço mais atrativo da *Cannabis* ilícita comercializada pelos tradicionais “coffeeshops” do país, vários usuários optam pelo consumo desta última, produzida sem o devido controle de qualidade.

Hazekamp (2006), então, comparou os diferentes produtos e concluiu que os produtos controlados pelo OMC possuíam níveis aceitáveis de contaminantes (bolores e bactérias aeróbias < 10 unidades formadoras de colônias (UFC) por grama, enterobactérias e bactérias Gram-negativas < 100 UFC/g e ausência de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, para produtos para inalação), enquanto que os comercializados pelos *coffeeshops* tinham qualidade inferior, com níveis de contaminantes superior quando comparados com os controlados. Quanto às análises microbiológicas, das 11 amostras analisadas provenientes dos *coffeeshops*, todas apresentaram números de UFC superiores aos recomendados pelas autoridades sanitárias para fungos e bactérias aeróbias e 9 possuíam níveis acima do recomendado para enterobactérias e bactérias Gram-negativas, enquanto nenhuma das amostras reguladas pelo OMC apresentou números não conformes. Além disso, uma das amostras não conformes dos *coffeeshops* foi analisada mais detalhadamente e nela foram identificados que os microrganismos presentes eram a *Escherichia coli* (*E. coli*), uma bactéria Gram-negativa indicadora de contaminação fecal, e fungos filamentosos dos gêneros *Penicillium*, *Cladosporium* e *Aspergillus*, que são capazes

de produzir metabólitos tóxicos, como as micotoxinas, que não são totalmente destruídas pelo calor do fumo, podendo ser inaladas e, segundo Lima (2010, p. 15), provocar efeitos carcinogênicos, mutagênicos, teratogênicos e/ou imunossupressores.

Em Israel, ao analisar amostras de *Cannabis* para fins medicinais por inalação, na forma de óleo, biscoitos e flores secas, fornecidas pela Sociedade Israelense para a Promoção do Uso da Cannabis Medicinal e pela Companhia Israelita de Cannabis, Ruchlemer et al. (2015) encontraram colônias de bactérias, predominantemente compostas por enterobactérias, além de colônias de uma mistura de fungos, cujo principal componente era o *Aspergillus*, em grandes quantidades. A carga microbiológica foi avaliada “*in natura*” e após a vaporização das amostras em um equipamento que soprava ar quente (194°C). Nos dois casos, colônias de bactérias e fungos cresceram nos meios de cultura. Tratando-se de um risco sanitário para pacientes imunossuprimidos que utilizam a *Cannabis* medicinal, os pesquisadores então analisaram três métodos clássicos para esterilização da *Cannabis* (esterilização por plasma de peróxido de hidrogênio, por óxido de etileno e por autoclave), concluindo que os três foram eficientes, com o método de plasma levando a uma menor degradação do THC.

O estudo de Chaves et al. (2016) analisou a presença de microrganismos em amostras de *Cannabis* apreendidas em seis territórios da Costa Rica, tendo como parâmetros a contagem total de bactérias aeróbias, leveduras e fungos filamentosos, de acordo com os procedimentos estabelecidos pela Farmacopeia americana (USP), estando conformes os produtos que apresentarem UFC/g < 10<sup>7</sup> para bactérias aeróbias e UFC/g < 10<sup>5</sup> para fungos e leveduras. Foi constatado, então, que a maioria das amostras excedia o limite máximo permitido pela entidade americana, sendo encontrado quatro gêneros de fungos (*Aspergillus* sp., *Scopulariopsis* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp.) e cinco espécies bacterianas (*Staphylococcus aureus*, *S. xylosum*, *S. lentus*, *Enterobacter cloacae* e *Cronobacter sakazakii*).

O estudo de Moreno et al. (2019) objetivou avaliar se o haxixe comercializado pelas ruas de Madri, nas formas de “bolotas” e “lingotes”, se encontrava dentro dos limites microbiológicos recomendados. Das amostras obtidas mensalmente de vendedores ambulantes, 88% delas não eram adequadas para consumo, muitas delas exibindo odor de fezes, sendo a contaminação maior nas amostras do tipo “lingote”, contendo microrganismos como a *E. coli* e *Aspergillus* sp.

No Brasil, Carmo (2019) avaliou a qualidade microbiológica em flores e extratos medicinais utilizados por pacientes que utilizam a *Cannabis* como forma terapêutica. Foram avaliadas flores, extratos oleosos artesanais produzidos com a *Cannabis* cultivada pelos próprios pacientes e extratos importados, disponibilizados pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS). As amostras foram avaliadas de acordo com os limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira e os resultados demonstraram que, mesmo os extratos artesanais passando por um processo de extração em temperatura em torno de 104°C, 40% deles apresentaram elevada contaminação microbiana. Os microrganismos encontrados foram *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter pyrinus*, *Cronobacter sakazakii*, *Pantoea agglomerans*, *Cedecea davisae*, *Cedecea neteri*, *Bacillus* sp., *Aspergillus* sp. e *Candida albicans*.

Os limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2019), também foram adotados para se avaliar as amostras no presente estudo. A Tabela 2 resume o que preconiza o documento.

Tabela 2 – Limites microbianos para produtos acabados de origem vegetal não estéreis

Via de administração	Contagem total de bactérias aeróbias (UFC/g ou mL)	Contagem total de fungos (UFC/g ou mL)	Pesquisa de patógenos
Para uso oral, contendo insumo ativo que não foi submetido a pré-tratamento que reduz a carga microbiana	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1 g ou mL. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g ou mL. Limite máximo de 10 <sup>3</sup> bactéria Gram negativa bile tolerante em 1 g ou mL.
Para uso inalatório	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e bactéria Gram negativa bile tolerante em 1 g ou mL.

Fonte: Elaborado pelo Autor, dados da Farmacopeia Brasileira, 2022

\* Para produtos que se enquadrem em mais de uma situação prevalecerão os limites mais restritivos.

Os resultados de todos os estudos citados dão indícios de que o consumo da *Cannabis* é um risco à saúde pública, mas mais estudos são necessários em nosso país, visto que a *Cannabis* ilícita ainda não foi avaliada em terras nacionais e o consumo da planta para fins medicinais está em crescimento, apresentando-se como um risco para os pacientes, principalmente os imunossuprimidos.

Em reportagem da agência de jornalismo investigativo “Pública”, feita em plantações de maconha no Paraguai, são relatados “diversos problemas na colheita da maconha paraguaia que podem afetar a saúde do usuário; como o mercado é ilegal, até erva estragada é enviada para o Brasil”. Os problemas são apontados não somente na colheita, mas durante todo o processamento para a obtenção do “prensado”, que gera um produto de coloração diferente do original e com odor desagradável. Dentre as más condições identificadas, estão a colheita em período chuvoso, o empilhamento em contato direto com o solo úmido após a colheita e abafamento com lona de plástico, secagem ao ar livre permitindo a entrada de insetos e outros contaminantes, mistura de maconha “boa” com maconha mofada na prensagem, entre outros. (MAXX, 2017). Duas destas condições são mostradas nas Figuras 4 e 5.

Figura 4 – Flores de maconha secando na roça, no Paraguai



Fonte: MAXX, 2017.

Figura 5 – Maconha mofada em uma roça no Paraguai, aguardando para ir à prensa



Fonte: MAXX, 2017.

As más condições a que o prensado pode ser submetido não se encerram em sua produção, mas também no estoque e no transporte. Ainda segundo a reportagem de Maxx (2017), por questões de logística e segurança, a maconha já prensada pode ficar enterrada por até um ano, podendo absorver ainda mais umidade. Além disso, não são raras as notícias relacionadas ao transporte de drogas em presídios e aeroportos em que os traficantes armazenam os entorpecentes em locais inusitados, como dentro de cuecas, sutiãs ou mesmo dentro de órgãos genitais, o que também pode contribuir para aumentar a carga microbiana presente.

O uso contínuo desse tipo de produto, sem nenhum controle de qualidade em toda a cadeia, sendo até mesmo impossível dizer as condições de produção, transporte e estoque ao qual foi submetido, mostra que a maconha ilícita é um risco não só para eventuais usuários com fins medicinais, mas também para os fins recreativos, mesmo que a temperatura do fumo ao queimar a erva elimine parte dos microrganismos.

### 3.7 CARACTERÍSTICAS DOS MICRORGANISMOS

*Staphylococcus* spp. são cocos Gram-positivos esféricos, organizados em cachos de uva irregulares. Três espécies são patógenas humanas: *S. aureus*, *S.*

*epidermidis* e *S. saprophyticus*, normalmente encontrados na microbiota normal. O mais comum deles, *S. aureus*, pode causar abscessos, endocardites, osteomielites, intoxicação alimentar e síndrome do choque tóxico. *S. epidermidis* e *S. saprophyticus*, ao contrário do *S. aureus*, não produzem toxinas, não causando intoxicação alimentar, mas podem causar endocardites e infecções do trato urinário. A intoxicação alimentar por *S. aureus* é caracterizada por vômitos mais proeminentes que diarreia, e é causada pela ingestão de enterotoxinas produzidas nos alimentos. A síndrome do choque tóxico inclui febre, hipotensão e erupção cutânea (LEVINSON e JAWETZ, 2005).

Os enterococos fazem parte da microbiota normal do trato intestinal, podendo ser também encontrados na mucosa oral e vaginal e na pele. São relativamente frequente nos alimentos, na água, no solo e no meio ambiente em geral. As infecções surgem quando a bactéria é transportada para órgãos ou locais sensíveis. São caracterizados por possuírem resistência a vários antimicrobianos utilizados habitualmente. A espécie mais frequente é o *E. faecalis*, compreendendo cerca de 80% das amostras de enterococos isoladas de material clínico (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008).

*Clostridium* é um gênero extremamente heterogêneo, composto por cerca de 150 espécies, sendo apenas 17 patogênicas, dentre elas o *Clostridium tetani* e o *C. botulinum*, causadoras do tétano e do botulismo respectivamente, e são normalmente encontradas no solo e no intestino. Algumas espécies, como o *C. perfringens*, podem causar infecção alimentar, que ocorre após a ingestão de alimentos contaminados com no mínimo  $10^8$  células produtoras de enterotoxina (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008).

As bactérias do gênero *Bacillus* são Gram-positivas esporuladas que, quando cultivadas em laboratório, costumam apresentar-se em longas cadeias serpentinosas, a maioria das células mostrando esporo central ou subterminal. Compreendem mais de 50 espécies, sendo o maior expoente o *Bacillus anthracis*, causador da doença antraz, que pode contaminar o ser humano por inoculação, inalação ou ingestão. Outra espécie bastante conhecida é o *Bacillus cereus*, que tem sido responsabilizado por casos de intoxicação alimentar em diferentes países, manifestando-se principalmente por vômitos (mediada por uma toxina termoestável) ou diarreias (mediada por uma toxina termolábil), principalmente em alimentos como o arroz, carnes e vegetais (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008).

O gênero *Kurthia* é formado por células regulares, não-ramificadas, relativamente grandes, em forma de bacilos com extremidades arredondadas e dispostos em cadeias. São móveis por meio de flagelos peritríquios, Gram-positivos, não-esporulados nem ácido-resistentes, aeróbios obrigatórios, catalase-positivos e oxidase-negativos. A espécie *K. bessonii* foi isolada em cultivos de sangue e de tecido da válvula aórtica de paciente com endocardite, tendo potencial patogênico (KONEMAN et al., 2001).

*Listeria* sp. é um gênero de bactérias de bastonetes Gram-positivos, anaeróbios facultativos e que se movem por flagelos. O gênero compreende seis diferentes espécies, sendo somente duas destas consideradas patogênicas: *L. monocytogenes*, patogênica aos seres humanos; e *L. ivanovii*, patogênica principalmente a animais. Estas bactérias são capazes de se adaptar a condições de estresse como altas concentrações de sal, pH entre 4,3 e 9 (GONZÁLEZ, 2009), refrigeração, temperatura e a ação de desinfetantes e são mais encontradas em alimentos de origem animal, apesar de poderem estar presentes em vegetais e frutas. A intoxicação alimentar por *L. monocytogenes* pode causar listeriose, uma doença extremamente perigosa para pessoas com sistema imune suprimido e mulheres grávidas, sendo rara a infecção em indivíduos saudáveis (NEOPROSPECTA, 2018)

Segundo Oliveira e de Paula (2021, p. 75), as bactérias Gram-negativas são hoje um dos maiores problemas de saúde pública no mundo devido à alta taxa de resistência aos antibióticos, bem como ao declínio substancial da sensibilidade desses patógenos aos antimicrobianos. Tais microrganismos têm grande importância nos hospitais, sendo um risco, principalmente, para pacientes de unidade de terapia intensiva (UTI). Existem dois grandes grupos – as enterobactérias e as não-fermentadoras da glicose – os quais comportam a maioria dos isolados clínicos relevantes, todavia, não se resumem apenas nestes, e microrganismos como *Neisseria* sp., *Haemophilus* sp., *Helicobacter pylori* e *Chlamydia trachomatis* também são importantes representantes Gram-negativos. No que tange à resistência aos antibióticos, apresentam uma gama de mecanismos capazes de impedir a ação de muitos antimicrobianos usados na prática clínica, quais sejam: bombas de efluxo, alteração do sítio de ligação do fármaco e à permeabilidade da membrana, enzimas de degradação bem como a mudança conformacional do medicamento culminando com sua inativação.

Com relação às leveduras, segundo Rocha et al. (2021, p. 1):

“Gênero *Candida* é encontrado vivendo de forma simbiote na microbiota da mucosa reprodutiva e gastrointestinal de 50-70% dos indivíduos saudáveis, em determinadas condições esses micro-organismos podem se tornar patogênicos, a ponto de se tornar a terceira causa das septicemias ao redor do mundo. Podem causar infecções superficiais, atingindo mucosas e pele, bem como infecções invasivas, em órgãos e tecidos profundos como intestino, pulmão e sangue. A espécie mais isolada em infecções causadas pelo gênero é a *Candida albicans*, porém é cada vez mais recorrente o isolamento de espécies de *Candida* não-*albicans*, como: *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*. Além disso, *C. albicans* e espécies de *C. não-albicans* vêm sendo cada vez mais relatadas pelo aparecimento de resistência aos antifúngicos de uso clínico, dificultando o tratamento de infecções causadas por estas cepas. (...) Este gênero é formado por micro-organismos oportunista [sic], que acometem, principalmente, pacientes imunodeprimidos, como também em tratamento com antimicrobianos de amplo espectro. Estas condições tornam esses micro-organismos importantes agentes causadores de infecção, como a Candidíase, que podem ser superficiais ou invasivas.”

Ainda, segundo Vasconcelos et al. (2014), “*Candida kefyr* é um agente descrito em infecção de corrente sanguínea (em pacientes com doenças hematológicas com neutropenia). Candidemia por *Candida* não *albicans* em pacientes com HIV é uma condição cada vez mais descrita na literatura.”

*Geotrichum* é um gênero de levedura dimórfica que exhibe comumente colônias de coloração creme, sendo morfológicamente caracterizado pela presença de artroconídios formados em cadeias pela fragmentação aleatória de hifas. Das treze espécies reconhecidas e atribuídas ao gênero *Geotrichum*, oito são formalmente reconhecidas como *Geotrichum citriaurantii*, *G. europaeum*, *G. pseudocandidum*, *G. candidum*, *G. fermentans*, *G. decipiens*, *G. restrictum* e *G. klebahnii*. As espécies de *Geotrichum* podem ser encontradas em vários ambientes incluindo solos, leite, água e como patógenos de plantas, e algumas espécies são conhecidas por estarem associadas com insetos. Além disso, algumas espécies podem estar associadas às doenças do sistema respiratório e trato-gastrointestinal de humanos, causando infecções oportunistas, chamadas de Geotricose. Embora *Geotrichum candidum* causar deterioração em vários alimentos, este fungo é utilizado como cultura adjunta na produção de queijos, devido à capacidade proteolítica e aromática e por ser parte da microbiota natural de leite cru (PAES, 2016).

Fungos filamentosos, também conhecidos como bolores ou mofos, são microrganismos eucariotos, heterotróficos e multicelulares. Estes microrganismos estão presentes em todos os ambientes e são economicamente importantes no campo da medicina, da fitopatologia e da indústria, além de serem ecologicamente importantes como decompositores. No entanto, também podem contaminar os

alimentos, causando sua deterioração, reduzindo seu valor nutricional, alterando suas qualidades organolépticas e tornando-se, em alguns casos, problema de saúde pública. Os fungos *Aspergillus* e *Penicillium* são considerados importantes produtores de micotoxinas, que são metabólitos tóxicos naturais e frequentemente encontradas em alimentos. Entre os tóxicos contaminantes de alimentos podemos destacar as aflatoxinas produzidas por espécies do gênero *Aspergillus*, as quais são altamente tóxicas e carcinogênicas para homens e animais, tornando-se assim, um fator preocupante para a indústria alimentícia. Intoxicações e problemas passageiros ou crônicos, que afetam várias funções do organismo, tais como alterações hepáticas, renais, circulatórias, no sistema nervoso e no trato digestivo podem ocorrer em homens e animais devido à ingestão destas substâncias. A micotoxina patulina pode ser produzida por várias espécies do gênero *Penicillium* e *Aspergillus*, sendo frequentemente encontrada em frutas, verduras e cereais. A verruculogeno também é uma importante toxina produzida por *Penicillium* e *Aspergillus*, causando fortes tremores em animais afetados (VECCHIA e DE CASTILHOS-FORTES, 2007).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 AMOSTRAGEM

As amostras de *Cannabis sativa* analisadas no presente trabalho foram oriundas de apreensões feitas pela Polícia Civil do Estado de Minas Gerais (PCMG) e foram disponibilizadas após autorização da pesquisa pela Superintendência de Polícia Técnico-Científica (SPTC) da PCMG. Sendo assim, a primeira etapa da pesquisa foi a consecução desta autorização, que foi concedida por meio do Ofício PCMG/SPTC nº 1213/2021, de 21 de setembro de 2021 (Anexo I).

#### 4.1.1 Origem das amostras

Todas as amostras analisadas foram apreendidas no território do estado de Minas Gerais, nas cidades e datas constantes na Tabela 3 (dados fornecidos pela PCMG). No entanto, não se sabe onde as plantas foram cultivadas, nem a rota percorrida por elas até o local de apreensão.

Tabela 3 – Local e data de apreensão das amostras analisadas de *Cannabis sativa* analisadas neste estudo

Amostra	Local de Apreensão	Data de Apreensão
1	Belo Horizonte	02 de Novembro de 2021
2	Belo Horizonte	25 de Janeiro de 2022
3	Belo Horizonte	17 de Fevereiro de 2022
4	Belo Horizonte	21 de Maio de 2021
5	Belo Horizonte	28 de Janeiro de 2022
6	Belo Horizonte	28 de Janeiro de 2022
7	Belo Horizonte	17 de Janeiro de 2022
8	Alto Caparaó / Manhuaçu	23 de Janeiro de 2022
9	Manhuaçu	20 de Janeiro de 2022
10	Nova Era / João Molevade	31 de Dezembro de 2021
11	João Molevade	30 de Dezembro de 2021
12	João Molevade	27 de Dezembro de 2021
13	João Molevade	27 de Dezembro de 2021
14	Rio Piracicaba / João Molevade	23 de Janeiro de 2022
15	Nova Era / João Molevade	16 de Novembro de 2021
16	Rio Piracicaba / João Molevade	21 de Janeiro de 2022
17	Itabira	13 de Janeiro de 2022

<b>Amostra</b>	<b>Local de Apreensão</b>	<b>Data de Apreensão</b>
18	Itabira	13 de Janeiro de 2022
19	Rio Piracicaba / João Molevade	02 de Fevereiro de 2022
20	Alto Caparaó / Manhauçu	04 de Fevereiro de 2022
21	Manhumirim / Manhauçu	03 de Fevereiro de 2022
22	Itamarandiba	29 de Dezembro de 2021
23	Turmalina	02 de Dezembro de 2021
24	Santa Cruz do Escalvado / Ponte Nova	23 de Novembro de 2021
25	Ponte Nova	17 de Dezembro de 2021
26	São Pedro dos Ferros / Ponte Nova	30 de Dezembro de 2021
27	Amparo da Serra / Ponte Nova	25 de Outubro de 2021
28	Ponte Nova	18 de Dezembro de 2021
29	Ponte Nova	10 de Janeiro de 2022
30	Rio Casca / Ponte Nova	17 de Janeiro de 2022
31	Rio Casca / Ponte Nova	17 de Janeiro de 2022
32	Barra Longa / Ponte Nova	26 de Outubro de 2021
33	Ponte Nova	26 de Novembro de 2021
34	Piedade de Ponte Nova / Ponte Nova	11 de Novembro de 2021
35	Barra Longa / Ponte Nova	14 de Novembro de 2021
36	Belo Horizonte	22 de Janeiro de 2022
37	Ponte Nova	16 de Janeiro de 2022
38	Capelinha	26 de Dezembro de 2021
39	Capelinha	26 de Dezembro de 2021
40	São Pedro dos Ferros / Ponte Nova	20 de Novembro de 2021
41	Rio Casca / Ponte Nova	08 de Dezembro de 2021
42	Ponte Nova	11 de Outubro de 2021
43	Ponte Nova	16 de Dezembro de 2021
44	São Pedro dos Ferros / Ponte Nova	16 de Dezembro de 2021
45	Rio Doce / Ponte Nova	15 de Janeiro de 2022
46	Barra Longa / Ponte Nova	14 de Novembro de 2021
47	Belo Horizonte	06 de Dezembro de 2021
48	Belo Horizonte	21 de Janeiro de 2022
49	Ponte Nova	26 de Novembro de 2021

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2022

#### **4.1.2 Condição das amostras**

As amostras foram fornecidas pelo Instituto de Criminalística da PCMG em pequenos sacos plásticos, previamente pesadas, contendo um grama de *Cannabis* em cada, como mostrado na Figura 6. Ao todo, foram fornecidas 49 amostras.

Figura 6 – Amostras de 1g fornecidas pela PCMG



Fonte: Do Autor, 2022

#### **4.1.3 Isolamento de microrganismos das amostras de *Cannabis sativa* apreendidas pela Polícia Civil do Estado de Minas Gerais (PCMG)**

Com o objetivo de evitar o transporte das amostras de *Cannabis sativa* (n=49 amostras) para fora das dependências da PCMG, o isolamento dos microrganismos das mesmas foi realizado na Seção Técnica de Física e Química Legal do Instituto de Criminalística, localizada em Belo Horizonte, Minas Gerais.

Para isto, foram realizadas diluições seriadas ( $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ ): um grama da amostra foi transferido para um tubo contendo 9 mL de água peptonada tamponada (APT) a 0,1% e agitado vigorosamente, obtendo-se a diluição  $10^{-1}$ . Em seguida, 1mL desta diluição foi transferido, com auxílio de uma pipeta, para um novo tubo contendo 9 mL de APT 0,1%, obtendo-se a diluição  $10^{-2}$ .

As diluições  $10^{-1}$  de todas as amostras, que continham a planta, foram devidamente descartadas e os tubos correspondentes à diluição  $10^{-2}$  foram então resfriados e transportados para a Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), em Uberaba, onde foram analisadas.

Figura 7 – Tubo contendo água peptonada tamponada e 1g da droga apreendida, após agitação.



Fonte: Do Autor, 2022

#### 4.2 PREPARO DOS MEIOS DE CULTURA UTILIZADOS NO ESTUDO

Todos as placas contendo os meios de cultura utilizados no presente estudo foram previamente esterilizados, seguindo-se o seguinte procedimento: pesou-se a quantidade necessária do meio de cultura em pó em uma balança, transferiu-se para um Erlenmeyer e adicionou-se a quantidade necessária de água destilada para se atingir a concentração indicada pelo fabricante. Utilizando-se um micro-ondas, aqueceu-se o sistema, a fim de permitir com que todo o sólido se dissolvesse na água, obtendo-se uma solução homogênea. O Erlenmeyer foi, então, tampado com papel Kraft e colocado no interior de uma autoclave, onde foi esterilizado por calor úmido a 120°C, por 15 minutos. O sistema foi então resfriado e o meio de cultura foi usado para o plaqueamento, que foi procedido próximo à chama de um bico de Bunsen, para evitar a contaminação das placas.

Os tubos tipo Falcon contendo os meios de cultura utilizados neste estudo foram produzidos de modo semelhante: após a pesagem, adição de água e aquecimento/homogeneização em micro-ondas, 5 mL do meio foram transferidos para os tubos, que foram, então, tampados e acondicionados em um suporte e esterilizados em autoclave a 120°C por 15 minutos. Assim que o ciclo da autoclave se encerrou, os tubos ainda quentes foram dispostos em um ângulo inclinado, a fim de formarem uma

“rampa” ao se solidificarem, como mostrado na Figura 8. Esta rampa fornece uma superfície adequada ao cultivo de microrganismos.

Figura 8 – Produção dos tubos inclinados



Fonte: Do Autor, 2022

### 4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS INICIAIS

Todas as análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Bioprocessos da UFTM, localizado no bloco G2 do Instituto de Ciências Tecnológicas e Exatas 1 (ICTE1).

#### 4.3.1 Quantificação da carga microbiana (bactérias e leveduras)

Todo o manuseio e plaqueamento foi realizado de acordo com as normas de biossegurança e realizada em Cabine de Segurança Biológica. A partir dos tubos de diluição  $10^{-2}$  obtidos anteriormente (seção 4.1.3), realizaram-se novas diluições (a  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ ) para todas as amostras. De cada diluição, foram transferidos, em duplicata, 1 mL para placas de Petri e em seguida realizado o plaqueamento pela técnica de pour-plate, utilizando-se aproximadamente 25 mL de ágar nutriente (NA) e 25 mL de Potato Dextrose Agar (PDA) para bactérias e fungos, respectivamente. Os meios foram dissolvidos em micro-ondas e resfriados a  $45^{\circ}$  antes do uso. O ágar NA possui diversos nutrientes que favorecem o crescimento de diversos tipos de microrganismos. Já o ágar PDA possui nutrientes que favorecem o crescimento de fungos, além de possuir nível alto de dextrose e pH ácido, que são fatores que inibem o crescimento de bactérias.

Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas em estufa incubadora BOD (*Biochemical Oxygen Demand*), a 37°C por 48 horas para as bactérias (placas invertidas, como exibido na Figura 9) e fungos filamentosos e leveduras a 25°C por 5 dias (SILVA et al., 2007).

Após o período de incubação, foi realizada a contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC) para bactérias e fungos de cada diluição testada e os dados registrados. Foram selecionadas, para bactérias, as placas com contagem entre 25-250 para a contagem e expressão dos resultados e 10-150 para fungos e leveduras. A média foi calculada e os valores encontrados foram divididos pelo fator de diluição ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  ou  $10^{-4}$ ). O resultado foi então expresso como UFC/grama de *Cannabis sativa*.

Figura 9 – Placas invertidas contendo as diluições e o meio de cultura NA, na BOD

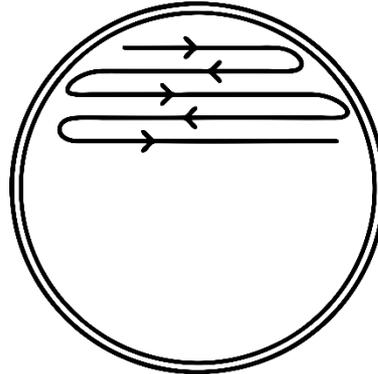


Fonte: Do autor, 2022

### 4.3.2 Isolamento dos microrganismos

O isolamento de população foi realizado pelo método de estrias simples de esgotamento em meio sólido (Figura 10), a partir das colônias que cresceram nas placas de quantificação.

Figura 10 – Representação do método de estrias simples para isolamento



Fonte: GRATISPNG, s.d.

#### 4.3.2.1 Bactérias

Coletou-se o inóculo com uma alça de repicagem e realizaram-se estrias simples com movimentos de ida-e-volta por toda a placa contendo Ágar Nutriente como meio de cultura. Incubaram-se as placas invertidas, então, a 37° C por 48 horas (SILVA et al., 2007).

#### 4.3.2.2 Leveduras

Coletou-se o inóculo com uma alça de repicagem e realizaram-se estrias com movimentos de ida-e-volta por toda a placa contendo PDA como meio de cultura. Incubaram-se as placas, então, a 37° C por 48 horas (SILVA et al., 2007).

#### 4.3.2.3 Fungos filamentosos

Coletou-se o inóculo com uma alça de repicagem e coletou-se um pedaço do fungo e foi colocado no centro de uma placa contendo PDA como meio de cultura. Incubaram-se as placas, então, a 25° C por 5 dias (SILVA et al., 2007).

## 4.4 TÉCNICAS PARA IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

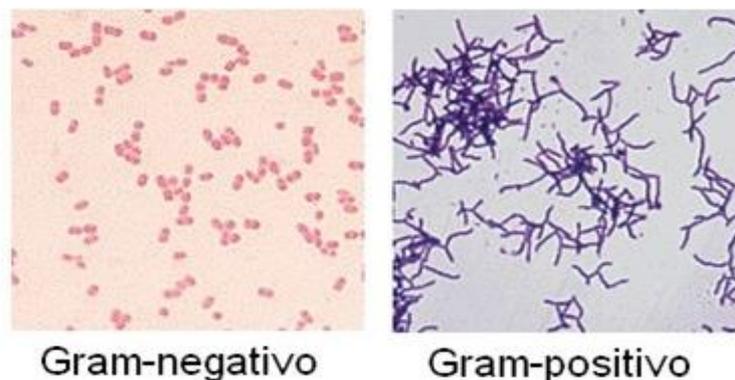
Após o isolamento dos microrganismos, procederam-se às análises relatadas abaixo para identificar os gêneros e, em alguns casos, as espécies das bactérias, leveduras e fungos filamentosos encontrados.

### 4.4.1 Bactérias

A fim de separar as bactérias encontradas entre Gram-positivas e Gram-negativas e identificar sua morfologia, procedeu-se ao teste de Coloração de Gram. Para isto, realizou-se o esfregaço de uma colônia de cada uma das placas de isolamento obtidas anteriormente sobre uma lâmina de vidro limpa. Fixou-se, então, o esfregaço à lâmina por secagem na chama de um bico de Bunsen e coloriu-se o material seguindo o procedimento a seguir: adicionou-se cristal violeta 1% por um minuto, acrescentou-se, em seguida, Lugol (0,3% I, 0,7% KI), deixando-se em contato por um minuto, lavou-se a amostra com álcool-acetona 30%, deixando-se em contato por 30 segundos, lavou-se a lâmina com água e pingou-se o corante Safranina 2,5%, deixando-se em contato por um minuto.

Em seguida, secaram-se naturalmente as amostras e visualizaram-se as lâminas em um microscópio óptico, na objetiva de 100 x (PELCZAR JR. et al., 1996). Identificaram-se, assim, as bactérias Gram-positivas (coloração roxa) e Gram-negativas (coloração rosada), assim como sua morfologia. As cores citadas podem ser melhor visualizadas na Figura 11.

Figura 11 – Cor assumida pelas bactérias ao microscópio, após efetuada a coloração de Gram



Fonte: BIOMEDICINA em ação, 2015.

Após a visualização no microscópio, foi possível também separar as bactérias entre cocos e bacilos. Nas próximas seções, serão apresentadas as análises utilizadas para melhor identificar os microrganismos Gram-positivos encontrados. Devido aos recursos disponíveis no laboratório, os microrganismos Gram-negativos não foram analisados em maior profundidade.

#### 4.4.1.1 Cocos Gram-positivos

Submeteram-se os cocos identificados na etapa anterior ao teste de catalase, a fim de separá-los entre a família *Streptococcaceae*, que gera teste negativo para a catalase, e outras famílias de cocos que geram teste positivo, como *Staphylococcaceae* e a *Micrococcaceae*. Para isto, coletou-se uma colônia de cada uma das placas de isolamento contendo cocos com uma alça de repicagem, depositou-a em uma lâmina e gotejou-se peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a 3%. O teste positivo se dá com o borbulhamento na lâmina, indicando a presença de catalase. Caso não haja formação de bolhas, confirma-se a ausência da catalase, indicando que a bactéria é pertencente à família *Streptococcaceae* (KONEMAN et al., 2001).

##### 4.4.1.1.1 Cocos de catalase positiva

Segundo Koneman (2001), as famílias de cocos Gram positivos com maior relevância clínica são: *Micrococcaceae*, *Staphylococcaceae* e *Streptococcaceae*. Como os estreptococos apresentam catalase negativa, os esforços foram direcionados para diferenciar os cocos de catalase positiva encontrados entre *Micrococcus* e *Staphylococcus*.

Para isto, foram aplicados os procedimentos de sensibilidade à bacitracina e à polimixina: uma colônia da bactéria foi colocada em um tubo contendo água peptonada, agitou-se o tubo e, com o auxílio de um *swab*, semearam-se os microrganismos por toda a superfície de uma placa contendo Ágar Nutriente. Em seguida, colocaram-se os discos diferenciais de Bacitracina e Polimixina B, pressionando-os levemente contra o ágar. Incubaram-se então as placas por 24 horas a 36°C e mediram-se os diâmetros dos halos de inibição. Os estafilococos são resistentes à bacitracina, crescendo até a borda do disco, enquanto os micrococcos são sensíveis, gerando halos de 10 mm ou maiores (KONEMAN et al., 2001).

Outro teste aplicado foi o da urease. Para isto, estriou-se uma alçada do microrganismo em um tubo Falcon inclinado contendo ágar ureia e incubou-se a 36°C por 24 horas. A produção de uma coloração avermelhada é indicativa da presença de urease no microrganismo e, caso o meio permaneça com sua cor amarelada, o resultado é negativo para a urease (KONEMAN et al., 2001).

De posse dos resultados encontrados, inferiu-se o tipo mais provável de microrganismo presente nas amostras, tendo como base a Tabela 4 abaixo.

Tabela 4 – Identificação das espécies de *Staphylococcus* de maior importância clínica

<b>Espécie</b>	<b>Ureia</b>	<b>Polimixina</b>	<b>Outras</b>
<i>S. aureus</i>	Variável	Resistente	Pig. Amarelo
<i>S. epidermidis</i>	+	Resistente	
<i>S. lugdunensis</i>	Variável	Variável	Omitina +
<i>S. haemolyticus</i>	Neg	Sensível	Omitina neg
<i>S. saprophyticus</i>	+	Sensível	Isolado em urina
<i>S. schleiferi</i>	Neg	Sensível	Sacarose neg
<i>S. intermedius</i>	+	Sensível	
<i>S. hyicus</i>	Variável	Resistente	

Fonte: Adaptado de ANVISA, 2004

#### 4.4.1.1.2 Família *Streptococcaceae*

A família *Streptococcaceae* é dividida em 17 gêneros, sendo 10 anaeróbios facultativos e 5 anaeróbios estritos. A primeira técnica utilizada para diferenciação entre os gêneros da família é o tipo de hemólise produzida pelo microrganismo. Os tipos de hemólise são a  $\alpha$ -hemólise (lise parcial das hemácias em torno da colônia, causando alteração da cor do meio para cinza-esverdeado ou amarronzado), a  $\beta$ -hemólise (lise completa das hemácias em torno da colônia, tornando o meio de cultura transparente) e a  $\gamma$ -hemólise (ausência de hemólise, não havendo alteração de cor do meio em torno da colônia), que podem ser melhor visualizadas na Figura 12 (KONEMAN et al., 2001).

Figura 12 – Tipo de hemólise: alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) e gama ( $\gamma$ )



Fonte: Adaptado de MICROBIOLOGIA veterinária, 2014

Deste modo, os cocos catalase-negativos encontrados nas etapas anteriores foram cultivados em ágar-sangue, sendo incubados por 24 horas, a 36°C. De posse dos resultados, procedeu-se às análises de sensibilidade à bacitracina e prova de bÍlis-esculina, a fim de seguir o procedimento de identificação presuntiva para estreptococos proposto por Koneman et al. (2001, p. 619), que consta na Tabela 5.

Tabela 5 – Tabela presuntiva de estreptococos de importância clínica

Microrganismo	Hemólise	Bacitracina	BÍlis-Esculina
Grupo A	$\beta$	Sensível	Negativo
Grupo B	$\beta$	Resistente	Negativo
Grupos C, F, G	$\beta$	Variável	Negativo
Grupo D			
Enterococo	$\alpha$ , $\beta$ , nenhuma	Resistente	Positivo
Não-enterococo	$\alpha$ , nenhuma	Resistente	Positivo
Estreptococos viridans	$\alpha$ , nenhuma	Variável	Variável
Pneumococos	$\alpha$	Variável	Negativo

Fonte: Adaptado de KONEMAN et al., 2001

A prova de bÍlis-esculina foi realizada em tubo contendo ágar bÍlis-esculina inclinado, sendo semeada a colônia com o auxílio de uma agulha, efetuando um movimento em S na parte inclinada do ágar. Após a semeadura, incubaram-se os

tubos a 36°C durante 24 horas. O resultado é considerado positivo se houver o enegrecimento de mais da metade da área inclinada do ágar (KONEMAN et al., 2001).

#### 4.4.1.3 Bastonetes Gram-positivos

Segundo Levinson e Jawetz (2005, p. 119), “existem quatro gêneros de bastonetes Gram-positivos de importância clínica: *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium* e *Listeria*. *Bacillus* e *Clostridium* formam esporos, enquanto *Corynebacterium* e *Listeria* não. Os representantes do gênero *Bacillus* são aeróbios, enquanto os do gênero *Clostridium* são anaeróbios”.

A fim de se avaliar os gêneros dos bastonetes Gram-positivos encontrados após a coloração de Gram, procedeu-se às seguintes análises: teste de catalase, avaliação de esporos, teste de motilidade, tipo de hemólise, teste de hidrólise de esculina e teste de produção de ácido a partir de frutose, sacarose e lactose com meio TSI.

Para a prova do meio TSI, inoculou-se o microrganismo em um tubo contendo o meio TSI inclinado, sendo que esta inoculação foi feita por picada central até o fundo, seguido de espalhamento na superfície e incubação por 24 horas a 36°C. A forma de interpretação do resultado deste teste encontra-se na Tabela 6 (ANVISA, 2004).

Tabela 6 – Interpretação do resultado da prova do meio TSI

Resultado	Interpretação
Púrpura/amarelo (ápice púrpuro e base amarela)	Fermentação apenas da glicose (lactose e sacarose negativas)
Amarelo/amarelo (ápice e base amarelos)	Fermentação da glicose + lactose e/ou sacarose (2 ou 3 açúcares)
Bolhas ou meio fragmentado	Presença de gás (CO <sub>2</sub> )
Presença de precipitado negro	H <sub>2</sub> S positivo

Fonte: Adaptado de ANVISA, 2004

A avaliação de esporos foi feita pelo método de coloração de esporos de Wirtz-Conklin, que foi procedido da seguinte forma: Fez-se um esfregaço de uma colônia das placas usadas para o isolamento (item 4.2.2) em uma lâmina. Cobriu-se o esfregaço com o corante verde malaquita a 5% e aproximou-se a lâmina à chama de um bico de Bunsen até o desprendimento de vapor, sem que o corante fervesse. Aguardaram-se 2 minutos, lavou-se com água e adicionou-se solução de safranina

2,5%, deixando-se em contato por 30 segundos. As lâminas foram então lavadas com água, secadas e observadas ao microscópio com objetiva de imersão. Por esta técnica, os esporos adquirem coloração verde, enquanto outras estruturas da célula se tornam avermelhadas pela safranina, facilitando a diferenciação dos esporos (DINIZ, 2018).

A motilidade foi avaliada semeando os microrganismos por picada até o fundo em tubos contendo ágar *Sulfide Indole Motility* (SIM) inclinado. O crescimento apenas na linha de picada indica motilidade negativa, enquanto um crescimento difuso em todo o meio indica motilidade positiva (ANVISA, 2004).

A produção de ácido a partir de frutose, sacarose e lactose foi feita semeando-se as bactérias em ágar TSI, adotando-se o mesmo procedimento citado anteriormente para os cocos Gram-positivos.

Com os resultados dos testes citados acima, inferiram-se os gêneros ou espécies mais prováveis para os bastonetes Gram-positivos presentes nas amostras de *Cannabis*, tendo como base as Tabelas 7 e 8.

Tabela 7 – Triagem inicial para bacilos e cocobacilos Gram positivos

Bactéria	Esporo	Hemólise	Catalase	Obs.
<i>Actinomyces</i> spp.	Negativo	Negativo	Variável	
<i>Arcanobacterium</i> spp.	Negativo	Beta	Negativo	Pleomórfico
<i>Bacillus</i> spp.	Positivo	Variável	Positivo	
<i>Clostridium</i> spp.	Positivo	Variável	Negativo	
<i>Corinebacterium</i> spp.	Negativo	Neg	Variável	Paliçada
<i>Erisipelotrix rhusiopathie</i>	Negativo	Alfa	Negativo	H <sub>2</sub> S positivo
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Negativo	Beta/ coelho	Negativo	Gram lábil
<i>Lactobacillus</i> spp.	Negativo	Negativo	Variável	
<i>Mobiluncus</i> spp.	Negativo	Negativo	Negativo	Móvel
<i>Listeria</i> spp.	Negativo	Beta	Positivo	Móvel
<i>Mycobacterium</i> spp.	Negativo	Negativo	Positivo	Cresc. lento
<i>Nocardia</i> spp.	Negativo	Negativo	Positivo	Coloração laranja
<i>Oerskovia</i> spp.	Negativo	Negativo	Positivo	Coloração amarela
<i>Propionibacterium</i> spp.	Negativo	Negativo	Variável	
<i>Rhodococcus</i> spp.	Negativo	Negativo	Positivo	Coloração coral
<i>Rhotia dentocariosa</i>	Negativo	Negativo	Positivo	Pleomórfico
<i>Streptomyces</i> spp.	Negativo	Negativo	Positivo	Raro, hifas

Fonte: Adaptado de ANVISA, 2004.

Tabela 8 – Principais diferenças entre bacilos e coco-bacilos Gram positivos

Bactéria	Gram	Catalase	Motilidade 25°C	Hemólise	Esculina
<i>Listeria monocytogenes</i>	Bacilo curto ou coco-bacilo regular e largo	Positivo	Positivo	Beta	Positivo
<i>Enterococcus</i> spp.	Cocos ou coco-bacilos em cadeias	Negativo	Negativo	Alfa, beta, gama	Positivo
<i>Streptococcus</i> beta hemolíticos	Cocos em cadeias	Negativo	Negativo	Beta	Negativo
<i>Lactobacillus</i> spp.	Coco-bacilos e cadeias longas	Negativo	Negativo	Não	Negativo
<i>Kurthia</i> spp. <sup>1</sup>	Bacilo grande, cadeias, cocóide em cultura velha	Positivo	Positivo	Não	Negativo
<i>Corynebacterium</i> spp.	Bacilos e coco-bacilos pleomórficos	Positivo	Negativo	Variável	Negativo
<i>Erysipelotrix rhusiopathiae</i> <sup>2</sup>	Coco-bacilo ou filamentos longos	Negativo	Negativo	Alfa	Negativo

<sup>1</sup> Não usa glicose    <sup>2</sup> H<sub>2</sub>S positivo  
 Fonte: Adaptado de ANVISA, 2004.

#### 4.4.2 Fungos filamentosos

Os fungos filamentosos, ou bolores, presentes nas amostras de *Cannabis* foram avaliados por meio do macrocultivo. Para isto, semeou-se o fungo na parte central de uma placa contendo ágar PDA, incubou-se a 25° C por 5 dias e visualizou-se a morfologia de crescimento do fungo (PELCZAR JR et al., 1996).

#### 4.4.3 Leveduras

Segundo Gasparini (1986, p. 6), “dentre os microrganismos existentes, as leveduras representam um grupo relativamente pequeno, composto de 39 gêneros e 350 espécies.”. E, ao contrário dos bolores, sua morfologia não apresenta muita diversidade, não sendo um bom parâmetro para sua identificação. Deste modo, há que se recorrer a testes bioquímicos ou outros métodos para sua identificação (ANVISA, 2004).

Os testes a que as leveduras presentes nas amostras de *Cannabis* foram submetidos, foram: Prova do tubo germinativo, prova de filamentação e clamidósporo com ágar-fubá, prova de urease, fermentação dos açúcares glicose, sacarose e lactose com meio TSI e fermentação de maltose.

A prova do tubo germinativo foi feita da seguinte forma: A partir de uma alçada da colônia isolada, fez-se uma suspensão em tubo de ensaio contendo 0,5 ml de soro humano. Incubou-se a 36°C durante 2,5 horas. Depositou-se, então, uma gota da suspensão sobre uma lâmina, cobriu-se com lamínula e examinou-se ao microscópio óptico. A presença de tubo germinativo, na forma de pequeno filamento que brota do blastoconídio, sem formar constricção com a célula-mãe, permite a identificação presuntiva de *Candida albicans* (ANVISA, 2004).

A prova de filamentação e clamidósporo com ágar-fubá foi procedida de acordo com preconiza a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA): Depositou-se aproximadamente 3 ml de ágar-fubá fundido sobre uma lâmina contida sobre um suporte dentro de uma placa de Petri. Após solidificação do meio, semeou-se a levedura, fazendo-se 2 estrias paralelas. Recobriram-se as estrias com lamínula esterilizada e fez-se uma câmara úmida, embebendo de água um algodão estéril. Tampou-se a placa e após 24h, 48h e 72h, examinou-se a preparação em microscópio óptico. A presença de hifas hialinas, septadas e ramificadas são características do gênero *Candida* e se houver formação de clamidósporos indica *Candida albicans*. Formação exclusiva de artrósporos permite identificação de *Geotrichum*, mas quando são formados também blastoconídios trata-se de *Trichosporon* (ANVISA, 2004).

A fermentação de maltose foi feita semeando-se a levedura em um tubo inclinado contendo ágar maltose. Os outros testes foram procedidos conforme já relatados anteriormente para outros microrganismos.

De posse dos resultados dos testes citados nos parágrafos anteriores e utilizando-se as Tabelas 9 e 10, conjecturaram-se os prováveis gêneros aos quais pertencem as leveduras encontradas.

Tabela 9 – Características bioquímicas de espécies de *Candida* de importância médica

Microrganismo	Assimilação de			
	Maltose	Sacarose	Lactose	Urease
<i>Candida albicans</i>	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
<i>C. catenulata</i>	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
<i>C. guilliermondii</i>	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
<i>C. kefyr</i>	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
<i>C. krusei</i>	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
<i>C. lambica</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<i>C. lipolytica</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
<i>C. lusitanae</i>	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
<i>C. parapsilosis</i>	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
<i>C. rugosa</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<i>C. tropicalis</i>	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
<i>C. zeulanoides</i>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

\*obs.: todas as espécies de *Candida* incluídas assimilam glicose

Fonte: Adaptado de KONEMAN et al., 2001

Tabela 10 – Identificação das principais leveduras de interesse médico

Levedura	Tg	Cultivo em lâmina		Ur	Assimilação de			
		Hifa	Ar		Sa	Ma	La	Gl
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	+	+	-	+
<i>C. tropicalis</i>	-	+	-	-	+	+	-	+
<i>C. parapsilosis</i>	-	+	-	-	+	+	-	+
<i>C. krusei</i>	-	+	-	-	-	-	-	+
<i>C. guilliermondii</i>	-	+	-	-	+	+	-	+
<i>C. glabrata</i>	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>C. neoformans</i>	-	-	-	+	+	+	-	-
<i>Geotrichum</i>	-	+	+	-	-	-	-	V
<i>Trichosporon</i>	-	+	+	V	+	+	+	-
<i>Rhodotorula</i> sp.	-	-	-	+	+	V	-	-
<i>Saccharomyces</i>	-	-	-	-	+	+	-	+

Tg = tubo germinativo, Ar = artrósporo, Ur = urease, Sa = sacarose, Ma = maltose, La = lactose, Gl = glicose, + = resultado positivo, - = resultado negativo, V = resultado variável

Fonte: Adaptado de ANVISA, 2004.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Abaixo estão expostos os resultados encontrados das análises propostas na seção 4 (materiais e métodos).

### 5.1 QUANTIFICAÇÃO DA CARGA MICROBIANA

A fim de se avaliar a carga microbiana nas amostras de *Cannabis* e classificá-las como adequada ou inadequada para o consumo humano, adotou-se como referência os limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira, 6ª edição (ANVISA, 2019).

#### 5.1.1 Bactérias

A Farmacopeia preconiza que, em produtos de origem vegetal, para uso oral, contendo insumo ativo que não foi submetido a pré-tratamento que reduz a carga microbiana, deve-se observar um limite de contagem de bactérias de  $1,00 \times 10^5$  Unidades Formadoras de Colônias, enquanto que em produtos de origem vegetal para uso inalatório, este limite é de  $1,00 \times 10^2$ .

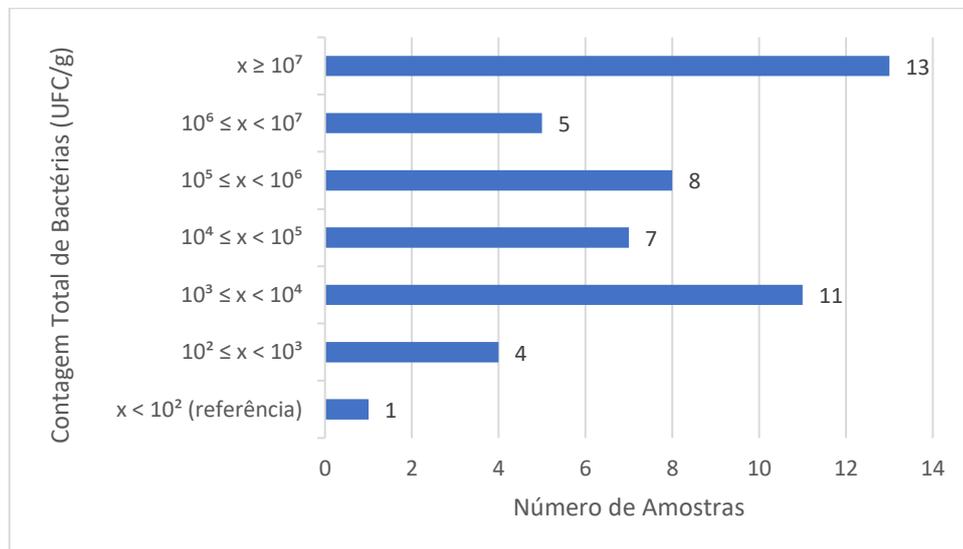
Segundo o Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (2022), o padrão de uso mais comum da maconha é fumado e, segundo Sanquetta et al. (2015, p. 844), a temperatura da queima de um cigarro de tabaco é de aproximadamente  $850^\circ\text{C}$ , o que não deve variar muito para um cigarro de maconha. No entanto, esta temperatura se dá na ponta do cigarro e, considerando que há um gradiente de temperatura entre a ponta que está sendo queimada e a boca do usuário, e que esta temperatura na boca é suportável ao mesmo e considerando também que o tempo de contato entre a fumaça e os microrganismos não é longo o suficiente, em temperaturas altas, para garantir a eliminação dos mesmos, pode-se inferir que a fumaça mainstream (a fumaça tragada/inalada) pode conter parte dos microrganismos presentes na *Cannabis* ainda vivos, representando um risco, de forma inalatória, aos usuários.

Em produtos que se enquadrem em mais de uma situação (neste caso, uso oral e inalatório), a Farmacopeia estabelece que devem prevalecer os limites mais restritivos e, deste modo, adotou-se o limite como sendo de  $1,00 \times 10^2$  UFC. O gráfico

da Figura 13 resume os resultados das contagens para as 49 amostras analisadas e a referência adotada.

Analisando os resultados, pode-se observar que 48 das 49 amostras são inadequadas para o consumo humano, o que representa aproximadamente 98% do total. Não somente as amostras ultrapassam o limite, como a grande maioria delas extrapola muito além do dobro do limite estabelecido, evidenciando a presença de uma carga bacteriológica altíssima nas drogas apreendidas.

Figura 13 – Gráfico de contagem total de bactérias presentes nas amostras de *Cannabis*, em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g) versus o número de amostras

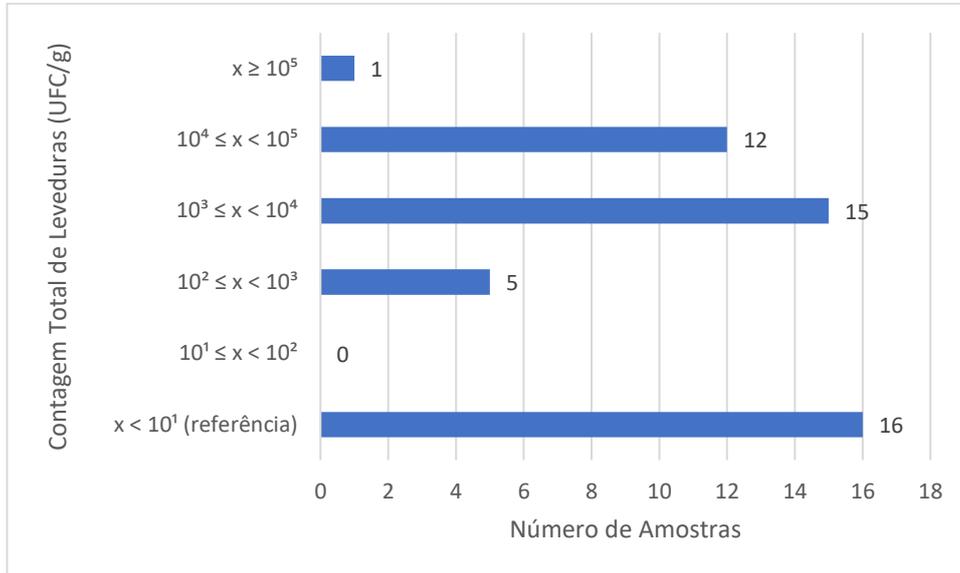


Fonte: Elaborado pelo Autor, 2022

### 5.1.2 Leveduras

Com relação aos fungos, em produtos de origem vegetal, para uso oral, contendo insumo ativo que não foi submetido a pré-tratamento que reduz a carga microbiana, a Farmacopeia estabelece um limite de contagem de  $1,00 \times 10^3$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC), enquanto que em produtos de origem vegetal para uso inalatório, este limite é de  $1,00 \times 10^1$ . Como os limites mais restritivos devem prevalecer, adotou-se o limite como sendo de  $1,00 \times 10^1$  UFC. O gráfico da Figura 14 resume os resultados das contagens para as 49 amostras analisadas e a referência adotada. A Figura 15 apresenta uma das leveduras encontradas, apresentando coloração branca e aspecto rugoso.

Figura 14 – Gráfico de contagem total de leveduras presentes nas amostras de *Cannabis*, em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g) versus o número de amostras



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2022

Figura 15 – Levedura rugosa de coloração branca encontrada na amostra nº 20



Fonte: Do Autor, 2022

Analisando os resultados, percebe-se que 33 das 49 amostras são inadequadas para o consumo humano, o que representa aproximadamente 67% do

total. Assim como observado para as bactérias, grande parte das amostras excede muito o limite estabelecido, uma delas (amostra 42) apresentando um número dez mil vezes maior.

## 5.2 IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS

### 5.2.1 Bactérias

Os resultados obtidos após a coloração de Gram, observação no microscópio óptico e prova de catalase estão resumidos na Tabela 11 abaixo:

Tabela 11 – Resultados dos testes de coloração de Gram e prova de catalase

Amostra	Coloração de Gram	Morfologia	Catalase	Classificação
1	Gram -	Bastonete	-	Bastonete Gram-Negativo
2	Gram +	Coco	Negativo	Família <i>Streptococcaceae</i>
3	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
4	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
5	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
6	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
7	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
8	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
9	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
11	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
12	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
13	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
14	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
15	Gram +	Bastonete	Negativo	Bastonete Gram-Positivo
16	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
17	Gram - Gram +	Bastonete	Negativo Negativo	Bastonete Gram-negativo Bastonete Gram-Positivo
18	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
19	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
20	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
21	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
22	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
23	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
24	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
25	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
26	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo

Amostra	Coloração de Gram	Morfologia	Catalase	Classificação
27	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
28	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
29	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
30	Gram -	Bastonete	-	Bastonete Gram-Negativo
31	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
32	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
33	Gram + Gram +	Coco Bastonete	Negativo Negativo	Família <i>Streptococcaceae</i>
34	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
35	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
36	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
37	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
38	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
39	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
40	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
41	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
42	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
43	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
44	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
45	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
46	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
47	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo
48	Gram +	Coco	Positivo	Cocos catalase positiva
49	Gram +	Bastonete	Positivo	Bastonete Gram-Positivo

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2022

### 5.2.1.1 Cocos Gram-positivos

Conforme os resultados encontrados na prova de catalase para os cocos Gram-positivos, foi possível dividi-los entre estreptococos e cocos de catalase positiva, conforme exposto na Tabela 11 acima, sendo a maioria dos microrganismos encontrados pertencendo ao grupo de catalase positiva.

#### 5.2.1.1.1 Cocos de catalase positiva

De todas as amostras analisadas, 18 foram identificadas como cocos de catalase positiva, o que representa 37%. Um resumo dos resultados dos testes aplicados para as bactérias encontradas desta família é apresentado na Tabela 12.

Tabela 12 – Resultados dos testes aplicados aos cocos Gram-positivos de catalase positiva

Amostra	Bacitracina	Urease	Polimixina B	Identificação
3	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
6	Resistente	Positivo	Resistente	<i>Staphylococcus</i> sp.
7	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
8	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
9	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
16	Resistente	Positivo	Resistente	<i>Staphylococcus</i> sp.
20	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
21	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
22	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
23	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
27	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
32	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
38	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
41	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
42	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
45	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
46	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.
48	Resistente	Positivo	Sensível	<i>Staphylococcus</i> sp.

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2022

Pode-se observar que todas as bactérias analisadas eram resistentes à bacitracina, sendo então possível classificá-las como estafilococos. Somente com os testes procedidos não foi possível identificar as espécies dos estafilococos. No entanto, é possível categorizá-las em dois grupos: supondo que elas pertencem ao grupo dos estafilococos de importância clínica, teríamos que as espécies das amostras 6 e 16 seriam *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. lugdunensis* ou *S. hyicus*, por serem resistentes à polimixina. Já o restante das amostras, seriam *S. saprophyticus*, *S. lugdunensis* ou *S. intermedius*, por serem sensíveis à polimixina. Outros testes que poderiam ser procedidos para se chegar à espécie exata, seriam os de DNase, pyrrolidonyl-aminopeptidase (PYR) e Novobiocina. No entanto, considerou-se que a identificação do gênero das bactérias e da quantidade presente já é suficiente para se avaliar os riscos do consumo da *Cannabis*.

#### 5.2.1.1.2 Família *Streptococcaceae*

Somente as amostras 2 e 33 se encaixaram nesta família, o que representa 4% do total. Nestas duas amostras, foram encontradas hemólises do tipo beta, como mostra a Figura 16.

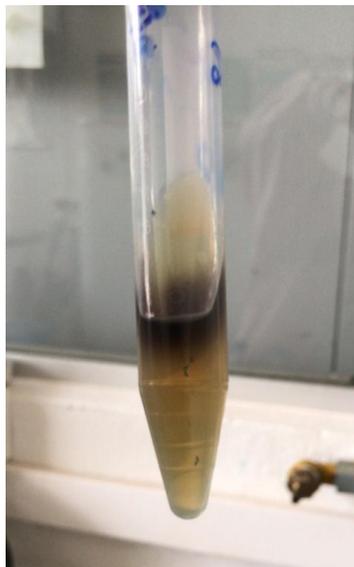
Figura 16 – Beta-hemólise encontrada para a amostra 33, à direita.



Fonte: Do Autor, 2022

Para a prova de bÍlis-esculina, as duas amostras apresentaram resultado positivo, como ilustra a Figura 17.

Figura 17 – Resultado positivo do teste de bÍlis-esculina para a amostra 2



Fonte: Do Autor, 2022

Uma vez que somente os *Enterococcus* apresentam beta-hemólise e resultado positivo para a bÍlis-esculina, foi possível classificar as amostras analisadas em tal gênero. O resumo dos resultados dos testes aplicados às amostras 2 e 33 e sua identificação encontram-se na Tabela 13.

Tabela 13 - Resultados dos testes aplicados às bactérias da família *Streptococcaceae*

Amostra	Hemólise	BÍlis-Esculina	Bacitracina	Identificação
2	beta	positivo	Resistente	<i>Enterococcus</i> sp.
33	beta	positivo	Resistente	<i>Enterococcus</i> sp.

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2022

#### 5.2.1.2 Bastonetes Gram-positivos

Os resultados encontrados para os bastonetes Gram-positivos estão dispostos na Tabela 14. Com os testes aplicados, foi possível identificar 3 gêneros de bastonetes Gram-positivos: *Bacillus* em 2 amostras (4%), *Kurthia* em 1 amostra (2%) e *Enterococcus* em 9 amostras (18%). Não foi possível identificar os gêneros das bactérias das outras 15 amostras (30%) e elas foram classificadas somente como bacilos Gram-positivos.

Tabela 14 – Resultados dos testes aplicados aos bastonetes Gram-positivos e sua identificação

Amostra	Catalase	Esporo	Motilidade (SIM)	Hemólise	Esculina	TSI	Identificação
4	Positivo	Negativo	Negativa	Alfa	Positivo	Ácido	<i>Enterococcus</i> sp.
5	Positivo	Negativo	Negativa	Alfa	Positivo	Ácido + gás	<i>Enterococcus</i> sp.
11	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Positivo	Ácido	Bacilo Gram-positivo
12	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Positivo	Ácido	Bacilo Gram-positivo
13	Positivo	Central	-	Gama	-	-	<i>Bacillus</i> sp.
14	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Negativo	Alcalino	<i>Kurthia</i> sp.
15	Negativo	Positivo	-	-	-	-	Bacilo Gram-positivo
17	Negativo	Positivo	-	-	-	-	Bacilo Gram-positivo
18	Positivo	Negativo	Negativa	Alfa	Positivo	Ácido + gás	<i>Enterococcus</i> sp.
19	Positivo	Negativo	Negativa	Gama	Positivo	Ácido	<i>Enterococcus</i> sp.
24	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Positivo	Alcalino	Bacilo Gram-positivo
25	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Positivo	Ácido	Bacilo Gram-positivo

Amostra	Catalase	Esporo	Motilidade (SIM)	Hemólise	Esculina	TSI	Identificação
26	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Positivo	Ácido	Bacilo Gram-positivo
28	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Positivo	Ácido	Bacilo Gram-positivo
29	Positivo	Negativo	Negativa	Gama	Positivo	Ácido	<i>Enterococcus</i> sp.
31	Positivo	Central	-	Gama	-	-	<i>Bacillus</i> sp.
33	Negativo	Positivo	-	-	-	-	Bacilo Gram-positivo
34	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Positivo	Ácido	Bacilo Gram-positivo
35	Positivo	Negativo	Negativa	Gama	Positivo	Ácido	<i>Enterococcus</i> sp.
36	Positivo	Negativo	Negativa	Gama	Positivo	Fundo ácido, rampa alcalina	<i>Enterococcus</i> sp.
37	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Positivo	Fundo ácido, rampa alcalina	Bacilo Gram-positivo
39	Positivo	Negativo	Negativa	Gama	Positivo	Fundo ácido, rampa alcalina	<i>Enterococcus</i> sp.
40	Positivo	Negativo	Negativa	Gama	Positivo	Alcalino	<i>Enterococcus</i> sp.
43	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Positivo	Alcalino	Bacilo Gram-positivo
44	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Positivo	Ácido	Bacilo Gram-positivo
47	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Positivo	Ácido	Bacilo Gram-positivo
49	Positivo	Negativo	Positiva	Gama	Positivo	Ácido	Bacilo Gram-positivo

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2022

A identificação foi possível confrontando-se os resultados com as tabelas dispostas na seção 4.4.1.3. Bastonetes Gram-positivos que apresentaram esporos, com catalase negativa, foram classificados como pertencentes do gênero *Clostridium* e, tendo catalase positiva, como do gênero *Bacillus*. No entanto, como não foi procedido nenhum teste de anaerobiose, considerou-se que os testes procedidos não eram suficientes para a identificação do gênero *Clostridium* e o resultado para estas amostras foi considerado apenas como bacilos Gram-positivos.

Já os bastonetes que não apresentaram esporos, com catalase positiva, motilidade positiva e esculina negativa, foram classificados como pertencendo ao gênero *Kurthia*. Se apresentaram as mesmas características, mas com teste positivo para a esculina, a princípio, poder-se-ia classificar como *Listeria*. No entanto, assim como para o gênero *Clostridium*, considerou-se que as técnicas utilizadas não são robustas o suficiente para cravar a presença do gênero nas amostras, classificando-as somente como bacilos Gram-positivos.

Para identificação dos *Enterococcus*, levou-se em consideração aqueles que não apresentaram esporos, motilidade negativa, hemólise variável e esculina positiva.

Estes microrganismos também apresentaram catalase positiva, o que não era esperado para este gênero, segundo as tabelas de identificação. No entanto, segundo o próprio manual de Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica da ANVISA (2004), do qual as tabelas foram extraídas, “algumas cepas de enterococos podem dar falsa reação positiva” para a prova da catalase. Por este motivo, consideraram-se os microrganismos encontrados pertencente ao gênero dos enterococos.

### 5.2.2 Fungos filamentosos

Os fungos filamentosos foram encontrados em 10 amostras (20%) e foram identificados por sua morfologia característica. Os gêneros encontrados foram dois: o *Aspergillus* e o *Penicillium*, que são mostrados nas Figuras 18 e 19. A identificação das amostras e o fungo encontrado está disposta na Tabela 15.

Figura 18 – Fungo *Aspergillus* encontrado na amostra nº 48, à esquerda



Fonte: Do Autor, 2022

Figura 19 – Fungo *Penicillium* encontrado na amostra nº 14



Fonte: Do Autor, 2022

Tabela 15 – Identificação dos fungos filamentosos encontrados nas amostras

<b>Amostra</b>	<b>Identificação</b>
<b>12</b>	<i>Aspergillus e Penicillium</i>
<b>14</b>	<i>Penicillium</i>
<b>21</b>	<i>Penicillium</i>
<b>29</b>	<i>Aspergillus</i>
<b>35</b>	<i>Aspergillus</i>
<b>37</b>	<i>Penicillium</i>
<b>39</b>	<i>Penicillium</i>
<b>45</b>	<i>Aspergillus e Penicillium</i>
<b>46</b>	<i>Penicillium</i>
<b>48</b>	<i>Aspergillus</i>

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2022

### 5.2.3 Leveduras

Das 49 amostras, 32 apresentaram crescimento de leveduras, o que representa 65%. O primeiro teste feito para identificação das leveduras, que foi a prova do tubo germinativo, foi positivo somente para 3 amostras (30, 37 e 39), confirmando a

existência de *Candida albicans* nestas. A Figura 20 apresenta o tubo germinativo observado na amostra 30.

Figura 20 – Tubo germinativo observado em microscópio na amostra nº 30



Fonte: Do Autor, 2022

Quatro das amostras (24, 32, 38 e 46) apresentaram colônias de coloração rosada, como mostrado na Figura 21. A princípio, suspeitou-se tratar de leveduras do gênero *Rhodotorula*, mas os testes de urease para estas amostras apresentaram resultados negativos, o que não é esperado para leveduras do gênero *Rhodotorula*.

No entanto, segundo De Araújo et al. (2005), “A coloração rósea verificada em nosso estudo, nos cinco isolados de *C. krusei*, tem sido encontrada por diferentes pesquisadores (4,11). As colorações rosa e lilás, no entanto, são comuns em diferentes espécies de *Candida* (*C. Krusei*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*)”. Deste modo, classificaram-se as leveduras destas amostras como sendo do gênero *Candida*.

Não foi possível tirar conclusões com a prova de filamentação e clamidósporo com ágar-fubá. Apesar de repetir-se o teste, por três vezes, seguindo os procedimentos do manual da ANVISA (2004) e de Koneman (2001), não houve crescimento das leveduras nas lâminas após 72 horas, sendo, portanto, inconclusivo.

Dezoito amostras apresentaram os seguintes resultados: urease, maltose e lactose negativos, e sacarose e glicose positivos. Confrontando-se estes resultados com as tabelas da seção 4.4.3, chegou-se à conclusão de que as leveduras presentes se tratavam de *Candida kefyr*.

Figura 21 – Colônia de levedura de coloração rosa encontrada na amostra nº

38



Fonte: Do Autor, 2022

Duas amostras apresentaram os seguintes resultados: urease, maltose, sacarose e lactose negativos e glicose positivo. Das tabelas de referência, infere-se que os microrganismos pertencem ou ao gênero *Candida* (*krusei* ou *glabrata*), ou ao gênero *Geotrichum*. O gênero exato poderia ser identificado caso o cultivo em lâmina em ágar fubá para análise de hifa e artrósporo tivesse sido conclusivo. No entanto, outros testes também poderiam ter sido adotados, como os de Trealose e de Xilose, mas não havia recursos para procedê-los.

Duas amostras apresentaram os seguintes resultados: Urease, maltose e glicose negativos, e sacarose e lactose positivos. Pelas tabelas de referência, não há resultados conclusivos possíveis e, portanto, não foi possível chegar a um gênero para estas amostras (25 e 48).

O resumo dos testes aplicados às leveduras encontra-se na Tabela 16 a seguir.

Tabela 16 – Resultado dos testes aplicados às leveduras

Amostra	Tubo Germinativo	Urease	Maltose	Sacarose	Lactose	Glicose	Identificação
3	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
7	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>

Amostra	Tube Germinativo	Urease	Maltose	Sacarose	Lactose	Glicose	Identificação
12	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
13	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
14	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	<i>Candida sp. ou Geotrichum sp.</i>
15	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
16	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
17	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
19	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
20	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
21	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
22	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
23	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
24	Negativo	Negativo	-	-	-	-	<i>Candida sp.</i>
25	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Inconclusivo
26	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
27	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	<i>Candida sp. ou Geotrichum sp.</i>
29	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
30	Positivo	-	-	-	-	-	<i>Candida albicans</i>
31	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
32	Negativo	Negativo	-	-	-	-	<i>Candida sp.</i>
33	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
35	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Inconclusivo
37	Positivo	-	-	-	-	-	<i>Candida albicans</i>
38	Negativo	Negativo	-	-	-	-	<i>Candida sp.</i>
39	Positivo	-	-	-	-	-	<i>Candida albicans</i>
40	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
42	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	<i>Candida sp. ou Geotrichum sp.</i>
43	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
44	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
46	Negativo	Negativo	-	-	-	-	<i>Candida sp.</i>
47	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	<i>Candida kefyr</i>
48	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Inconclusivo

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2022

### 5.3 RESUMO DOS RESULTADOS

A Tabela 17 apresenta um resumo de todos os resultados encontrados para as amostras de *Cannabis* apreendidas pela PCMG.

Tabela 17 – Resumo dos resultados encontrados

Amostra	Bactéria	Contagem bactérias (UFC/g)	Levedura	Contagem levedura (UFC/g)	Fungo Filamentoso	Adequada ao Uso Humano?
1	Bacilo Gram-negativo	6,70E+05	-	-	-	Não
2	<i>Enterococcus</i> sp.	8,55E+05	-	-	-	Não
3	<i>Staphylococcus</i> sp.	1,00E+07	<i>Candida kefyr</i>	1,00E+03	-	Não
4	<i>Enterococcus</i> sp.	5,01E+06	-	-	-	Não
5	<i>Enterococcus</i> sp.	1,00E+03	-	-	-	Não
6	<i>Staphylococcus</i> sp.	3,45E+03	-	-	-	Não
7	<i>Staphylococcus</i> sp.	5,00E+03	<i>Candida kefyr</i>	3,75E+04	-	Não
8	<i>Staphylococcus</i> sp.	3,50E+03	-	-	-	Não
9	<i>Staphylococcus</i> sp.	6,23E+06	-	-	-	Não
10	Não identificado	<10 <sup>2</sup>	Não identificado	<10 <sup>2</sup>	-	Sim
11	Bacilo Gram-positivo	1,00E+07	-	-	-	Não
12	Bacilo Gram-positivo	1,50E+04	<i>Candida kefyr</i>	1,02E+04	<i>Aspergillus</i> e <i>Penicillium</i>	Não
13	<i>Bacillus</i> sp.	1,00E+07	<i>Candida kefyr</i>	1,00E+02	-	Não
14	<i>Kurthia</i> sp.	1,00E+07	<i>Candida</i> sp. ou <i>Geotrichum</i> sp.	1,00E+02	<i>Penicillium</i>	Não
15	Bacilo Gram-positivo	9,45E+03	<i>Candida kefyr</i>	3,50E+03	-	Não
16	<i>Staphylococcus</i> sp.	5,45E+03	<i>Candida kefyr</i>	3,85E+04	-	Não
17	Bacilo Gram-positivo e bacilo Gram-negativo	3,50E+02	<i>Candida kefyr</i>	1,00E+02	-	Não
18	<i>Enterococcus</i> sp.	7,00E+03	-	-	-	Não
19	<i>Enterococcus</i> sp.	1,00E+07	<i>Candida kefyr</i>	5,80E+04	-	Não
20	<i>Staphylococcus</i> sp.	2,62E+06	<i>Candida kefyr</i>	5,41E+04	-	Não
21	<i>Staphylococcus</i> sp.	1,00E+07	<i>Candida kefyr</i>	6,00E+04	<i>Penicillium</i>	Não
22	<i>Staphylococcus</i> sp.	2,25E+04	<i>Candida kefyr</i>	5,15E+03	-	Não
23	<i>Staphylococcus</i> sp.	1,00E+07	<i>Candida kefyr</i>	1,00E+03	-	Não
24	Bacilo Gram-positivo	3,18E+07	<i>Candida</i> sp.	1,00E+03	-	Não
25	Bacilo Gram-positivo	2,85E+03	Inconclusivo	1,55E+04	-	Não
26	Bacilo Gram-positivo	1,00E+07	<i>Candida kefyr</i>	6,05E+03	-	Não
27	<i>Staphylococcus</i> sp.	1,00E+07	<i>Candida</i> sp. ou <i>Geotrichum</i> sp.	3,80E+03	-	Não
28	Bacilo Gram-positivo	1,00E+07	-	-	-	Não
29	<i>Enterococcus</i> sp.	1,00E+07	<i>Candida kefyr</i>	1,00E+03	<i>Aspergillus</i>	Não
30	Bacilo Gram-negativo	1,00E+07	<i>Candida albicans</i>	1,03E+04	-	Não
31	<i>Bacillus</i> sp.	2,00E+03	<i>Candida kefyr</i>	1,00E+02	-	Não
32	<i>Staphylococcus</i> sp.	1,05E+04	<i>Candida</i> sp.	3,25E+03	-	Não
33	<i>Enterococcus</i> sp. e Bacilo Gram-positivo	3,00E+02	<i>Candida kefyr</i>	8,45E+03	-	Não
34	Bacilo Gram-positivo	1,40E+04	-	-	-	Não
35	<i>Enterococcus</i> sp.	9,85E+02	Inconclusivo	8,80E+04	<i>Aspergillus</i>	Não
36	<i>Enterococcus</i> sp.	5,01E+05	-	-	-	Não
37	Bacilo Gram-positivo	1,45E+04	<i>Candida albicans</i>	1,77E+04	<i>Penicillium</i>	Não
38	<i>Staphylococcus</i> sp.	1,25E+06	<i>Candida</i> sp.	8,95E+04	-	Não

Amostra	Bactéria	Contagem bactérias (UFC/g)	Levedura	Contagem levedura (UFC/g)	Fungo Filamentoso	Adequada ao Uso Humano?
39	<i>Enterococcus</i> sp.	2,66E+05	<i>Candida albicans</i>	2,50E+03	<i>Penicillium</i>	Não
40	<i>Enterococcus</i> sp.	4,00E+04	<i>Candida kefyr</i>	1,00E+02	-	Não
41	<i>Staphylococcus</i> sp.	4,15E+03	-	-	-	Não
42	<i>Staphylococcus</i> sp.	5,50E+05	<i>Candida</i> sp. ou <i>Geotrichum</i> sp.	1,22E+05	-	Não
43	Bacilo Gram-positivo	2,62E+05	<i>Candida kefyr</i>	6,50E+03	-	Não
44	Bacilo Gram-positivo	3,65E+05	<i>Candida kefyr</i>	1,65E+03	-	Não
45	<i>Staphylococcus</i> sp.	4,65E+03	-	-	<i>Aspergillus</i> e <i>Penicillium</i>	Não
46	<i>Staphylococcus</i> sp.	7,10E+04	<i>Candida</i> sp.	7,40E+03	<i>Penicillium</i>	Não
47	Bacilo Gram-positivo	5,50E+05	<i>Candida kefyr</i>	4,50E+03	-	Não
48	<i>Staphylococcus</i> sp.	6,00E+02	Inconclusivo	2,38E+04	<i>Aspergillus</i>	Não
49	Bacilo Gram-positivo	1,08E+06	-	-	-	Não

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2022

Como esperado, devido aos resultados dos estudos encontrados na literatura e à forma de produção da maconha prensada sem observância às devidas boas práticas, e com base na contagem de microrganismos procedida no presente estudo e os gêneros encontrados, foi possível perceber que a maioria das amostras estava desconforme para uso humano, sendo que das 49 amostras, somente uma (2%), a amostra nº 10, se apresentou microbiologicamente adequada, pois não houve crescimento de bactérias ou fungos nas placas de contagem para esta amostra. Logo, é evidente o risco que a *Cannabis* comercializada ilegalmente representa aos seus usuários.

Alguns dos microrganismos encontrados neste estudo são compatíveis com os resultados encontrados por outros pesquisadores ao redor do mundo (Hazekamp (2006), Ruchlemer et al. (2015), Chaves et al. (2016), Moreno et al. (2019), Carmo (2019)), como os fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, as leveduras do gênero *Candida* e as bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Staphylococcus*. A *E. coli* encontrada em muitos estudos não foi identificada no presente trabalho. No entanto, a hipótese de sua presença não pode ser descartada, uma vez que algumas amostras apresentaram bacilos Gram-negativos.

Na quantidade em que foram encontrados, vários dos microrganismos podem causar problemas aos usuários, causando os sintomas característicos de cada um deles por sua ingestão ou inalação, como náuseas, vômitos, diarreias, infecções e outros citados na seção 3.7. Os fungos filamentosos encontrados, por exemplo, estão

associados a doenças respiratórias, colonizando o pulmão, podendo causar diversas complicações.

Dado o alto custo das medicações importadas e o burocrático/dispêndioso processo para conseguir liberação para plantar a *Cannabis* em casa para fins medicinais, não é difícil de se imaginar que existam famílias brasileiras que recorram ao produto ilícito para tratamento de sintomas/doenças. Tal prática seria arriscada, como demonstram os resultados deste estudo, especialmente para fins medicinais em pacientes imunossuprimidos, já que algumas das doenças associadas ao uso de medicamentos à base de *Cannabis*, como câncer e HIV, causam imunossupressão.

A fim de reduzir o risco microbiológico, procedimentos para redução da carga microbiana poderiam ser adotados, como lavagem com hipoclorito de sódio, tal como feito para ingestão de saladas. No entanto, estudos seriam necessários para se verificar se tal procedimento seria suficiente, e em quais condições de concentração e duração. No caso de produções industriais, métodos como os apontados por Ruchlemer et al. (2015) - esterilização por plasma de peróxido de hidrogênio, por óxido de etileno ou por autoclave – poderiam ser adotados.

## CONCLUSÕES

A carga de microrganismos presentes nas drogas apreendidas, assim como os tipos encontrados (bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus* e *Kurthia*, além de bacilos Gram-positivos e Gram-negativos não identificados; leveduras dos gêneros *Candida* e *Geotrichum*; e os fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*), podem causar diversos sintomas, como náuseas, vômitos, diarreias, infecções, dores abdominais, entre outros, sendo o risco ainda maior para os usuários com sistema imune comprometido.

Devido à não observância às boas práticas de fabricação da maconha ilícita que chega ao estado de Minas Gerais, o produto chega ao usuário com altas cargas microbiológicas. Neste sentido, a regulamentação do plantio da *Cannabis* em terras nacionais para fins medicinais, atualmente em discussão no Congresso Nacional, pode se apresentar como uma alternativa para o controle de qualidade do produto, possivelmente diminuindo-se os riscos aos usuários que dependem de medicamentos produzidos à base da planta, assim como à saúde pública no geral.

## REFERÊNCIAS

- ABEL, E. L. **Marijuana: the first 12,000 years**. New York: Plenum Press; 1980. Disponível em: <https://cannabis-truth.yolasite.com/resources/Abel.%20marihuana%20the%20first%20twelve%20thousand%20years.pdf>. Acesso em 19 mai. 2022.
- ABI-JAOUDE, E. et al. **Preliminary evidence on cannabis effectiveness and tolerability for adults with tourette syndrome**. Clinical and Research Reports. 2017. Disponível em: <https://neuro.psychiatryonline.org/doi/epdf/10.1176/appi.neuropsych.16110310>. Acesso em 05 jul. 2022.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Deteção e identificação de bactérias de importância médica**. Mód. V. Brasília: ANVISA, 2004. Disponível em: [https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod\\_5\\_2004.pdf](https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_5_2004.pdf). Acesso em 09 abr. 2022.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Deteção e identificação dos fungos de importância médica**. Mód. VII. Brasília: ANVISA, 2004. Disponível em: [https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod\\_7\\_2004.pdf](https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004.pdf). Acesso em 14 abr. 2022.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Farmacopeia brasileira**. 6. ed. Brasília: ANVISA, 2019. 1 v. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>. Acesso em: 22 abr. 2022.
- ALVES, P. F. S.; MORAES, F. C. Uso da cannabis no tratamento da fibromialgia. Revista Científica Eletrônica de Ciências Aplicadas da FAIT, nº 2. 2020. Disponível em: [http://fait.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/SjdBMHOxDSuOA3x\\_2020-9-1-19-54-43.pdf](http://fait.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/SjdBMHOxDSuOA3x_2020-9-1-19-54-43.pdf). Acesso em 05 jul. 2022.
- AMA+ME – Associação Brasileira de Pacientes de Cannabis Medicinal. **Mural: Gênero Cannabis**. Disponível em: <https://amame.org.br/genero-cannabis/>. Acesso em: 20 mai. 2022.
- BAENA, R. D.; RETTORE, J. V. P. **Uso medicinal da cannabis em dores crônicas**. Tópicos Especiais em Ciências da Saúde: Teoria, Métodos e Práticas 4. Capítulo 5. Disponível em: <https://ayaeditora.com.br/wp-content/uploads/Livros/L133C5.pdf>. Acesso em 05 jul. 2022.
- BARBOSA, M. G. A. et al. **O uso do composto de Canabidiol no tratamento da doença de Alzheimer (revisão da literatura)**. Research, Society and Development. V. 9, nº 8, 2020. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/6073>. Acesso em 05 jul. 2022.
- BIOMEDICINA EM AÇÃO. **Coloração de Gram**: microbiologia #dia1. 2015. Disponível em: <http://www.biomedicinaemacao.com.br/2015/08/coloracao-de-gram-microbiologia-dia1.html>. Acesso em 08 jun. 2022.

BERTOLETE, J. M. **Aspectos históricos e sociais do uso de maconha no Brasil e no mundo**. [2020 ou 2021]. Disponível em: <https://statics-submarino.b2w.io/sherlock/books/firstChapter/2020386676.pdf>. Acesso em: 18 mai. 2022.

BRASIL. **Lei nº 11.343, de 23 de agosto de 2006**. Institui o Sistema Nacional de Políticas Públicas sobre Drogas - Sisnad; prescreve medidas para prevenção do uso indevido, atenção e reinserção social de usuários e dependentes de drogas; estabelece normas para repressão à produção não autorizada e ao tráfico ilícito de drogas; define crimes e dá outras providências. 2006. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2004-2006/2006/lei/l11343.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/l11343.htm). Acesso em: 30 set. 2020.

CARLINI, E. A. **A história da maconha no Brasil**. IN: Jornal Brasileiro de Psiquiatria. Rio de Janeiro, 2006, vol. 55, p. 314-317. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpsiq/a/xGmGR6mBsCFjVMxtHjdsZpC/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 19 mai. 2022.

CARMO, J. S. **Avaliação da qualidade microbiológica das flores e dos extratos medicinais de cannabis sativa**. Trabalho de Conclusão de Curso (Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 46 p. 2019.

CHAVES, S. B. et al. **Evaluación de contaminantes microbianos en muestras de cannabis incautadas en Costa Rica**. Revista Española de Drogodependencias, Valencia, Espanha. v. 41, p. 56-66, 2016.

CINCO, R. **A legalização é uma ação de paz**. Jusbrasil, 2014. Disponível em: <https://laimsmorais.jusbrasil.com.br/artigos/112353313/a-legalizacao-e-uma-acao-de-paz>. Acesso em 15 jun. 2022.

CORREIA-DA-SILVA, G. et al. **Canabis e canabinoides para fins medicinais**. Revista Portuguesa de Farmacoterapia, 2019. Disponível em: <http://revista.farmacoterapia.pt/index.php/rpf/article/view/211>. Acesso em 05 jul. 2022.

COUTINHO, D. **Anatomia da Cannabis: conheça os sexos e as principais partes da planta**. Smoke Buddies, 2020. Disponível em: <https://www.smokebuddies.com.br/anatomia-da-cannabis-conheca-os-sexos-e-as-principais-partes-da-planta/>. Acesso em 15 jun. 2022.

DA SILVA, N. R. **Comparação dos efeitos farmacológicos do canabidiol e seu análogo sintético hu-474**. Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. 2016. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17133/tde-20072016-163333/publico/NicoleRodriguesdaSilvaOrig.pdf>. Acesso em 10 jul. 2022.

DE ARAUJO, C. R. et al. **Identificação das leveduras do gênero *Candida* por métodos manuais convencionais e pelo método cromógeno chromagar™ *Candida***. Goiânia: Revista de Patologia Tropical da Universidade Federal de Goiás (UFG), 2005. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/bitstream/ri/157/1/IDENTIFICACAO%20DAS%20LEVEDURAS%20DO%20GENERO.pdf>. Acesso em: 09 jun. 2022.

DIÁRIO TEMPO REAL. **Governo divulga balanço sobre apreensão de drogas e combate ao tráfico no País**. 2020. Disponível em: <https://diariotemporeal.com/35119-governo-divulga-balanco-sobre-apreensao-de-drogas-e-combate-ao-trafico-no-pais/>. Acesso em 30 set. 2020.

DINIZ, C. G. **Roteiro de aulas práticas**. Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), 2018. Disponível em: <https://www.ufjf.br/microbiologia/files/2013/05/ROTEIRO-PARA-AULAS-PR%c3%81TICAS-bacteriologia-2019.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2022.

DOS SANTOS, R. G.; HALLAK, J. E. C.; CRIPPA, J. A. S. **O uso do canabidiol (CBD) no tratamento da doença de Parkinson e suas comorbidades**. Revista de Medicina. 2019. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/revistadc/article/view/150613/152697>. Acesso em 05 jul. 2022.

DUCATTI, S. A. R. **Enterococcus Faecalis**: atuação da bactéria em infecções. Simpatio. Disponível em: <https://simpatio.com.br/enterococcus-faecalis/>. Acesso em 14 jun. 2022.

FOOD and Drug Administration – FDA. **Fda role in regulation of cannabis products**. New Jersey Association of County and City Health Officials (NJACCHO) Meeting, 2021. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/152407/download>. Acesso em 05 jul. 2022.

FUNDAÇÃO Oswaldo Cruz – FIOCRUZ. **Uso medicinal da Cannabis sativa é o tema do Sala de Convidados**. Portal Fiocruz. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/uso-medicinal-da-cannabis-sativa-e-o-tema-do-sala-de-convidados>. Acesso em: 30 set. 2020.

GASPARINI, N. R. **Estudo da fermentação alcoólica por leveduras mutantes deficientes respiratórias de *Saccharomyces cerevisiae* iz-270 e *Saccharomyces uvarum* iz-1904**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura da Universidade de São Paulo (USP), 1986. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11138/tde-20220208-023609/publico/GaspariniNormaRegina.pdf>. Acesso em: 09 jun. 2022.

GONÇALVES, G. A. M.; SCHLICHTING, C. L. R. **Efeitos benéficos e maléficos da Cannabis sativa**. Revista Uningá, v. 20, nº 2, 2014. Disponível em: <https://revista.uninga.br/uningareviews/article/view/1560/1171>. Acesso em 10 jul. 2022.

GONZÁLEZ, E. R.; SALAS, L. C.; PHILLIPS, G. C. **Listeria monocytogenes en queso amarillo madurado tipo Edam y su resistencia al pH y salinidad**. Nova, v. 7, n. 11, 2009. Disponível em: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/131/261>. Acesso em 10 jul. 2022.

GRATISPNG. **Posiew estrias placas de petri de microbiologia**. Disponível em: <https://www.gratispng.com/png-6434rt/>. Acesso em: 08 jun. 2022.

HAZEKAMP, A. **An evaluation of the quality of medicinal grade cannabis in the Netherlands**. Cannabinoids, v. 1, n. 1, p. 1-9. 2006.

INSTITUTO Brasil Cannabis. **Maconha ou cannabis, medicinal ou por lazer: tudo sobre a planta e seus usos**. 07 nov. 2018. Disponível em: <https://institutobrasilcannabis.org/canadians-fined-illegal-possession-of-marijuana/>. Acesso em: 01 jun. 2022.

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL - INPI. **pePI – Pesquisa em propriedade industrial**. Disponível em: <https://busca.inpi.gov.br/pePI/jsp/patentes/PatenteSearchBasico.jsp>. Acesso em: 16 mai. 2022.

IODICE, G. **Conheça o promissor mercado da cannabis medicinal no Brasil**. Forbes Money, 2021. Disponível em: <https://forbes.com.br/forbes-money/2021/01/conheca-o-promissor-mercado-da-cannabis-medicinal-no-brasil/>. Acesso em: 15 jun. 2022.

JORNAL Nacional. **STJ autoriza que três brasileiros cultivem maconha para fins medicinais**. G1, 2022. Disponível em: <https://g1.globo.com/jornal-nacional/noticia/2022/06/14/stj-autoriza-que-tres-brasileiros-cultivem-maconha-para-fins-medicinais.ghtml>. Acesso em: 15 jun. 2022.

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico microbiológico – Texto e atlas colorido**. 5ª ed. São Paulo: MEDSI Editora Médica e Científica Ltda, 2001.

LEVINSON, W. e JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. 7ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LIMA, W. R. **Presença de fungos toxigênicos e micotoxinas em plantas medicinais e chás de ervas consumidos pela sociedade brasileira**. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/BUOS-99UJVT>. Acesso em: 10 jul. 2022.

MACMILLAN, K.; KEDDY, A.; FURLONG, J. **Cannabis and glaucoma: A literature review**. DMJ, 2019. Disponível em: <https://dalspace.library.dal.ca/bitstream/handle/10222/78955/9830-17586-1-SM.pdf?sequence=1>. Acesso em 05 jul. 2022.

MAPA DA MACONHA. **Maconha ou cannabis, medicinal ou por lazer: Tudo sobre a planta e seus usos.** 2019. Disponível em: <https://blog.mapadamaconha.com.br/maconha-cannabis-medicinal-lazer-tudo-sobre-planta-usos/>. Acesso em 04 abr. 2022.

MATOS, R. L. A. **O Uso do Canabidiol no Tratamento da Epilepsia.** Revista Virtual de Química. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v9n2a24.pdf>. Acesso em: 05 jul. 2022.

MAXX, M. **Como nasce o “prensado”.** Agência Pública, 2017. Disponível em: <https://apublica.org/2017/08/como-nasce-o-prensado/>. Acesso em: 14 jun. 2022.

MICROBIOLOGIA veterinária. **Gêneros streptococcus e staphylococcus.** Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), 2014. Disponível em: [https://medvetufmt.webnode.com/\\_files/200000047-177d118782/aula%20estafilo%20estrepto%20-%202014-2.pdf](https://medvetufmt.webnode.com/_files/200000047-177d118782/aula%20estafilo%20estrepto%20-%202014-2.pdf). Acesso em: 01 jun. 2022.

MINELLA, F. C. O.; LINARTEVICH, V. F. **Efeitos do canabidiol nos sinais e comorbidades do transtorno do espectro autista.** Research, Society and Development, v. 10, n. 10. 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/18607/16592>. Acesso em 05 jul. 2022.

MINISTÉRIO da Saúde. **Resolução da diretoria colegiada - rdc nº 17, de 06 de maio de 2015.** ANVISA, 2015. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2015/rdc0017\\_06\\_05\\_2015.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2015/rdc0017_06_05_2015.pdf). Acesso em 15 jun. 2022.

MORENO, M. P. et al. **Cannabis resin in the region of Madrid: Adulteration and contamination.** Forensic Science International. v. 298, p. 34-38, 2019.

NASCIMENTO, L. **Comissão da câmara aprova projeto que autoriza plantio de cannabis.** Agência Brasil, 2021. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/politica/noticia/2021-06/comissao-da-camara-aprova-projeto-que-autoriza-plantio-de-cannabis>. Acesso em: 15 jun. 2022.

NEOPROSPECTA microbiome technologies. **5 informações importantes sobre listeria sp. que você precisa saber.** Plataforma Neobiome, 2018. Disponível em: <https://blog.neopropecta.com/5-informacoes-importantes-sobre-listeria-sp-que-voce-precisa-saber/>. Acesso em: 14 jun. 2022.

NICOCELI, A. **Exclusivo: Mercado de cannabis pode movimentar R\$ 26,1 bilhões no Brasil até 2025 com regulamentação.** Forbes Money, 2021. Disponível em: <https://forbes.com.br/forbes-money/2021/06/exclusivo-mercado-de-cannabis-pode-movimentar-r-261-bilhoes-no-brasil-ate-2025-com-regulamentacao/>. Acesso em 15 jun. 2022.

OLIVEIRA, E. **A origem da proibição da maconha**. Redação Pragmatismo, 2013. Disponível em: <https://www.pragmatismopolitico.com.br/2013/10/origem-proibicao-maconha.html>. Acesso em: 15 jun. 2022.

OLIVEIRA, J. W. A.; DE PAULA, C. C. **Bactérias gram-negativas multirresistentes**: Revisão sobre os desafios e demais discussões. Caderno de Publicações Univag, n. 11. 2021. Disponível em: E:/Downloads/1651-5096-1-PB.pdf. Acesso em 14 jun. 2022.

PAES, S. A. **Diversidade genética de isolados de geotrichum spp. associados a podridões pós-colheita em frutas e hortaliças no Brasil**. Viçosa: Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa, 2016. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/8461/5/texto%20completo.pdf>. Acesso em 14 jun. 2022.

PELCZAR JR, M. et al. **Microbiologia**: Conceitos e aplicações. V. 1, 2ª ed. São Paulo: Editora Pearson Education do Brasil, 1996.

PEREIRA, A. et al. **Uso de canabinoides no tratamento de adenocarcinoma pancreático**. Brazilian Journal of Natural Sciences, 2020. Disponível em: <https://bjns.com.br/index.php/BJNS/article/view/115/107>. Acesso em 05 jul. 2022.

QUÍMICA Nova Interativa. **Canabidiol, C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>**. Publicações SBQ. Disponível em: <http://qnint.s bq.org.br/novo/index.php?hash=molecula.509#:~:text=O%20canabidiol%20%C3%A9%20um%20composto,cadeia%20alqu%C3%ADlica%20de%20cinco%20carbonos..> Acesso em 04 jul. 2022.

ROCHA, W. R. V. et al. **Gênero candida** - Fatores de virulência, epidemiologia, candidíase e mecanismos de resistência. Research, Society and Development, v. 10, n. 4. 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/14283/12866>. Acesso em: 14 jun. 2022.

ROYAL Queen Seeds. **Anatomia da planta canábis**: da Cabeça aos Pés . [20--?]. Disponível em: <https://www.royalqueenseeds.pt/content/151-a-anatomia-da-planta-de-cannabis>. Acesso em: 15 jun. 2022.

ROYAL Queen Seeds. **Guia completo para a fase de floração da canábis**. [20--?]. Disponível em: <https://www.royalqueenseeds.pt/content/46-a-fase-de-floracao>. Acesso em: 01 jun. 2022.

RUCHLEMER, R. et al. **Inhaled medicinal cannabis and the immunocompromised patient**. Support Care Cancer, v. 23, p. 819–822, 2015.

SAAD, L. **“Fumo de negro”**: a criminalização da maconha no pós-abolição/ Luísa Saad. - Salvador: EDUFBA, 2018. 160 p. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/32169>. Acesso em: 18 mai. 2022.

SANQUETTA, C. R. et al. **Densidade do carbono em cigarros consumidos no Brasil**. Enciclopédia Biosfera, 2015. Disponível em: [conhecer.org.br/enciclop/2015c/agrarias/densidade%20de%20carbono.pdf](https://conhecer.org.br/enciclop/2015c/agrarias/densidade%20de%20carbono.pdf). Acesso em: 10 jul. 2022.

SECHAT. **Saiba como obter um Habeas Corpus para cultivar Cannabis medicinal**. 2020. Disponível em: <https://www.sechat.com.br/saiba-como-obter-um-habeas-corpus-para-cultivar-cannabis-medicinal/>. Acesso em 15 jun. 2022.

SECRETARIA de Estado de Saúde do Governo do Estado do Mato Grosso do Sul. **Substâncias da maconha**. 2015. Disponível em: <https://www.saude.ms.gov.br/substancias-da-maconha/>. Acesso em 15 jun. 2022.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 105 p.

STELLA, P. D. **O que são canabinoides?** S. d. Disponível em: <https://drapauladallstella.com.br/o-que-sao-canabinoides>. Acesso em: 15 jun. 2022.

TORQUATO, E. **Assembleia de sergipe pede a deputados e senadores que aprovem pl da cannabis**. Smoke Buddies, 2022. Disponível em: <https://www.smokebuddies.com.br/alese-pede-a-deputados-e-senadores-que-aprovem-pl-da-cannabis/>. Acesso em 15 jun. 2022.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5ª ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 760 p.

UNITED Nations Office on Drugs and Crime – UNODC. **World drug report 2022 – 2 Global overview: drug demand drug supply**. Disponível em: [https://www.unodc.org/res/wdr2022/MS/WDR22\\_Booklet\\_2.pdf](https://www.unodc.org/res/wdr2022/MS/WDR22_Booklet_2.pdf). Acesso em 05 jul. 2022.

VASCONCELOS, M. P. A. et al. **Infecção de corrente sanguínea por *Candida kefyr* em unidade de terapia intensiva** – Relato de caso. Instituto de Infectologia Emílio Ribas, 2022. Disponível em: [http://centroestudosemilioribas.org.br/upload/apoio-cientifico/%7B3B31F9A4-45B2-4031-B023-02410431F421%7D\\_Poster%20CCIH%20CONGRESSO%202014.pdf](http://centroestudosemilioribas.org.br/upload/apoio-cientifico/%7B3B31F9A4-45B2-4031-B023-02410431F421%7D_Poster%20CCIH%20CONGRESSO%202014.pdf). Acesso em 14 jun. 2022.

VECCHIA, A. D; DE CASTILHOS-FORTES, R. **Contaminação fúngica em granola comercial**. Food Science and Technology, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000200020>. Acesso em: 14 jun. 2022.

## ANEXO I – AUTORIZAÇÃO DO PROJETO PELA PCMG

SEI/GOVMG - 35560358 - Ofício

[https://www.sei.mg.gov.br/sei/controlador.php?acao=documento\\_impr...](https://www.sei.mg.gov.br/sei/controlador.php?acao=documento_impr...)

GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS  
 Polícia Civil do Estado de Minas Gerais  
 Superintendência de Polícia Técnico-Científica

Ofício PCMG/SPTC nº. 1213/2021

Belo Horizonte, 21 de setembro de 2021.

Exmª.Sra.

**Dra. Carla Rogeria Lopes Vieira de Vasconcelos**

Diretora do Instituto de Criminalística  
 Av. Augusto de Lima, 1833, Barro Preto  
 CEP: 30190-002 – Belo Horizonte/MG

Assunto: **Projeto de Pesquisa UFTM.**

*Referência:* [Caso responda este Ofício, indicar expressamente o Processo nº 1510.01.0200915/2021-04].

**Termo de Aprovação**

Informo aprovação desta Superintendência de Polícia Técnico-Científica para realizar projeto de pesquisa intitulado "Análise do perfil microbiológico em amostras de *Cannabis sativa* apreendidas". Considerando os termos do parecer exposto no Memorando.PCMG/SPTC/APS.nº 72/2021 (SEI 35525696), deverá seguir as normas e critérios conforme Portaria SPTC/PCMG Nº07/2020 (SEI 13909405). Uma cópia da publicação deverá ser encaminhada à SPTC.

Atenciosamente,

**Thales Bittencourt de Barcelos****Médico Legista - Nível Especial****Superintendente de Polícia Técnico-Científica**

Documento assinado eletronicamente por **Thales Bittencourt de Barcelos, Superintendente de Polícia Técnico-Científica**, em 21/09/2021, às 19:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).