

## **Isolamento e identificação de fungos filamentosos a partir de "Cannabis Sativa L."**

**Darini, M; Soares, M.M.S.R. e Cazenave, S.O.S.**

FCF – Pontifícia Universidade Católica de CAMPINAS.

[silviacazenave@uol.com.br](mailto:silviacazenave@uol.com.br)

### **Resumo**

*Cannabis sativa* L. (Maconha) é considerada uma droga ilícita, sendo utilizada, principalmente entre jovens. Esta é secada e armazenada em condições favoráveis ao crescimento de fungos, microrganismos cosmopolitas que encontram-se espalhados na natureza. Estes fungos, dependendo do gênero, podem causar alergia em pessoas hipersensíveis, como também doenças em indivíduos imunodeprimidos, ou intoxicação pela ingestão de amostras contaminadas. A literatura carece de estudos de fungos filamentosos presentes em *Cannabis sativa* L.. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi isolar e identificar fungos filamentosos em amostras de *Cannabis sativa* L. analisadas no Instituto Médico Legal de Campinas. Dentre os gêneros identificados destacamos: *Aspergillus* sp, *Fusarium* sp, *Penicillium* sp, entre outros. O trabalho busca orientar os profissionais que estão em contato com a planta durante sua apreensão e identificação, assim como aos usuários de *Cannabis sativa* L., pois ambos os tipos de exposição pode haver manifestação de sintomas que vão desde alergia até intoxicação devido aos esporos e hifas dos fungos.

**Palavras-chaves:** FUNGOS / MACONHA / CONTAMINAÇÃO

---

## Abstract

Isolation and identification of filamentous fungi from "Cannabis sativa L."

The aim of the present study was to isolate and identify filamentous fungi from 20 samples of the Cannabis sativa L., evident contaminated, apprehended in the "Instituto Médico Legal de Campinas", through the identification of classical technique from microbiology. The method used for isolation that filamentous fungi is the preconize by World Health Organization, "Quality Control Method for Medicinal Plant Materials/1992. Identification was to carry out by macroscopic and microscopic analysis of the colonies. The results obtained indicated the presence in the gender: *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Scopulariopsis spp.*, *Acremonium spp.*, e *Chyso sporium spp.*

**Keyword:** FUNGI, MARIJUANA, CONTAMINATION

## Introdução

Maconha é o nome popular da planta *Cannabis sativa* L., conhecida há séculos e que pode ser cultivada em várias partes do planeta. (12).

Estudos estatísticos refletem que o consumo de drogas nas últimas décadas, tem aumentado em todo o mundo, inclusive no Brasil. O programa da Organização das Nações Unidas (ONU) estima que entre 3,3 a 4,1% da população mundial estejam envolvidas no consumo de drogas ilícitas. Segundo relatório da ONU, cerca 10% da produção mundial de drogas tem passagem pelo Brasil. (2)

A maconha continua sendo cada vez mais consumida, em particular nas faixas etárias jovens, sendo também, uma das drogas ilícitas mais apreendidas no Brasil. Seu uso tem sido identificado em todas as camadas sociais. (2)

Em pesquisa realizada entre estudantes do curso básico e fundamental das dez maiores cidades do Brasil, em 1997, 7,6% declararam que já haviam experimentado a maconha e 1,7% declararam fazer uso de pelo menos 6 vezes por mês. (11, 2)

Dados apresentados pelo Programa Nacional – DST/AIDS do Ministério da Saúde através do Projeto Brasil – 1996, mostram a maconha como a segunda opção de droga mais utilizada pelo grupo estudado. Trabalho realizado pelo IBOPE e pela Associação Parceria Contra Drogas – 1996, indicam que 2% das crianças de 9 a 12 anos já experimentaram maconha. Entrevista feita entre estudantes do curso básico e fundamental na cidade de Campinas indicam que 20,4% já usaram ou usam maconha. (2)

Em estudo epidemiológico realizado nos Estados Unidos da América, divulgado pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), foi demonstrado que os americanos usam esta droga na adolescência e início da vida adulta. (13)

Entre diversos tipos de contaminantes em plantas, por exemplo, praguicidas, fezes de animais e outros produtos químicos, podemos destacar também os fungos. (2)

Os produtos e contaminantes da Cannabis sativa L. podem entrar em contato com o organismo humano por via pulmonar e/ou via oral. (10,12)

Os fungos são microrganismos cosmopolitas e o clima Tropical favorece o crescimento de várias espécies, principalmente nas plantas. (1)

A partir do seu hábitat natural, os fungos espalham-se na natureza, utilizando várias vias de dispersão, como ar atmosférico, água, insetos, homem e animais. Os fungos que habitam o solo ou vegetais são dispersos principalmente pelo ar atmosférico, embora possam utilizar outras vias, sendo denominados fungos contaminantes. (10)

Estes microrganismos apresentam uma variabilidade enzimática muito grande por isso conseguem habitar os mais variados substratos. (10)

Dentre os fungos mais freqüentes no ar podemos destacar, Aspergillus sp, Fusarium sp, Penicillium sp, Cephalosporium sp e Cladosporium sp. (9)

Em algumas ocasiões esses microrganismos podem estar envolvidos em infecções humanas e animais, na maioria das vezes oportunistas. (10)

Com o aumento do número de indivíduos imunossuprimidos (AIDS, transplantados, terapias imunossupressoras, etc.), infecções por fungos oportunistas estão aumentando tanto em número de casos, como também por diferentes cepas destes microrganismos. (10)

O Aspergillus pode causar diferentes tipos de doenças: intoxicação por ingestão de alimentos contaminados; processos pulmonares alérgicos, como rinite e asma brônquica, por inalação de conídios; colonização de cavidades preexistentes, geralmente pulmonares; aspergilose invasiva e sistêmica. (10)

As intoxicações são devidas a produção de substâncias nocivas/tóxicas, pelos fungos denominadas micotoxinas. (3). Estas substâncias são metabólitos secundários do metabolismo normal para o crescimento do fungo. Elas têm quatro tipos básicos de

toxicidade: agudo, crônico, teratogênico e mutagênico. Isto porque, as micotoxinas podem interagir na síntese de proteínas e replicação do DNA, por exemplo.(7).

A produção de micotoxinas por espécies de *Penicillium* e *Aspergillus*, por exemplo, constituem um sério problema que põe em risco a saúde humana e animal, pois podem alterar as funções renais, hepáticas e também existem algumas que podem ser neurotóxicas. (7)

Como os esporos de fungos estão no ar, é inevitável, que eles se depositem na superfície de qualquer produto que fique exposto ao ar. Contudo o principal problema é que a *Cannabis sativa* L. sendo considerada uma droga ilícita seca é armazenada em condições inadequadas, as quais, são ideais ao desenvolvimento dos fungos. Deste modo, podem ocasionar alergia ocupacional, em policiais e toxicologistas hipersensíveis; alergia e intoxicação pelas pessoas que a utilizam, por estarem em contato direto devido à dispersão e inalação, como também, por ingestão dos esporos ou hifas na hora da manipulação e uso.

A literatura carece de estudos de fungos filamentosos presentes em *Cannabis sativa* L.. Deste modo, os objetivos do trabalho são:

Isolar os fungos contaminantes das amostras de *Cannabis sativa* apreendidas e analisadas no Laboratório de Toxicologia Forense do Instituto Medico Legal de Campinas;

Identificar os gêneros e possíveis espécies destes fungos contaminantes.

## Material e Métodos

### 2.1- Amostragem

Utilizou-se amostras de Cannabis sativa L.. analisadas no Instituto Medico Legal de Campinas (IML), as quais permitam visualizar macroscopicamente a presença de fungos.

### 2.2 – Meio de cultura

Âgar Saboraud Dextrose (ASD) \*

Este meio foi preparado segundo as instruções do fabricante e autoclavado a 121°C por 15 minutos. O meio será armazenado em balão de 100 ml sendo fundido no momento do uso.

Para estudos das colônias fúngicas, volume de 20 mL do meio foram vertidos em placas de Petri (15 x 100mm).

Para manutenção dos fungos, volumes de 5 mL foram distribuídos em tubos de ensaio (10 x 145 mm), esterilizados e solidificados em posição inclinada.

\* OXOID LTD., Basingstoke, Hampshire, England

CM 41, LOTE: B.241871

### 2.3 – Extração dos fungos

A extração dos fungos foi realizada no IML.

O método que foi utilizado é o preconizado pela Organização Mundial de Saúde (Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials. 1992). (8)

Todo o material utilizado na extração estava previamente esterilizado.

Cinco gramas da amostra foram colocada em um graal de porcelana e diluída em 50ml de água destilada. Em seguida, a solução foi filtrada com gaze em funil de vidro, para um tubo de ensaio com rosca.

Este filtrado foi homogeneizado e 1ml colocado em uma placa de Petri de 9 – 10 cm de diâmetro, em seguida acrescentou-se aproximadamente 15 ml de ASD fundido em cerca de 45°C.

Após isso, foi homogeneizado e incubado a 20 – 25°C por 5 dias.

#### 2.4 – Isolamento e identificação

A identificação dos fungos foi realizada no Laboratório de Microbiologia e Imunologia da PUC – CAMPINAS.

Observou-se o crescimento das colônias, estas foram isoladas em Ágar Saboraud Dextrose (ASD) em placas e posteriormente identificadas por técnicas clássicas em laboratórios de Microbiologia, analisando-se as características macro e microscópicas das colônias dos fungos. (5 e 6)

## Resultados

As 20 amostras analisadas apresentaram contaminação pelos gêneros dos seguintes fungos filamentosos, identificados: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *scopulariopsis*, *Cladosporium*, *chysosporium* e *Acremonium* sp.

Dentro do gênero *Aspergillus* spp. Foram encontradas espécies diferentes que serão identificadas em outro trabalho.

## AMOSTRAS (LOTES)

## FUNGOS ISOLADOS

1620/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., Acremonium spp.</i>
1730/01	<i>Aspergillus spp., Penicillium spp., Scopulariopsis spp.</i>
1791/01	<i>Aspergillus spp., Penicillium spp., Scopulariopsis spp., Chyso sporium spp.</i>
1822/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., Penicillium spp.</i>
1832/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., Penicillium spp., Fusarium spp.</i>
1993/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., cladosporium spp., Fusarium spp.</i>
2125/01	<i>Aspergillus spp., Penicillium spp., Scopulariopsis spp., Acremonium spp.</i>
2179/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., Fusarium spp.</i>
2180/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp.</i>
2189/01	<i>Aspergillus spp., fusarium spp., Scopulariopsis spp.</i>
2239/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., Acremonium spp., Penicillium spp.</i>
2240/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., cladosporium spp.</i>
2276/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., Cladosporium spp., Acremonium spp.</i>
2578/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., Penicillium spp., Fusarium spp., acremonium spp.</i>
2666/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., Penicillium spp., Chyso sporium spp.</i>
2822/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., Fusarium spp.</i>
3002/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., Acremonium spp., ladosporium spp.</i>
3015/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp., Penicillium spp., Cladosporium spp.</i>
3471/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp.</i>
6291/01	<i>Aspergillus spp., Scopulariopsis spp.</i>

**Discussão**

Os resultados apresentados neste trabalho foram referentes as 20 amostras de *Cannabis sativa L.*, as quais apresentaram características macroscópicas de contaminação.

Os dados obtidos servem de alerta para os toxicologistas, demais profissionais e usuários que estão em contínuo contato com amostras de *Cannabis sativa L.*

Como dito anteriormente, a maconha é um meio de fácil contaminação por fungos filamentosos. Muitos destes podendo causar inúmeras patologias ao organismo humano.

## **Conclusão**

Considerando a escolha de um tema inédito, não havendo trabalhos anteriores como referência, faz-se necessária complementação do mesmo, buscando novas evidências da presença de fungos, assim como seus produtos de metabolismo secundário, as micotoxinas.

Os profissionais que estão em contato com a planta durante sua apreensão e identificação, assim como aos usuários de *Cannabis sativa L.*, devem ser orientados sobre estas contaminações, pois em ambos os tipos de exposição pode haver manifestação de sintomas que vão desde alergia até intoxicação devido aos esporos e hifas dos fungos.

---

## Referencias bibliográficas

- 1- ALMEIDA, A.P., CORRÊA, B., MALLOZI, M.A.B., SAWACAKI, E., SOARES, L.M.- Mycoflora and aflatoxin/Fumonisin production by fungal isolates from freshly harvested corn hybrids. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 4, p.321 – 326, Oct., 2000.
- 2- CAZENAVE, S.O.S., **Prevalência do uso de drogas na região de Campinas**. 1999. Tese (Doutorado em toxicologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 3- COMÉRIO, R.M. - Nefrotoxinas y especies nefrotóxicas del género *Penicillium* Link. **Revista Iberoamericana Micología**, v.17, n. 3, p.82 – 89, Sept., 2000.
- 4- JAWETZ, E., MELNICK, J. L., ADERBERG, E. A. – **Microbiología Médica**. 20ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 270. 1998
- 5- LARONE, D.H. – **Medically important fungi: a guide to identification**, 3.ed. Washington, P. C. ASM Press, Harper & Row, 1995.
- 6- LACAZ; C.S.; PORTO; E.; MARTINS; J.E.C. – **Microbiología Médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico**. 8ª ed., São paulo: Sarvier, 1991.
- 7- PITT, J.I., BASILICO, J.C., ABARCA, M.L., LOPES, C. - Mycotoxins and toxigenic fungi. **Revista Medical Mycology**, v. 38, Supplement I, p. 41 – 46, 2000.
- 8- World Health Organization. **Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials**, 1992. p.53 –58.

- 
- 9- SOARES, M. M. S. R., RIBEIRO, M.C., AMARAL, M.E., TEIXEIRA, A.B.A., ANTONELLI, L.R.V., DE CASTRO, L.C.M. **Revista Bioikos** - Micota do ar na cidade de Campinas, Campinas, v.11, n.1 e 2, p. 33 – 39, 1997.
- 10- ZAITZ,C. – Fungos oportunistas. In: ZAITZ, C., CAMPBELL, I., MARQUES, S. A., RUIZ, L. R. B., SOUZA, V. M. **Compêndio de Micologia Médica**, 1.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1998. Cap. X, p. 113 - 116 e 191 – 196.
- 11-[http:// www.Imesc.sp.gov.br/infrodrog.htm](http://www.Imesc.sp.gov.br/infrodrog.htm)
- 12-<http://drugabuse.gov/MarijBroch/Marijteens.html>
- 13-<http://www.cebrid.drogas.nom.br/>