

Estudo do perfil microbiológico da matéria-prima e do produto acabado de *Rhamnus purshiana* e *Baccharis trimera* obtidos de diferentes farmácias de manipulação na cidade de Divinópolis-MG.

Study on the microbiological profile of raw material and of the finished product of *Rhamnus purshiana* and *Baccharis trimera* obtained from different compounding pharmacies from Divinópolis-MG.

Diego Pinto de Oliveira¹, Inayara Cristina Alves Lacerda², Marcelo José Dias Silva³, Geraldo Alves da Silva¹ & Marcelo Aparecido da Silva^{1*}.

¹ Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas (Unifal-MG). Alfenas, MG. Brasil.

² Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Belo Horizonte, MG. Brasil.

³ Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Julio de Mesquita Filho. UNESP. Araraquara, SP. Brasil.

*Autor correspondente: Marcelo Aparecido da Silva

UNIFAL-MG; Faculdade de Ciências Farmacêuticas; Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro, Alfenas, Minas Gerais, Brasil. Tel: 35 3291-1346, CEP: 37130-000, E-mail: marcelo.silva@unifal-mg.edu.br

Resumo

A qualidade microbiológica da matéria-prima empregada e o processo de manipulação de fitoterápicos são fatores primordiais para alcançar eficiência e segurança do produto final. O presente trabalho tem objetivo de verificar a qualidade microbiológica de fitoterápicos manipulados em farmácias da cidade de Divinópolis-MG. Quatro amostras de duas drogas vegetais (Carqueja e Cascara Sagrada, matéria-prima e produto final) foram coletadas em quatro farmácias de manipulação de Divinópolis-MG, devidamente embaladas e rotuladas. Estas amostras foram analisadas segundo critérios da Farmacopeia 5^o ed. (2010). Os resultados das análises de contagem total de micro-organismos mesófilos aeróbios e pesquisa de patógenos revelaram que 50% das amostras estavam fora dos padrões para fungos. Um dos estabelecimentos (farmácia A) apresentou positividade na pesquisa para *Escherichia coli* nas amostras de matéria-prima e produto final de Cascara Sagrada, sendo considerada imprópria para o consumo humano, denotando uma correlação entre contaminação de micro-organismos mesófilos aeróbios e patógenos. A Farmácia D apresentou resultados positivos para *E.coli* para a amostra do produto final utilizando Cascara Sagrada, sugerindo que a contaminação tenha ocorrido no processo de manipulação do produto. Tendo em vista estes resultados torna-se necessário uma maior fiscalização quanto e tomada de medidas que minimizem o risco de contaminação destes produtos.

Palavras-chave: Qualidade microbiológica. Fitoterápicos. *Rhamnus purshiana*. *Baccharis trimera*. Farmácias de manipulação.

Abstract

The microbiological quality of raw material used and the handling process of herbal medicines are the key factors to achieve efficiency and safety of the final product. This present study aims to verify the microbiological quality of herbal medicines in handing pharmacies Divinópolis-MG. Four samples from two herbal drugs (Carqueja and Cascara Sagrada, raw material and final product) were collected in four pharmacies in Divinópolis-MG, properly packaged and labeled. These samples were analyzed according to the Pharmacopoeia 5th ed. (2010). The results of the analyzes of total count of mesophilic aerobic pathogens and research revealed that 50% of samples were below the standards for fungi, pharmacy. About pathogenic analyses, one of the establishments presented positive for the bacteria *Escherichia coli* in samples of raw material and end product of Cascara Sagrada being unfit for human consumption, showing a correlation between contamination of mesophilic aerobic and pathogens. Pharmacy D showed positive results for the sample of *E. coli* in Cascara Sagrada final product, suggesting that microbial contamination has occurred in the process of handling the product. In view of these results becomes greater oversight as necessary and taking measures to minimize the risk of contamination of these products.

Keywords: Microbiologic quality. Herbal medicines. *Rhamnus purshiana*. *Baccharis trimera*. Compounding pharmacies.

INTRODUÇÃO

A farmacoterapia moderna desenvolveu-se a partir do uso empírico de plantas, selecionadas ao longo da evolução humana. O maior avanço sobre o uso de drogas vegetais foi constatado no século XIX, com o progresso científico na área química, que permitiu analisar, identificar e separar os princípios ativos obtido das plantas medicinais. Apesar das diversas abordagens modernas disponíveis para a obtenção de novas entidades químicas com vistas ao desenvolvimento de fármacos, metabólitos secundários de plantas ainda representam uma das principais estratégias para inovação farmacêutica (Craig & Newman, 2013; Tomazzoni *et al.*, 2001).

Atualmente o uso de plantas medicinais e fitoterápicos ocorre principalmente por fatores de ordem sócias, econômicas e culturais, movimentando um elevado montante financeiro no mercado mundial. Acarretando incentivo para pesquisa em desenvolvimento de fitoterápicos com segurança e eficácia (Souza, 2007). Os fitoterápicos ou plantas medicinais podem ser obtidos no mercado farmacêutico como produtos industrializados ou manipulados, atendendo a prescrições médicas ou usos empíricos, disponíveis na forma de pó ou extrato (Verdi *et al.*, 2013; Souza, 2007; Santana, 2005).

Os fitoterápicos englobam-se no grupo dos produtos farmacêuticos não estéreis, sendo passíveis de contaminação devido ao teor de água presente. Por se tratar de um produto de origem vegetal, torna necessária a realização de análises quantitativas de micro-organismos mesófilos aeróbios ou viáveis, bem como de micro-organismos patogênicos. A RDC 87/2008 complementar a RDC 67/2007, preconiza que as matérias primas de origem vegetal devem passar somente pela pesquisa microbiana de contaminação (contagem total de fungos e leveduras). Porém a mesma RDC relata que o controle de qualidade deve executar as análises de descrição, aspecto, caracteres organolépticos, peso médio, pH, peso ou volume antes do envase. Mas não apresenta relatos sobre a pesquisa de patógenos e de contaminação em longo prazo. Já a Farmacopeia Brasileira 5^o ed. (2010), preconiza que sejam realizados além das análises quantitativas de micro-organismos viáveis, a análise para detecção de patógenos.

A Instrução normativa (IN) N^o 4 de 18 de Julho de 2014 da ANVISA, determinada orientações para o registro de medicamentos fitoterápicos, preconizando que a referida classe de produtos farmacêuticos deve respeitar os limites microbianos estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira 5^o edição tanto para microorganismos mesófilos aeróbios quanto para microrganismos patogênicos. O documento aborda atenção especial para micotoxinas, provenientes do metabolismo de fungos sugerindo que seja seguido as determinações da Farmacopéia Européia (limite geral de aflatoxinas B1 < 2 µg/kg e a soma das aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 < 4 µg/kg para drogas vegetais, sendo que limites diferentes podem ser encontrados em monografias específicas de algumas drogas

vegetais), uma vez que a Farmacopeia Brasileira 5^o edição não determina limites para estes metabolitos.

Tendo em vista que os medicamentos manipulados entram mais em contato com os manipuladores, é essencial que toda a equipe da farmácia de manipulação tenha conhecimento das Boas Práticas de Manipulação (BPM). Uma vez que qualquer um pode ser carreador de micro-organismos saprofiticos bem como de micro-organismos patogênicos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli*. Esses micro-organismos fazem parte da microbiota residente ou transitória do ser humano, podendo contaminar a matéria prima vegetal ou o produto final. O risco de contaminação aumenta quando se trabalha com fitoterápicos ou plantas medicinais, pois se tratam de fontes com grande potencial de contaminação (Bonfilio *et al.*, 2013; Marques & Moreira, 2009).

Rhamnus purshiana Candolle (Rhamnaceae) conhecida popularmente como cascara sagrada apresenta em suas cascas compostos ativos pertencentes a classe das antraquinonas e tem alto valor comercial por causa do efeito terapêutico de regulador da motilidade intestinal, também conhecido como efeito catártico direto, (Lôbo, 2012; Schenkel 2004). *Baccharis trimera* Molina (Asteraceae) conhecida popularmente como carqueja, apresenta principalmente compostos da classe de flavonoides e terpenos em suas hastes (parte foliar) e é utilizada para diversas finalidades, porém se destaca o uso em afecções gastrointestinais e como antirreumático (Karan *et al.*, 2013; Santana, 2005).

Baseado nas informações citadas, o presente trabalho visa avaliar a qualidade microbiológica das matérias-primas vegetais e dos respectivos produtos acabados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Matéria prima vegetal utilizada nas análises

O material utilizado no trabalho corresponde a amostras de matérias primas e produtos finais de cascara sagrada e carqueja coletadas no período de setembro a novembro de 2009 em quatro farmácias de manipulação da cidade de Divinópolis-MG totalizando 16 amostras (8 amostras referentes a matéria-prima e 8 amostras referentes a produto acabado, as amostras de matéria-prima e produto acabado foram do mesmo lote em cada farmácia). A seleção das farmácias foi realizada de forma aleatória e das amostras foram escolhidas estas espécies porque havia matéria-prima e produto acabado em todas as farmácias selecionadas para o estudo. Os materiais de interesse foram coletados em frascos próprios e processados antes de decorrer 24 horas após a coleta. As amostras

foram codificadas de acordo com a farmácia de origem e sua apresentação (matéria-prima ou produto final), as farmácias de origem receberam codificações como A, B, C e D e as amostras foram processadas em condições assépticas.

Procedimento para análise quantitativa

O método utilizado para contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, ou seja, todos os micro-organismos presentes naturalmente no ambiente consistiu na semeadura em profundidade em placas ou “Pour Plate” como recomendado pela WHO (1998), Pinto *et al.* (2003) e Farmacopeia Brasileira 5^o ed. (2010). Para a obtenção da amostra para a análise quantitativa foram pesados 10 g das amostras. Transferindo a amostra para um erlenmeyer contendo a solução tampão neutralizante. Homogeneizou vigorosamente obtendo a diluição 10^{-1} . A partir desta diluição procedeu às diluições seriadas em tubos contendo água peptonada obtendo as diluições 10^{-2} e 10^{-3} . Um mL das diluições obtidas das amostras foram transferidos para placas de Petri. Acrescentou 15 mL do meio agar padrão para contagem (PCA) em cada placa. Após esse procedimento, as placas foram incubadas a temperatura de 37°C por 48 horas.

Para a análise de fungos, o procedimento foi o mesmo citado acima, trocando o meio de cultura por agar batata dextrose (BDA) e as placas foram incubadas a temperatura de 28°C por 3-5 dias. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A leitura foi realizada após o período de incubação de cada amostra contando cada colônia visível macroscopicamente, realizando os cálculos de conversão e obtendo o resultado em Unidade Formadora de Colônia por g de amostra (UFC/g de amostra).

Procedimento para análise qualitativa

Foi realizado o pré-enriquecimento pesando 10g de amostra e transferindo para um erlenmeyer contendo caldo lactosado e em seguida foi homogeneizado vigorosamente e incubado em estufa a 37° C por 48 horas. O mesmo procedimento foi repetido para o pré-enriquecimento em caldo caseína de soja.

Após a incubação foi realizado a semeadura nos meios seletivos para cada classe de micro-organismos, o Mac Conkey, Cetrimida, Sal-Manitol e Salmonella/Shigella, as placas foram identificadas e incubadas à 37°C por 24 horas.

Após o período de incubação foi verificado se houve crescimento ou não das colônias. Observado o crescimento das colônias, foi realizada a purificação das colônias nos meios correspondentes a elas e as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas.

Após a purificação foi realizado a técnica de coloração de Gram, verificando as características microscópicas daqueles micro-organismos e os testes presuntivos e definitivos para *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Salmonella* como descritos a seguir.

Para *Staphylococcus aureus*, realizou-se os testes de catalase, coagulase e Dnase, no teste de catalase foi adicionado peróxido de hidrogênio a 3% em um pouco da colônia. O teste de coagulase foi realizado adicionando de uma alçada da colônia no plasma de coelho e após a incubação em estufa bacteriológica por 5 horas foi observado a formação de coágulo e o teste de Dnase baseou-se na semeadura do centro da colônia de interesse no meio sólido de Dnase, após a incubação em estufa bacteriológica por 24 horas foi adicionado uma solução de ácido clorídrico á 1N e observado a formação de um halo límpido ao redor da colônia indicando a quebra do DNA presente.

Para pesquisa de *E.coli* e *Salmonella sp.* realizou-se o teste de cultivo em tubo inclinado de TSI, onde com o auxílio de uma alça de platina em forma pontiaguda, captou-se uma parte da colônia de interesse e realizou a semeadura finalizando com estrias na superfície, este tubo foi incubado em estufa bacteriológica por 24 horas.

Para *Pseudomonas aeruginosa*, realizou-se o cultivo em tubo contendo Agar FN e no tubo de TSI com auxílio de uma alça de platina, os mesmos foram incubados a 37°C por 24 horas. (Pinto *et al.*, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Contagem total de micro-organismos mesófilos aeróbios

As farmácias magistrais representam um importante segmento do mercado farmacêutico brasileiro. A ANVISA, por meio da RDC 87/2008 que complementa a RDC 67/2007, modificou as normas da RDC 33/2000 que institui as Boas Práticas de Fabricação em Farmácia, buscando estabelecer rígidos parâmetros de qualidade em todas as etapas de fabricação de um produto manipulado de forma magistral. Em conformidade com a legislação, as farmácias têm implantado ou terceirizado ensaios físico-químicos e microbiológicos.

A legislação vigente exige que as empresas fornecedoras de matérias-primas realizem análise de contagem total de bactérias e fungos, bem como a detecção da presença ou ausência de patógenos (Brasil, 2008).

Os fitoterápicos e as plantas medicinais se enquadram na classe dos produtos farmacêuticos não estéreis, os quais se admitem determinada carga de micro-organismos mesófilos aeróbios. Os micro-organismos mesófilos aeróbios são encontrados normalmente no ambiente, pois estes se

desenvolvem em condições normais de temperatura e se reproduzem na presença de oxigênio, sendo que a maioria destes é saprofítica (Bonfilio *et al.*,2013; Pelczar *et al.*, 1997).

Na tabela I se observa a contagem total de bactérias em meio PCA e na tabela II a contagem total de Fungos em meio BDA, ambas apresentam os valores em UFC/g das amostras analisadas.

TABELA 1

Contagem total de bactérias mesófilas aeróbias expressas em UFC/g de amostra.

CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS MESÓFILAS AEROBIAS				
Origem	Cascara Sagrada M. P.	Cascara Sagrada P.F.	Carqueja M.P.	Carqueja P.F.
Farmácia A	$1,4 \times 10^4$	$1,9 \times 10^4$	$8,5 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4$
Farmácia B	$1,5 \times 10^3$	2×10^3	$< 5 \times 10^2$	2×10^3
Farmácia C	$< 5 \times 10^2$	5×10^2	1×10^3	$< 5 \times 10^2$
Farmácia D	1×10^3	5×10^2	$< 5 \times 10^2$	$< 5 \times 10^2$

Nota: M.P. = Matéria-prima ; P.F. = Produto final acabado.

TABELA 2

Contagem total de fungos, bolores e leveduras, expressas em UFC/g de amostra.

CONTAGEM TOTAL DE FUNGOS, BOLORES E LEVEDURAS				
Origem	Cascara Sagrada M. P.	Cascara Sagrada P.F.	Carqueja M.P.	Carqueja P.F.
Farmácia A	3×10^5	$2,5 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$	2×10^3
Farmácia B	1×10^3	5×10^2	5×10^2	2×10^3
Farmácia C	1×10^3	$2,5 \times 10^3$	$< 5 \times 10^2$	$< 5 \times 10^2$
Farmácia D	$< 5 \times 10^2$	$< 5 \times 10^2$	$< 5 \times 10^2$	$< 5 \times 10^2$

Nota: M.P. = Matéria-prima ; P.F. = Produto final acabado

Segundo os limites estabelecidos pela Farmacopeia 5^o ed. (2010) para medicamentos não estéreis de uso oral é aceitável a presença de até 10^5 UFC/g ou mL de produto para bactérias heterotróficas e de 10^3 UFC/g ou mL de produto para fungos.

Perante os resultados, a Tabela 1 reflete contaminação aceitável por bactérias heterotróficas em todas as 16 amostras (100%) obtidas dos 4 estabelecimentos. Porém em relação à contaminação fúngica a Tabela 2 mostra que 8 amostras apresentaram contaminação fora dos limites estabelecidos (acima de 10^3 UFC/g de amostra), evidenciando que 50% das amostras estão impróprias para consumo humano.

Santana (2005) em seu estudo verificou contaminação fúngica acima dos limites em duas das amostras de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth.) em pó. Rocha *et al.* (2004), observaram contaminação fúngica em 60% das amostras de boldo do chile (*Peumus boldus* Molina) e 30% das amostras de sene (*Cassia angustifolia* Vahl) analisados estavam acima dos limites estabelecidos. Zaroni *et al.* (2004), estudaram a qualidade microbiológica de 72 amostras de plantas medicinais de 27 diferentes espécies e detectaram uma variação entre 1×10^2 e $8,4 \times 10^6$ UFC/g de amostra. Para o preparo de infusos aceita-se uma carga microbiana maior quando comparado a droga vegetal, porém estas plantas também são destinadas a produção de fitoterápicos, o que indica um fator de risco, uma vez que a microbiota das plantas e as condições de cultivo geraram uma maior carga microbiana.

Schützet *et al.* (2008), encontraram crescimento fúngico em 22% das amostras de cascara sagrada, sene, e ginkgo biloba (*Ginkgo biloba* Linnaeus.). Bugno *et al.* (2005), encontraram em 25,5% das amostras das 96 drogas vegetais analisadas, presença acima dos limites permitidos de fungos, bolores e leveduras, principalmente fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*.

A contaminação de produtos de origem vegetal por fungos pode estar relacionada às condições inadequadas de colheita e pós-colheita, podendo levar a alteração e/ou degradação dos princípios ativos, ocasionando, assim, perda da segurança e eficácia do produto na utilização. Além de representar risco pela produção de substâncias tóxicas como micotoxinas, se tornando impróprias para o consumo, independentemente do nível de contaminação (Santos *et al.*, 2013; Amaral *et al.*, 2001). Como os fungos podem ser dispersos pelo ar atmosférico, pode ocorrer contaminação das plantas, antes e após sua colheita, como também durante o processamento. Entre os principais gêneros detectados no Brasil, se destaca: *Cladosporium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*. A presença destes fungos em fitoterápicos ou plantas medicinais pode ser prejudicial à saúde humana, uma vez que estes podem causar micotoxicoses, quando introduzidos por via oral, ou outras doenças, quando inalado (Medeiros *et al.*, 2007).

De modo geral, os fitoterápicos e as plantas medicinais são suscetíveis à contaminação fúngica durante o processo de plantio e colheita. Além disso, a manipulação e o armazenamento inadequado desses produtos, que pode ocorrer tanto nas farmácias de manipulação quanto nas indústrias que produzem os fitoterápicos, gera uma potencial fonte de contaminação (Silva *et al.*, 2013; Rocha *et al.*, 2004,).

Como qualquer medicamento, as drogas vegetais devem comprovar sua eficácia e segurança para uso, exigindo que os procedimentos de controle de qualidade sejam estabelecidos e executados em toda sua cadeia produtiva, desde o seu plantio até a obtenção droga vegetal ou fitoterápico prontos para dispensação (Souza-Moreira *et al.*, 2010).

Em relação à qualidade sanitária, várias são as fontes de contaminação dos produtos. Nas farmácias de manipulação, as formulações são preparadas de forma artesanal, exigindo aquisição de menor quantidade de matérias-primas. Dessa forma, fornecedores fracionam as matérias-primas, possibilitando a introdução de contaminantes microbianos (Yamamoto *et al.*, 2004).

Destacam-se, também como fontes de contaminação o ambiente de manipulação, almoxarifado (estocagem), matéria-prima e principalmente o manipulador, uma vez que este tem maior contato tanto com a matéria-prima e com o produto final. Por natureza, todos os indivíduos podem portar micro-organismos patogênicos como *S. aureus*, *E. coli*, como microbiota residente ou transitória em condições normais de saúde (Marques & Moreira, 2009).

Sendo assim, para a pesquisa de patógenos foram realizadas análises presuntivas para detecção de *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* sp e *P. aeruginosa*. A Farmacopeia Brasileira 5^o ed. (2010) determina que o limite máximo de 10^2 UFC de *E. coli* em 1 g ou mL de produto, limite máximo de 10^4 , bactérias Gram negativa bile tolerante em 1 g, ou mL de produto e ausência de *Salmonella* em 10 g de produto. Já a WHO (1988) determina ausência de *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* sp e *P. aeruginosa*.

A partir das análises, se observou uma contaminação acima da aceitável para *E. coli* nas amostras de cascara sagrada matéria-prima (5×10^2) e produto final ($1,5 \times 10^3$) da farmácia A e cascara sagrada produto final da farmácia D (2×10^2). O restante das 13 amostras (81,25%) apresentaram resultados negativos tanto para *E. coli*, quanto para o restante dos patógenos.

Bonfilio *et al.*, (2010) analisaram 2347 amostras provenientes de farmácias de manipulação, entre eles medicamentos em diferentes formas farmacêuticas, bases galênicas e matérias-primas, os autores relatam que 0,96% das amostras apresentaram inconformidades nas análises microbiológicas quanto a presença de micro-organismos mesófilo aeróbios e foi detectado a presença de micro-organismos patogênicos em 0,20% das amostras como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella* spp, os autores ainda abordam que apenas uma amostra de produto acabado foi reprovada, sendo está um fitoterápico, inferindo que esta classe de medicamento é mais suscetível a contaminação.

Verdi *et al.* (2013) avaliaram a qualidade microbiológica de cápsulas e chás de alcachofra (*Cynara scolymus* L.), centella asiática (*Hydrocotyle asiatica* L.), fucus (*Fucus vesiculosus* L.), e sene (*Cassia acutifolia* Delile), através da contagem de micro-organismos viáveis totais e pesquisa de patógenos. Na contagem de micro-organismos viáveis, os chás analisados foram aprovados, pois apesar de apresentarem uma carga microbiana elevada, está se encontrava dentro das especificações, entretanto, 16,66% e 66,66% das cápsulas analisadas foram reprovadas por apresentarem quantidades superiores de bactérias e fungos, respectivamente. Na pesquisa de

patógenos, 76% das amostras (88% dos chás e 58% das cápsulas) apresentaram um ou mais de um tipo de micro-organismo sendo que *Salmonella* sp. estava presente em 33% das amostras.

Medeiros *et al.* (2007) avaliaram nove amostras de produtos não estéreis quanto aos aspectos microbiológicos especificados pela Farmacopeia Brasileira. Os autores encontraram que 44,5% das amostras estudadas apresentaram valores significativos para contagem de micro-organismos viáveis e identificaram presenças de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*, nas amostras estudadas. Também foram verificados fungos, os quais, segundo os autores, poderiam ser dos seguintes gêneros: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Microsporium*, *Epidermophyton* e *Phialophora*.

Bugno *et al.* (2005) observaram através das análises de pesquisa de patógenos verificou que das 96 amostras de drogas vegetais analisadas, 26% destas apresentavam contaminação por *E. coli*. Já no estudo de qualidade microbiológica de plantas medicinais realizadas por Zaroni *et al.* (2004) demonstraram que 95% das amostras apresentaram contaminação por enterobactérias, sendo que 22% das amostras analisadas foram positivas para a presença de *E. coli*. Os autores ainda citam que esta contaminação pode ser devida a aplicação de adubação orgânica ou contato das plantas com solo ou até mesmo pela contaminação da água utilizada na irrigação.

Paixão *et al.* (2004), verificaram em seu estudo presença de *E. coli* em amostras de sene e de castanha da Índia (*Aesculus hippocastanum*) provenientes de farmácias magistrais. Assim como Schützet *al.* (2008), encontraram contaminação por *E. coli* em duas amostras analisadas, de *Ginkgo biloba*. A presença de enterobactérias gram-negativas é considerada uma indicação útil de contaminação pós-sanitização ou pós-processo, evidenciando práticas de higiene e sanitização aquém dos padrões requeridos. A presença de *E. coli* indica contaminação fecal e condições de higiene insatisfatórias.

Como foi verificado nos estudos de Zaroni *et al.* (2004) e Bugno *et al.* (2005), a maior contaminação se encontra nas drogas vegetais em si. Esta ocorre devido a condições de cultivo, como ambiente, água, solo, adubação, dentre outros, por causa dessa há a necessidade de um controle na fonte, ou seja, no processo inicial de produção das plantas medicinais que irão ser utilizados para a produção fitoterápicos.

A partir dos resultados observa-se a correlação entre a carga microbiana mesófila aeróbia e a contaminação por patógenos. Uma vez que a maior contaminação por micro-organismos patogênicos ocorreu nas amostras provenientes da farmácia A, que teve o maior índice de contaminação por micro-organismos heterotróficos (apresentados na Tabela 1 e 2, todos valores acima de 10^3 UFC/g de amostra). Esse fato foi observado nos outros estudos expostos uma vez que a maioria das análises encontrou níveis de micro-organismos mesófilos aeróbios acima dos limites permitidos. Também foi detectado a presença de micro-organismos patogênicos (*E. coli*),

demonstrando que quanto maior a contaminação das matérias-primas e produtos finais por micro-organismos mesófilos aeróbios, maior a chance de contaminação por micro-organismos patogênicos.

Já a amostra de cascara sagrada produto final da farmácia D apresentou contaminação por *E. coli* 2×10^2 UFC/g de amostra, mesmo com a contaminação de micro-organismos mesófilos aeróbios baixa, e por se tratar de produto final. Sugere-se que a contaminação tenha ocorrido no processo de manipulação do produto, uma vez que esse produto fica em maior contato com o manipulador, sendo susceptível a contaminação por micro-organismos que o manipulador porte naturalmente.

Um dos fatores de maior importância relatados por Marques & Moreira (2009) referem-se à necessidade da implantação e execução das Boas Práticas de Manipulação, desde o controle de ambientes e equipamentos, e principalmente dos funcionários. Assim se orienta às farmácias que institua programas de treinamento e capacitação sobre as Boas Práticas de manipulação (BPM), sobre a necessidade de assepsia e higienização pessoal e do ambiente, o que é aplicável a este estudo, uma vez que o patógeno encontrado é o principal indicador de condições sanitárias precárias, sendo o principal os coliformes fecais. Medeiros *et al.* (2007) ainda ressalta sobre a importância da avaliação de saúde periódica dos manipuladores, uma vez que este quando acometidos por alguma infecção carregam conseqüentemente uma carga maior do micro-organismo, propagando-o via ambiente, matéria-prima, equipamentos e produto final como é o caso de *E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Streptococcus*, entre outros.

Para garantir a execução das Boas Práticas de Manipulação em farmácias de manipulação, deve-se assegurar o controle de qualidade de todo um processo, ou seja, instalações, equipamentos, recursos humanos, aquisição de matéria-prima, armazenamento, avaliação farmacêutica da prescrição, manipulação, conservação, transporte e a dispensação das preparações. Assim sendo, todos os componentes citados acima realizados nas farmácias de manipulação são indispensáveis para assegurar a qualidade microbiológica, química e físico-química das matérias-primas e produtos acabados, garantindo eficácia, segurança e credibilidade aos medicamentos fitoterápicos dispensados à população (Alves *et al.*, 2009).

O uso das plantas medicinais representa uma fonte de acesso em potencial para as camadas mais carentes da sociedade e também possibilita a descoberta de novas moléculas ou de novos tratamentos de doenças que apresentem tratamento e/ou prognóstico difíceis.

É recomendada a determinação da maioria dos constituintes químicos de uma planta para que sejam asseguradas a confiabilidade e reprodutibilidade dos dados clínicos e farmacológicos, bem como, conhecer quais são os compostos ativos e possíveis efeitos adversos, a fim de promover a manutenção da qualidade do material (Prado *et al.*, 2009)

Para o controle de qualidade desse material vegetal, não só metodologias químicas devem ser aplicadas, mas também botânicas para identificação da espécie, análise de fraudes e de contaminações grosseiras além de metodologias de controle de qualidade microbiológico, analisando a contaminação por micro-organismos saprofiticos ou patogênicos, que podem propiciar a degradação dos compostos ativos presentes no material vegetal, comprometendo sua eficácia e segurança, uma vez que esta contaminação podem acometer pacientes imunocomprometidos provocando infecções oportunistas (Souza-Moreira *et al.*, 2010).

Assim, ressaltamos a importância da execução e difusão de ensaios de controle de qualidade microbiológico de matéria prima vegetal e do produto acabado, para que haja maior segurança e confiabilidade destes medicamentos utilizados pela população.

AGRADECIMENTOS

A FAPEMIG, a CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UNIFAL/MG.

REFERENCIAS

Alves AP, Moura A, Neutgem ERV, Silva JM, Cunha NS, Oka SK, Machado SRP. Avaliação das boas práticas de manipulação nas farmácias com manipulação de Cuiabá e Várzea Grande, Estado de Mato Grosso. *Rev. Bras. Farm.* 90(1):75-80, 2009.

Amaral FMM, Rosa LMV, Coutinho DF, Gonçalves LH, Ribeiro MN. Qualidade microbiológica das cascas do caule de *Tabebuia avellanedae* Lor. Ex Griseb. Comercializadas em São Luís/Maranhão. *Rev. Visão Acad.* 2(2):65-70, 2001.

Bonfilio R, Santos OMM, Novaes, ZR, Matinatti ANF, Araújo MB. Controle de qualidade físico-químico e microbiológico em 2347 amostras manipuladas em 2010 e 2011. *Rev. Ci. Farm. Básica. Apl.* 34(4): 527-535, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa no 4 de 18 de junho de 2014. Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. Brasília, 2014.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 67, de 8 de outubro de 2007. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias. Diário Oficial da União. Poder Executivo. Brasília-DF, 09 Out 2007.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 87, de 21 de novembro de 2008. Altera o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação em Farmácias. Diário Oficial da União. Poder Executivo. Brasília-DF, 24 Nov 2008.

- Brasil. *Farmacopéia Brasileira*. 5 ed. Brasília: ANVISA, 2010. V. 1, 524 p.
- Brasil. *Farmacopéia Brasileira*. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 1998. Parte 1.
- Bugno A, Buzzo AA, Nakamura CT, Pereira, TC, Matos D, Pinto TJA. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. *Rev. Bras. Ci. Farm.* 41(4): 491-497, 2005.
- Cragg GM, Newman DJ. Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Bioch. Biophys. Acta.* 1830:3670-3695, 2013.
- Lôbo C. Cáscara Sagrada (*Rhamnus purshiana*): Uma revisão de literatura. *Rev. Divulgação Científica Sena Aires.* 2: 171-178, 2012.
- Karan TK, Dalposso LM, Casa DM, De Freitas GBL. Carqueja (*Braccharis trimeta*): Utilização terapêutica e biossíntese. *Rev. Bras. Pl. Med.* 15(2): 280-286, 2013.
- Marques MF, Moreira ML. Análises microbiológicas de protetor solar manipulado nas farmácias magistrais do Município de Ipatinga-MG. *Rev. Bras. Farm.* 90(2): 137-143, 2009.
- Medeiros ACD, Porto KL, Paiva AVR, Procópio JVV. Análise de contaminantes microbiológicos em produtos comercializados em farmácia de manipulação. *Rev. Bio. Farm.* 01(01): 1-12, 2007.
- Paixão FG, Oliveira DP, Silva PB, Nascimento GGF. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. *Higiene Alimentar.* 18:55-57, 2004.
- Pelczar MJJ, Chan ECS, Krieg NR. *Microbiologia Conceitos e Aplicações*. 2. ed. (Grupo São Paulo: Makron Books. 1997. V. 1, 556p.
- Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. *Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos*. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 326p.
- Prado G, Andrade MC, Oliveira MS, Leal AS, Oliveira BR, Batista LR. Efeito da irradiação na microbiota fúngica de plantas medicinais. *Ci. Agrotec.* 33(5):1372-1378, 2009.
- Rocha LO, Soares MM, Corrêa CL. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* Delile (sene) e *Peumus boldus* (Molina) Lyons (boldo-do-Chile) comercializadas na cidade de Campinas, Brasil. *Rev. Bras. Ci. Farm.* 40(4):5221-527, 2004.
- Santana PC. *Qualidade microbiológica de drogas vegetais utilizadas em farmácias de manipulação de Curitiba – PR*. 2005. Paraná. 59p. Monografia (Especialização em Microbiologia Aplicada), Universidade Federal do Paraná. Paraná.
- Santos RL, Nobre MSC, Guimarães GP, Dantas TB, Vieira KVM, Felismino DC, Dantas IC. Contaminação fúngica de plantas medicinais utilizadas em chás. *Rev. Ci. Farm. Básic. Apl.* 34(2): 289-293, 2013.
- Silva RV, Bezerra GA, Nascimento IO, Souza TP, Catunda PHA, Araújo KSS. Qualidade fitossanitária das cascas de Aroeira (*Myrcodruon urundeuva* Allemão) e Catuaba (*Erythroxylum vacciniifolium* Mart.) comercializadas em feiras municipais de Imperatriz, Ma. *Rev. Agrossistemas.* 5(2): 34-39, 2013.

Souza-Moreira TM, Salgado HRN, Pietro, RCLR. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. *Rev. Bras. Farmcog.* 20(3): 435-440, 2010.

Souza MB. O uso medicinal e místico de plantas por moradores do bairro *Morretes, município de Nova Santa Rita, Rio Grande do Sul*. Trabalho de conclusão de curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário La Salle UNILASALLE. Rio Grande do Sul. 2007.

Souza-Moreira TM, Salgado HRN, Pietro CLR, O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. *Rev. Bras. Farmacog.* 20(3): 435-440, 2010.

Schenkel EP. *Cuidados com os medicamentos*. 2. ed. Rio Grande do Sul: Editora da UFRGS, 2004. 163p.

Schütz MV, Velazquez CC, Abegg MA. Avaliação da qualidade microbiológica das drogas vegetais mais comercializadas em farmácias de manipulação de Toledo – PR. *Arq. Ci. Saúde Unipar.* 12(3):181-186, 2008.

Tomazzoni MI, Negrelle RRB, Centa ML. Fitoterapia popular: A busca instrumental enquanto prática terapêutica. *Texto Contexto Enferm.* 15(1): 115-21, 2006.

Verdi S, Younes S, Berton CD. Avaliação da qualidade microbiológica de chás de plantas utilizadas na assistência ao tratamento da obesidade. *Rev. Bras. Pl. Med.* 15(4):494-502, 2013.

World Health Organization (WHO). *Quality control methods for medicinal plant materials*. Genebra: WHO, 1998.

Yamamoto CH, Pinto TJA, Meuer VM, Carvalho AM, Resende P. Controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos produzidos na Zona da Mata, MG. *Congresso Brasileiro de Extensão Universitária, 2*, Belo Horizonte, Brasil, 2004.

Zaroni M, Pontarolo R, Abrahão WSM, Fávero MLD, Corrêa JC, Stremel DP. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no estado do Paraná. *Rev. Bras. Farmacog.* 14(1): 29-39, 2004.