

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE MATÉRIA-PRIMA VEGETAL

CARDOSO, Nercy Lopes Chaveiro¹; SÁ, Fabyola Amaral da Silva²; MAGALHÃES, Hugo Aurélio²; TORRES, Ieda Maria Sapateiro³; BARA, Maria Teresa Freitas⁴

Palavras-chave: Medicamentos fitoterápicos, microbiologia, controle de qualidade.

1. INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade as plantas têm sido utilizadas como medicamentos na prevenção, no tratamento e na cura de distúrbios, disfunções ou doenças em homens e animais (Garcia *et al.*, 2003). No início do século XIX, com o desenvolvimento da química, as plantas passaram a representar a primeira fonte de substâncias para o desenvolvimento de medicamentos (Migliato *et al.*, 2007). Nas últimas décadas tem se verificado tendência mundial de aumento na demanda por plantas e preparações de origem vegetal como recurso terapêutico, influenciado por fatores econômicos, sociais e culturais (Bugno *et al.*, 2005).

A qualidade microbiológica destes produtos constitui um dos atributos essenciais para o seu desempenho adequado, principalmente em relação à segurança, eficácia e aceitabilidade (Yamamoto, *et al.*, 2004).

Fatores como a poluição na água de irrigação, atmosfera, solo, condições da coleta, manipulação, secagem e estocagem são importantes a serem considerados no controle de produtos naturais, por permitirem altos níveis de contaminação microbiana, por vezes patogênica. Daí a grande importância da implantação pela ANVISA, de normas de boas práticas de fabricação, conforme as normas técnicas estabelecidas. Ao considerar os produtos de origem vegetal com finalidade terapêutica, verifica-se a importância de especificações adequadas de qualidade microbiológica, da mesma forma que ocorre com os demais medicamentos não estéreis (Bugno *et al.*, 2005).

O objetivo deste estudo foi investigar a contaminação microbiológica em amostras de matérias-primas vegetais.

2. METODOLOGIA

2.1. Amostras

Para a realização deste trabalho foram utilizadas 35 amostras de matérias-primas vegetais (pós botânicos secos). As análises para investigar a qualidade microbiológica foram desenvolvidas no Laboratório de Controle de Qualidade - LCQM/FF/UFG.

2.2. Determinação da qualidade microbiológica

A determinação da carga microbiana foi efetuada de acordo com a Farmacopéia Brasileira 4ª ed. (1988) e Farmacopéia Americana, 2007 (USP 30). Foram realizadas as seguintes análises: Contagem padrão em placas para Bactérias; para Fungos; contagem de outras enterobactérias; pesquisa de *Escherichia coli* e pesquisa de *Salmonella* spp, conforme preconiza a Farmacopéia Americana, 2007 (USP 30) para pós botânicos secos (aos quais não se acrescenta água fervente antes do uso). Após a assepsia das embalagens contendo as amostras, com álcool 70% e em

condições assépticas foram pesados 10g de cada amostra e diluídos em 90 mL de Tryptic Soy Broth (Difco), acrescido de Tween20, o que correspondeu a diluição 10^{-1} . A partir desta, foram executadas diluições sucessivas 10^{-2} e 10^{-3} , que foram inoculados 1 mL, em duplicata, em placas de Petri para contagem de bactérias e fungos, pelo método de “pour plate”. Em seguida foram adicionados os meios específicos (Casoy ou Sabouraud) e após solidificação do ágar as placas foram incubadas invertidas, numa temperatura de 20-25°C/ 5-7 dias (para fungos) ou 30-35°C/3 dias (para bactérias). Para a contagem de outras enterobactérias foi feito o pré-enriquecimento em caldo lactosado, e inoculados 0,1 mL das diluições, em superfície do ágar MacConkey, espalhando-se bem com alça de Drigalski. Para a pesquisa de *Escherichia coli*, foi feito o pré-enriquecimento em caldo lactosado e estrias em meios específicos (MacConkey e EMB), incubados 35°C/ 24h, após o crescimento, foi realizado Gram das colônias suspeitas e confirmação através do Kit BBL para entéricos. Para a pesquisa de *Salmonella* spp foi feito o pré-enriquecimento da diluição inicial e inoculados em caldos de enriquecimento e crescimento específicos para *Salmonella*: tetratoato e selenito cistina, depois inoculados em dois ágares específicos: verde brilhante e sulfito bismuto.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Resultado das análises microbiológicas realizadas.

As especificações da Farmacopéia Americana, 2007 (USP 30, para pós botânicos secos,(aos quais não se acrescenta água fervente antes do uso) são: para contagem de total bactérias aeróbias $\leq 10^5$ UFC/g; para contagem de fungos $\leq 10^3$ UFC/g; não mais que 10^3 UFC/g para enterobactérias; ausência de *E. coli* e de *Salmonella* spp. em 10 gramas. De acordo com as especificações da USP 30, e conforme o **quadro 1**, do total de 35 amostras, 15 apresentaram não conformidade, o que corresponde à 42,8% do total. Sendo que, 11 amostras (31,4%) apresentaram contagem de bactérias acima do limite permitido; 15 amostras (42,8%) contagem de fungos; 8 amostras (22,8%) contagem de enterobactérias, e 5 amostras que representa 14,28% do total, confirmou a presença de *Escherichia coli*, que é um indicador de contaminação de origem fecal, podendo causar sérios riscos à saúde pública. Em nenhuma das amostras analisadas foi detectada a presença de *Salmonella* spp.

4. CONCLUSÃO

Considerando-se as especificações adotadas para a enumeração da carga microbiana presente e pesquisa de microrganismos específicos, verificou-se que 42,8% das amostras vegetais estão em não conformidade com um ou mais parâmetros microbiológicos. Estes dados sugerem que drogas vegetais podem ser considerados produtos de alto risco, sendo necessário definir medidas adequadas de controle higiênico-sanitário para garantir a qualidade e segurança deste tipo de produto desde a coleta, armazenamento e manipulação até o produto final.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. RDC nº 33, de 19 de abril de 2000. Regulamento técnico que institui as boas práticas de manipulação em farmácias. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 05/09/2007.

BRASIL. RDC nº 214, de 12 de dezembro de 2006. Regulamento técnico que Dispões sobre Boas práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em farmácias. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 05/09/2007.

BRASIL 2006.

BRASIL. Farmacopéia Brasileira. 4ª ed. Parte I. São Paulo: Ed. Atheneu. 1988.

BUGNO, A. et al. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. Rev. Bras. Ciênc. Farm. vol.41n.4. São Paulo. Oct/Dec.2005.

FARMACOPÉIA AMERICANA, 2007 (USP 30).

GARCIA, E. S. et al. Biodiversidade: perspectiva e oportunidades tecnológicas. Fitoterápicos. Disp. <<http://w.w.w.bdt.org.br/>. Acesso em: set. 2007.

MIGLIATO, K. F. et al. Controle de qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L) Skeels. Rev. Brasileira de Farmacognosia .17(1): 94-101, jan./mar. 2007

YAMAMOTO, C.H. et al.; Controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos produzidos na zona da mata –MG. Anais do 2º congresso Brasileiro de extensão universitária. BH. 2004).

Amostras	Contagem em placas			Pesquisa	
	Bactérias (UFC/g)	Fungos (UFC/g)	Enterobactérias (UFC/g)	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp
01	3,3 x 10 ⁴	1,5 x 10 ⁵	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
02	1,9 x 10 ⁵	2,4 x 10 ⁵	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
03	4,0 x 10 ¹	4,0 x 10 ²	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
04	2,0 x 10 ³	1,5 x 10 ²	1,0 x 10 ²	Ausência /10g	Ausência /10g
05	1,5 x 10 ³	1,0 x 10 ¹	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
06	< 10	< 10	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
07	7,0 x 10 ³	3,0 x 10 ⁵	1,0 x 10 ²	Ausência /10g	Ausência /10g
08	3,0 x 10 ²	< 10	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
09	2,0 x 10 ¹	< 10	1,0 x 10 ¹	Ausência /10g	Ausência /10g
10	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	5,0 x 10 ³	Presença /10g	Ausência /10g
11	< 10	1,0 x 10 ¹	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
12	1,0 x 10 ²	< 10	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
13	2,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ³	Ausência /10g	Ausência /10g
14	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	Ausência /10g	Ausência /10g
15	< 10	< 10	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
16	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	Presença /10g	Ausência /10g
17	1,0 x 10 ³	< 10	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
18	4,0 x 10 ³	< 10	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
19	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ³	Presença /10g	Ausência /10g
20	< 10	2,0 x 10 ³	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
21	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ³	Ausência /10g	Ausência /10g
22	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
23	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
24	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ³	Presença /10g	Ausência /10g
25	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ⁵	3,0 x 10 ³	Presença /10g	Ausência /10g
26	< 10	1,0 x 10 ²	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
27	< 10	< 10	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
28	< 10	< 10	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
29	1,1 x 10 ³	< 10	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
30	< 10	< 10	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
31	< 10	< 10	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
32	< 10	< 10	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
33	1,0 x 10 ²	1,0 x 10 ³	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
34	1,0 x 10 ³	3,0 x 10 ²	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g
35	3,0 x 10 ³	5,0 x 10 ³	< 10	Ausência /10g	Ausência /10g

Quadro 1. Valores encontrados na análise microbiológica de matéria-prima vegetal (pós botânicos) às quais não se acrescenta água fervente antes do uso.

¹ Farmacêutica do Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos - LCQM/FF/UFG

² Bolsistas do LCQM/FF/UFG

³ Supervisora do Setor de Microbiologia do LCQM/FF/UFG

⁴ Coordenadora do LCQM/FF/UFG