

Aspectos legais e qualidade de um produto fitoterápico à base de Graviola (*Annona muricata* Linn)

Legal aspects and quality of a Soursop herbal product (Annona muricata Linn)

Recebido em: 03/05/2019

Aceito em: 04/12/2019

Ana Laura de Cabral SOBREIRA¹; Danielly Albuquerque da COSTA¹; Egberto Santos CARMO²; Júlia Beatriz Pereira de SOUZA²

¹ Centro de Ciências da Saúde, Campus I, Universidade Federal da Paraíba. Lot. Cidade Universitária, CEP 58051-900. João Pessoa, PB, Brasil. ² Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande. Sítio Olho D'Água da Bica S/N, Centro, CEP 58175-000. Cuité, PB, Brasil. E-mail: lauracabras@gmail.com

ABSTRACT:

The use of plants as a medicinal source has a very high socio-economic relevance in the quality of life of low-income communities, due to their high availability, low toxicity, minimal risk of side effects and especially low costs and/or no onus compared to industrialized medicines. However, these products are susceptible to contamination from collection to handling. Therefore, the present study aimed to evaluate the quality and legal aspects of the products based on soursop, obtained from different pharmacies in the city of Cuité, PB, Brazil. The legal aspects were evaluated using the specific resolutions of the National Agency of Sanitary Surveillance (Anvisa). The counting of viable microorganisms was carried out by the in-depth plate counting method and the identification of the pathogens, by sowing the samples in selective culture way, followed by confirmation using biochemical tests. Microscopic analysis were performed to identify filamentous fungi. The product presented legal disagreements. From the microbiological point of view, the samples showed acceptable limits by the Brazilian Pharmacopoeia for fungi and bacteria, being identified the fungus *Cladosporium* spp., and *Fonsecae pedrosoi*. It is necessary a higher and more efficient inspection for this type of product so that there is a more excellent guarantee of patient safety.

Keywords: phytotherapy; legal aspects; quality control.

RESUMO

O uso das plantas como fonte medicinal tem grande relevância socioeconômica na qualidade de vida das comunidades de baixa renda, devido sua alta disponibilidade, baixa toxicidade, risco mínimo de efeitos colaterais e, principalmente, aos baixos custos e/ou sem ônus, quando comparados aos medicamentos industrializados. Contudo, estes produtos estão susceptíveis a contaminação desde a coleta até manipulação. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os aspectos legais e a qualidade do produto à base de graviola, obtidos em diferentes farmácias do município de Cuité, PB, Brasil. Os aspectos legais foram avaliados utilizando as resoluções específicas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). A contagem de microrganismos viáveis foi realizada pelo método de contagem em placa em profundidade e a identificação dos patógenos, por semeadura das amostras em meios de cultura seletivos, seguida de confirmação por meio de provas bioquímicas. Foi realizada, ainda, a técnica de microcultivo e análise mi-

croscópica para identificação de fungos filamentosos. O produto apresentou não-conformidades do ponto de vista legal. Do ponto de vista microbiológico, as amostras estavam dentro dos limites aceitáveis pela Farmacopeia Brasileira para fungos e bactérias, sendo identificados fungos do gênero *Cladosporium* spp., e *Fonsecae pedrosoi*. Assim, há necessidade de uma maior e mais eficiente fiscalização para este tipo de produto, para uma maior garantia de segurança ao paciente.

Palavras chave: fitoterapia; legislação de fitoterápicos; controle microbiológico

INTRODUÇÃO

A utilização milenar das plantas medicinais com a finalidade de curar as enfermidades da humanidade levou a um vasto conhecimento sobre as ações terapêuticas e a toxicidade de determinadas espécies. Tem-se notado uma grande evolução científica envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas (1-3).

Fitoterápico, de acordo com a legislação brasileira vigente, consiste em um produto obtido de matéria-prima ativa vegetal, exceto substâncias isoladas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa, incluindo medicamento fitoterápico e produto tradicional fitoterápico, que podem ser simples ou compostos. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, como também pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. E a eficácia e segurança são validadas por meio de levantamentos etnofarmacológicos, de utilização, documentações tecnocientíficas ou evidências clínicas. Não são considerados fitoterápicos aqueles que, na sua composição, incluam substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais ou substâncias de origem animal (4).

Assim, é fundamental a realização do controle da qualidade, garantindo a segurança, eficácia e aceitabilidade desses produtos. A falha nas medidas preventivas e no controle do processo de fabricação pode levar ao comprometimento do desempenho do produto, devido à quebra da estabilidade da formulação, alteração das características físicas (cor, viscosidade) e químicas (inativação do princípio ativo) do produto

(5), o que pode gerar graves consequências para o consumidor.

O produto objeto deste trabalho é um xarope à base de graviola, considerado um fitoterápico formado por uma associação de diferentes espécies com própolis, porém, tem como espécie predominante *Annona muricata* Linn. É uma forma farmacêutica líquida, administrada por via oral que apresenta vantagens em relação às formas farmacêuticas sólidas, devido à facilidade de administração, principalmente para crianças e idosos, além da absorção ser mais rápida (6).

Desta forma, o produto em estudo declara a seguinte composição: *Annona muricata* (graviola), *Tabebuia impetiginosa* (ipê roxo), *Gossypium* spp. (algodão), *Endopleura uchi* (uxi amarelo), *Lamium album* (urtiga branca), *Plantago major* (tanshagem), juntamente com própolis.

Annona muricata L. (Annonaceae), comumente conhecido como graviola e principal componente do xarope, é encontrada desde a América Central até América do Sul, incluindo as regiões norte, nordeste e sudeste do Brasil (7, 8). Tradicionalmente, as folhas são usadas no tratamento de dores de cabeça, insônia, cistite, problemas de fígado, diabetes, hipertensão e como anti-inflamatório, antiespasmódico e antidesentérico (7,8). Suas folhas, preparadas por decocção, têm efeito parasiticida, efeitos anti-reumáticos e antineurálgico quando utilizadas internamente, enquanto as folhas cozidas, aplicadas topicamente, combatem o reumatismo e abscessos (7, 9).

Com relação à composição química responsável por suas atividades terapêuticas, podem ser citados alcaloides (reticulina, coreximina, coclarina e anomurina) (10, 11) e óleo essencial

(β -cariofileno, δ -cadinene, epi- α -cadinol e α -cadinol) (12, 13).

Tendo em vista o alto consumo dos medicamentos fitoterápicos, o presente trabalho avaliou as características legais, microbiológicas e químicas do produto à base de graviola, levando sempre em consideração a formulação final e o quanto a sua integralidade é importante para o consumidor.

MATERIAL E MÉTODO

Amostras. Foram obtidas três amostras do produto à base de graviola + Associação (medicamento fitoterápico), provenientes de diferentes farmácias comerciais do município de Cuité, Paraíba. As amostras pertenciam a mesma marca e o seu valor era igual em todos os locais comprados. A amostra é um produto com registro no MAPA, com farmacêutico responsável técnico (RT), endereço do Estado do ES, sem indicações sobre a utilização no frasco e na caixa, com ausência de bula.

Estas amostras foram transportadas até a Universidade Federal de Campina Grande - Campus Cuité, analisadas nos Laboratórios de Microbiologia Farmacêutica e no Laboratório de Controle da qualidade físico-químico da mesma Universidade, sendo nomeadas em A, B e C de forma aleatória.

Avaliação dos aspectos legais. Os rótulos e as embalagens primárias e secundárias do produto à base de graviola foram analisados de acordo com as Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC) 71/09 e 26/14 da Anvisa, que especificam as informações que devem conter, obrigatoriamente, os rótulos e as embalagens dos medicamentos, incluindo os fitoterápicos, entre estas podemos citar: “Deve-se utilizar a nomenclatura botânica, indicando espécie (Gênero + epíteto específico) para sua a denominação genérica; a concentração de cada princípio ativo deve ser expressa pela concentração de cada derivado vegetal e a composição do medicamento deve indicar a relação real, em peso ou volume, do derivado vegetal utilizado e devem conter a frase

“MEDICAMENTO FITOTERÁPICO”, em caixa alta e com tamanho mínimo de 30% da altura do maior caractere do nome comercial”. Foram avaliados 35 itens considerados obrigatórios, tanto para os medicamentos fitoterápicos quanto para os produtos tradicionais fitoterápicos.

Contagem de microrganismos viáveis. Todos os procedimentos realizados nesse estudo foram seguidos utilizando a Farmacopeia Brasileira 5ª Ed. (2010) como referência.

Diluição das amostras. Depois da assepsia das embalagens, 10 mL de cada amostra foram transferidos, separadamente, para um recipiente contendo 90 mL de Peptona Caseína Soja Caldo, para uma diluição 1:10 e, em seguida, foram preparadas mais duas diluições em série para obter as diluições 1:100 e 1:1000 (14).

Contagem em placas (Método Pour Plate). A partir de cada diluição (1:10, 1:100 e 1:1000), 1,0 mL foi utilizado como inóculo, em duplicata, distribuído em placas de Petri previamente esterilizadas. Em seguida, foi adicionado o meio fundido (em banho-maria) e esfriado a 50 °C. O meio (20 mL) foi vertido sobre a placa de Petri (20 x 100 mm) contendo a suspensão diluída da amostra. Após a solidificação do meio, as placas foram invertidas e incubadas em estufas em temperatura e atmosfera apropriadas (14).

Contagem de colônias. Ao final da incubação, considerando os dias aceitáveis, as colônias foram contadas. Foram consideradas somente as placas que apresentaram 300 colônias de bactérias e 100 de fungos (14). A contagem foi realizada a partir da seguinte fórmula:

$$N = \frac{(P1 + P2)}{2} \times D$$

Onde:

N = quantidade de UFC/g ou mL;
 P1 = número de colônias na placa 1
 P2 = número de colônias na placa 2
 D = diluição utilizada.

Pesquisa de patógenos. Uma parte do material enriquecido com o meio não seletivo (colônias) foi transferida para placa de Petri com o meio seletivo solidificado, utilizando o método de estrias em superfície. Em seguida, as placas foram incubadas seguindo o acondicionamento adequado. O Quadro 1 mostra os meios de enriquecimento seletivo utilizados para o crescimento de cada tipo de microrganismo e as características que o torna positivo pela sua presença (14).

Quadro 1. Meios seletivos de crescimento e suas características.

Microrganismo	Meio seletivo	Características das colônias após crescimento
<i>Escherichia coli</i>	MacConkey	Coloração vermelha ou rósea
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ágar manitol salgado	Alteração da coloração do Meio para a cor amarela
<i>Salmonella</i> spp.	Ágar verde brilhante	Presença de halos vermelhos

Para as colônias que apresentaram as características descritas no Quadro 1, foram realizados procedimentos para confirmação de cada patógeno em análise.

Provas bioquímicas. Para confirmação da presença (identificação) dos microrganismos foram realizadas provas bioquímicas (15), sendo possível observar no Quadro 2 o tipo de teste e o resultado para confirmação. Para confirmação da presença de *Salmonella* sp. foram realizados os seguintes testes:

Ágar triplice açúcar-ferro (TSI). A colônia suspeita foi inoculada, furando a base não inclinada com fio reto e em seguida foi espalhada na superfície inclinada do tubo contido em tubo. O resultado foi considerado positivo com a fermentação dos açúcares, o que modifica a coloração do meio do vermelho (original) para o amarelo, devido à acidificação resultante. Um ápice vermelho e uma base amarela com ou sem gás indica fermentação da pequena quantidade da dextrose existente no meio; base e ápice amarelos, com ou sem formação de gás indica fermentação de lactose e/ou sacarose. A produ-

ção de gás sulfídrico (ou sulfeto de hidrogênio) é evidenciada pelo enegrecimento do meio provocado pela produção de sulfeto férrico.

Lisina-descarboxilase. A colônia foi inoculada furando a base não inclinada duas vezes com fio reto, seguindo-se com o espalhamento pela superfície inclinada do tubo contendo ágar lisina-ferro. Ocorreu alteração do meio de esverdeado para púrpura azulada quando o resultado foi positivo e alteração do meio para a cor amarela nos casos negativos.

Crescimento em citrato. A colônia foi repicada apenas na superfície do ágar citrato de Simmons contido em tubo inclinado. A coloração do meio muda de verde para azul intenso, quando positivo. Permanecendo a cor inicial (verde), considera-se negativo.

Teste de urease. O repique da colônia suspeita também ocorreu apenas na superfície do tubo inclinado contendo ágar ureia. Ocorreu alteração do meio para cor rosa, quando positivo e, permaneceu sem alteração da sua cor original (amarelo palha), quando negativo.

Quadro 2. Identificação bioquímica para patógenos em fitoterápico composto à base de *Annona muricata*

Microrganismo	Citrato	Hidrólise da Ureia	Lisina	TSI	DNase
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	Positivo
<i>Escherichia coli</i>	Negativo	Negativo	Positivo	-	-
<i>Salmonella</i> spp.	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	-

Identificação de fungos. As características das colônias foram observadas pela técnica de microcultivo, que é voltada para identificação de fungos filamentosos e fundamentada na observação da morfologia da colônia e aspectos microscópicos dos fungos. A técnica de microcultivo foi realizada em placa de Petri estéril (20 mm x 100 mm), contendo como suporte 2 lâminas de vidro, 1 lâmina com meio+ de cultura sólido Ágar Sabouraud Dextrose em forma de cubo, sobre o qual foram acrescentados cubos (± 10 mm) de cada colônia isolada com auxílio de agulha estéril e sobreposta com uma lamínula estéril (16). Foi adicionando algodão contendo água destilada estéril (para manter a umidade) e em seguida fechada e incubada por 7 a 10 dias a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após este período, a lamínula (contendo parte do crescimento fúngico) foi transferida para outra lâmina e acrescida uma gota do corante azul de metileno e as estruturas foram visualizadas em microscópio óptico [400 x].

Controle da qualidade físico-químico.

Viscosidade. Para a determinação da viscosidade das amostras foi utilizado um viscosímetro de Brookfield. A viscosidade é medida pela força necessária para girar o *spindle* no líquido que está sendo testado. O aparelho foi então programado para a escolha de um número de *spindle* e uma rotação a ser testada. Em seguida, o *spindle* foi imerso nas amostras A, B e C separadamente e então foi acionado o aparelho. Após a estabilização do valor, que aparecia no display do aparelho, o valor (ângulo de deflexão) foi anotado, expresso em centipoise (cP) e então realizado o cálculo da viscosidade (14).

Potencial hidrogeniônico (pH). O pH foi avaliado empregando um peagâmetro digital, que é composto basicamente por um eletrodo conectado a um potenciômetro. Quando o eletrodo é submerso na amostra, ele produz milivolts que são transformados para uma escala de pH. As amostras A, B e C tiveram o pH determinado de forma separada (14).

Densidade. Para a determinação do valor da densidade, foi utilizado o método do picnômetro. A calibração ocorreu a partir da determinação da massa do picnômetro vazio e preenchido

com água destilada, a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Todas as amostras foram individualmente transferidas para o picnômetro, que foi pesado novamente para que se pudesse obter o valor do picnômetro mais amostra. O peso da amostra foi obtido por meio da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio. Por fim, a densidade relativa foi calculada por meio da razão entre a massa da amostra líquida e a massa da água (14).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As indústrias produtoras de medicamentos e insumos fitoterápicos devem seguir critérios específicos. Tais critérios advêm da necessidade de cuidados especiais devido à natureza complexa dos fitoterápicos. Com isso, é fundamental que o produto disponível para o paciente esteja de acordo com as normas, uma vez que é necessário garantir a segurança, eficácia e eficiência do produto que será consumido.

Avaliação dos aspectos legais. O produto estudado apresentou, em sua embalagem, a descrição “Medicamento fitoterápico”, o qual subtende que seu registro está relacionado com Anvisa. Porém, na embalagem há a informação que ele está vinculado ao MAPA (Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento), sob número de registro 091241013-6 (MAPA-ES). Ao realizar a pesquisa do registro, o número informado não foi encontrado nem no MAPA, nem na Anvisa. Logo, trata-se de um produto não registrado em órgão de controle sanitário (17).

De acordo com Lei n.º 6.437, de 20 de agosto de 1977 (18), extrair, produzir, fabricar, transformar, preparar, manipular, purificar, fracionar, embalar ou reembalar, importar, exportar, armazenar, expedir, transportar, comprar, vender, ceder ou usar alimentos, produtos alimentícios, medicamentos, embalagens, saneantes, utensílios e aparelhos que interessem à saúde pública ou individual, sem registro, licença ou autorizações do órgão sanitário competente ou contrariando o disposto na legislação sanitária pertinente, configura infrações à legislação sanitária federal, sujeitas ao processo e às penalidades previstas na lei.

Conforme a Gerência Geral de Inspeção e Fiscalização Sanitária (GGFIS) da Anvisa, o consumo de produtos sem registro sanitário configura risco de exposição a compostos desconhecidos, podendo conter substâncias tóxicas, e não apresentar a atividade esperada. Portanto, tal produto não oferece garantias de segurança para os efeitos que possam causar, por falta de avaliação e conhecimento sobre sua composição, condições de fabricação e armazenamento, entre outras informações que qualificam o produto. Sem esses requisitos mínimos, os produtos irregulares representam um alto risco de dano e ameaça à saúde das pessoas.

O CNPJ informado na embalagem do produto não foi encontrado na pesquisa realizada no site da Receita Federal (19). De acordo com a GGFIS-Anvisa, são consideradas irregulares ou clandestinas empresas que não possuam a licença sanitária, concedida pela vigilância local, ou a autorização de funcionamento expedida pela Anvisa para que exerçam as atividades sob regime de vigilância sanitária, pois não passaram por verificação de suas instalações e condições de trabalho pelas autoridades sanitárias.

Levando em consideração o significado do que é considerado medicamento fitoterápico pela legislação vigente, é possível afirmar que o produto em estudo não pode ser considerado um medicamento fitoterápico, pois em sua formulação existe a presença de própolis, que de acordo com a Câmara Técnica de Medicamentos Fitoterápicos (CATEF), é classificado como um opoterápico, ou seja, um composto de origem vegetal, mas que sofre adição de secreções animal.

Uma pesquisa realizada em Brasília, por Moura e cols (2014), mostrou que de 100 medicamentos fitoterápicos analisados, 78 possuíam registro válido, 18 registros vencidos, 3 registros inativos e para 1 não foi possível encontrar o registro (20).

O produto em estudo se refere a uma associação de várias espécies vegetais, mas que tem como espécie principal *Annona muricata* (Graviola). De acordo com a RDC nº 26/14 (4) para

que haja o registro de associações é necessário apresentar todos os dados de segurança e eficácia que relacione tal associação, podendo ainda as informações técnicas-científicas serem expostas separadamente para as espécies vegetais de forma complementar aos dados de eficácia e segurança.

O composto em estudo, apesar de ser comercializado sem nenhuma restrição, sem a exigência de uma prescrição médica, não sendo utilizado para fim de diagnóstico ou para monitorização, não pode se enquadrar como um Produto Tradicional Fitoterápico, pois estes precisam ter sua segurança e eficácia comprovada por meio de uso seguro e efetivo para um período mínimo de 30 anos ou possuir registro simplificado. Para o produto analisado, não foi possível demonstrar a comprovação por meio de qualquer dos dois métodos. Para os Produtos Tradicionais Fitoterápicos é proibido que haja, nas embalagens, qualquer termo relacionado a medicamento (ou algum outro que tenha sinonímia com esse). No produto em estudo foi encontrada a expressão “Medicamento Fitoterápico” (4).

Na propaganda que acompanha o produto à base de graviola, disponível em *website*, entre as indicações, consta que pode ser utilizado para Diabetes tipo I e II, o que contradiz a informação encontrada nas suas embalagens, a qual chama atenção a frase: “Atenção diabéticos: CONTEM AÇÚCAR”.

Levando em consideração a RDC nº 71/09 (21), que estabelece regras para a rotulagem de medicamentos, os rótulos devem conter informações que permitam identificá-lo, armazená-lo e rastreá-lo adequadamente, além de informar sobre riscos sanitários para algumas populações especiais. Outras informações para o uso seguro do medicamento devem ser incluídas na bula.

Seguindo a legislação vigente, que exige os requisitos obrigatórios e mínimos para a rotulagem de medicamentos, é possível observar no Quadro 3 todas as informações que estão presentes e ausentes na rotulagem das amostras analisadas.

Quadro 3. Análise de um produto contendo *Anona muricata* quanto aos requisitos de rotulagem para medicamentos fitoterápicos, de acordo com a RDC nº 71/09.

Itens	Dados exigidos	Presente	Ausente
1	Nome comercial	X	
2	Nomenclatura Botânica (Gênero + epíteto específico)	X	
3	Concentração de cada princípio ativo		X
4	Descrição do derivado Vegetal		X
5	Indicação da relação real, em peso ou volume, do derivado vegetal com o marcador químico.		X
6	Via de administração		X
7	Quantidade total de peso líquido, volume ou unidades farmacotécnicas.	X	
8	Composição (qualitativa e quantitativa)		X
9	Forma farmacêutica		X
10	Conteúdo	X	
11	Frase: “Medicamento Fitoterápico”	X	
12	Restrição de uso por faixa etária (USO ADULTO E/OU PEDIÁTRICO)		X
13	Nome e endereço da empresa titular do registro no Brasil	X	
14	CNPJ da empresa titular do registro no Brasil	X	
15	Logomarca da Empresa		X
16	Expressão “Indústria Brasileira”		X
17	SAC da empresa titular do registro		X
18	Responsável técnico, sigla do CRF e número de inscrição.	X	
19	Lote e datas de fabricação e validade	X	
20	Sigla “MS” e número de registro no Ministério da Saúde com 13 dígitos		X
21	Tinta reativa		X
22	Lacre ou selo de segurança		X
23	Código de barras	X	
24	Nome comercial do medicamento em Braille		X
25	Frase de advertência: “Informações ao paciente, indicações, contraindicações e precauções: vide bula”.	X	
26	“Conservar o produto em temperatura ambiente e protegido da luz e umidade”		X
27	Frase de advertência: “Todo medicamento deve ser mantido fora do alcance de crianças”		X
28	“Siga completamente o modo de usar. Não desaparecendo os sintomas, procure orientação médica”.		X

Dezessete dos 28 itens obrigatórios em embalagem de medicamentos fitoterápicos não constavam nas informações presentes no rótulo do xarope analisado.

Os medicamentos fitoterápicos devem obrigatoriamente ser acompanhados de bula, seguindo as recomendações da RDC nº 47/09 (22), porém nenhuma das amostras analisadas apresentava bula em acompanhamento, embora as embalagens (pri-

mária e secundária) contivessem a indicação para sua utilização.

Em 2014, um estudo incluindo medicamentos fitoterápicos simples e compostos, avaliou 100 rótulos de embalagens secundárias de medicamentos fitoterápicos, sendo consideradas, na pesquisa, aquelas espécies com maior número de derivados registrados como medicamentos fitoterápicos. A maior inadequação está relacionada com o nome

comercial do medicamento em Braille, ausente em 37 rótulos. O segundo item com maior ausência foi a inserção da frase “MEDICAMENTO FITOTERÁPICO” e o terceiro item com maior inadequação foi a correspondência do derivado vegetal com o marcador químico (20).

É possível observar, no Quadro 4, os itens de rotulagem que os produtos tradicionais fitoterápicos devem conter para serem registrados. O item 5 deve ser cumprido quando se tratar de produto tradicional fitoterápico registrado, e o item 6, quando se tratar de produto tradicional fitoterápico notificado.

Quadro 4. Análise de um produto contendo *Anona muricata* quanto à rotulagem de produtos tradicionais fitoterápicos, de acordo com a RDC nº 71/09.

Itens	Dados exigidos	Presente	Ausente
1	FRASE: “Produto registrado com base no uso tradicional, não sendo recomendado seu uso por período prolongado.”		X
2	FRASE: “Se os sintomas persistirem, procure orientação de um profissional de saúde.”		X
3	Cuidados de conservação, faixa de temperatura e condições de armazenamento.		X
4	PRODUTO TRADICIONAL FITOTERÁPICO		X
5	Sigla MS + 13 dígitos do nº de registro		X
6	FRASE: “PRODUTO NOTIFICADO NA ANVISA nos termos da RDC nº XX/XXXX.”		X
7	FRASE: “Informações ao paciente, posologia, modo de usar e efeitos indesejáveis: vide folheto informativo.”		X

Indústrias muitas vezes utilizam o marketing de forma irregular para chamar a atenção do paciente, não se preocupando realmente com os problemas que a falta de informação pode gerar sob o consumidor. Assim rótulos estão preenchidos com informações irregulares, utilizando formas inadequadas, como por exemplo, não informando as contra-indicações e efeitos adversos, levando consumidores a acreditar que por ser um produto natural não existe a possibilidade de causar um dano à saúde (23). Assim, rótulos adequados são de fundamental importância para os medicamentos, devendo conter todas as informações exigidas pelo órgão regulador, para que o paciente tenha segurança ao fazer uso do medicamento ideal para o sintoma correto.

Controle da qualidade físico-químico. As amostras A, B e C do produto foram submetidas aos testes de controle da qualidade, sendo analisados os seguintes parâmetros: pH, densidade e viscosidade. É possível observar, na Tabela 1, os resultados obtidos.

Os parâmetros físico-químicos avaliados não são relatados na literatura, quando se leva em consideração sua utilização em formulações com plantas medicinais, o que dificulta a padronização e comparação com outros estudos realizados.

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos avaliados em um produto contendo *Anona muricata*

Amostras	pH	Densidade (mg/mL)	Viscosidade (Cp)
A	3,08	1,319	90
B	3,09	1,322	105
C	3,04	1,325	111

De acordo com Pombal e cols (2010), o pH é um dos parâmetros mais significativos para a estabilidade de um medicamento (24). O perfil de estabilidade pode ser utilizado para indicar o pH de máxima estabilidade do medicamento, o que contribui para a determinação do período de vida útil ou a duração da terapia com o medicamento.

Contagem de microrganismos viáveis. A contaminação microbiana de um produto não estéril (especialidade e matéria-prima farmacêutica) pode conduzir não somente à sua deterioração, com a mudanças físicas e químicas associadas, bem como risco de infecção para o usuário. Consequentemente, os produtos farmacêuticos orais e tópicos, que não são estéreis, devem ser submetidos aos controles da contaminação microbiana.

Os resultados obtidos na contagem microbiológica estão na Tabela 2. Todas as amostras apre-

sentaram crescimento fúngico, sendo a amostra C a que apresentou menor contaminação e a única na qual não houve proliferação de bactérias.

Os níveis de microrganismos aeróbicos mesófilos viáveis totais encontrados variaram de $1,7 \times 10^1$ a $4,27 \times 10^2$ UFC/mL para fungos e de $3,33 \times 10^2$ a $3,35 \times 10^2$ UFC/mL para bactérias. Segundo a Farmacopeia Brasileira (2010, p. 252) “Contagem total de bactérias aeróbias UFC/g ou mL é 10^4 e Contagem total de Fungos/leveduras UFC/g é de 10^2 .” Desta forma, todas as amostras do produto à base de graviola apresentaram populações dentro do limite.

Tabela 2. Contagem de microrganismos viáveis em amostras de produto à base de *Anona muricata*

Amostras	Fungos (UFC/mL)	Bactérias (UFC/mL)
A	$3,55 \times 10^2$	$3,33 \times 10^2$
B	$4,27 \times 10^2$	$3,35 \times 10^2$
C	$1,7 \times 10^1$	-

Pesquisa de patógenos específicos. De acordo com Farmacopeia Brasileira (2010, p. 252) “Ausência de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em 1 g ou mL e *Salmonella* sp em 10 g ou 10 mL”. Recomendando assim que produtos de origem vegetal em preparações para uso oral não estéreis não devem conter esses micro-organismos. Para essa análise, foi utilizada

apenas a amostra B pois foi a única que apresentou colônia para que pudesse ser realizado a pesquisa nos meios específicos. A identificação de uma colônia sugestiva de *Salmonella* sp. na amostra B foi realizada no meio Ágar Verde Brillhante.

Após a realização das provas bioquímicas (citrato, lisina, urease e TSI) a presença de *Salmonella* sp. foi descartada pois os resultados foram positivos para lisina e citrato e negativo para TSI e urease.

Caracterização microscópica dos fungos. Apesar de não existir na Farmacopeia Brasileira (2010), foi realizada uma caracterização microscópica fúngica na busca de determinar a presença de fungos específicos, uma vez que a contaminação fúngica pode causar dano ao consumidor, como por exemplo: intoxicação, alterações hepáticas, renais e pulmonar (25). A partir do crescimento de colônias nas 3 amostras do produto à base de graviola, foi realizada análise para uma possível identificação dos fungos, por meio de suas características morfológicas. Na Figura 1 pode ser observada a macromorfologia dos fungos encontrados. Na Figura 1A, colônias com aspecto aveludado, cor acinzentada e borda branca. Na figura 1B, colônias acinzentadas, brancas, esverdeadas e com aspecto aveludado. a imagem 1B representa uma colônia que possuía um enrijecimento maior que as outras. Na Figura 1C, é possível ver uma colônia de cor branca e aspecto aveludado. Nenhuma das colônias apresentou produção de exsudato.

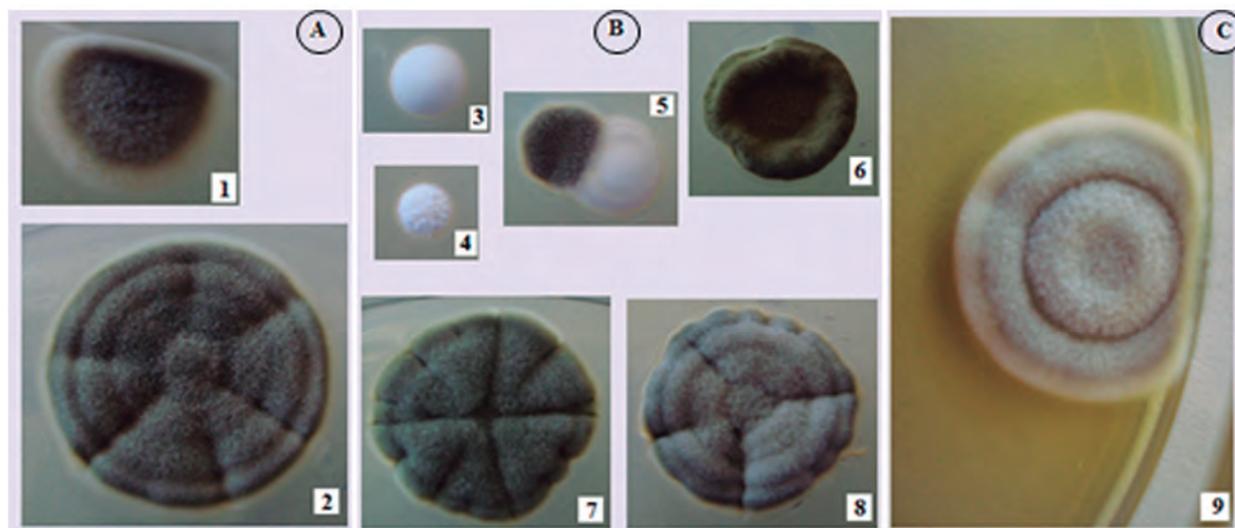


Figura 1. Macromorfologia dos fungos obtidos em amostras de produto contendo *Annona muricata*

A análise microscópica (40x), das colônias obtidas por microcultivo, foram identificados os fungos mostrados na Tabela 3.

É possível notar que na amostra B foram identificados 3 fungos diferentes e na C apenas *Cladosporium* sp. A contaminação fúngica ocorreu em 75 % das amostras pelo gênero *Cladosporium* sp. e 8,3 % pela espécie *Fonsecaea pedrosoi*. A Figura 2 mostra a análise microscópica dos fungos identificados.

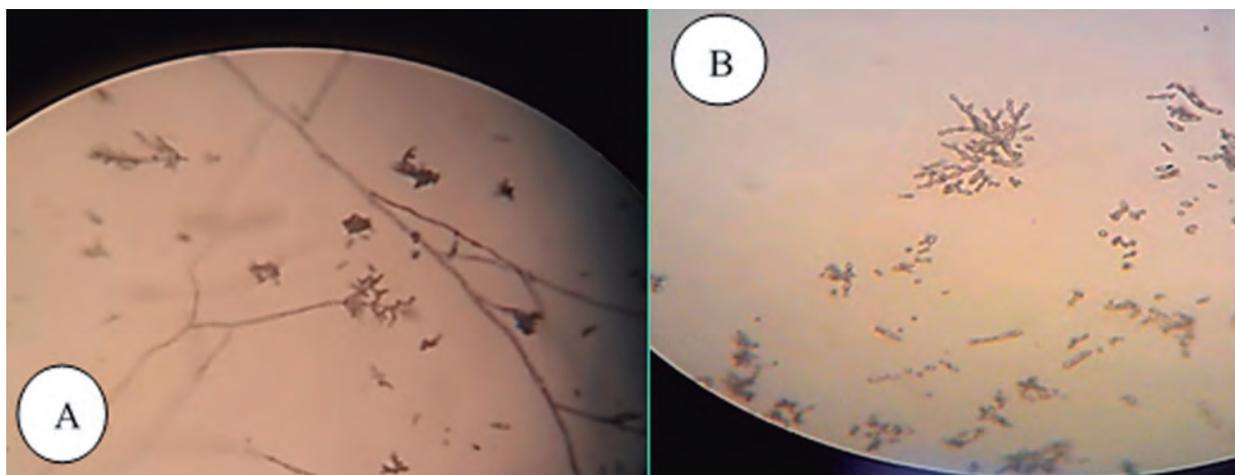


Figura 3. Micromorfologia dos fungos *Cladosporium* sp. (A) e *Fonsecaea pedrosoi* (B) obtidos nas amostras contendo *Anona muricata*

O fungo filamentosso *Cladosporium* sp., visto na figura 2A, apresenta hifas septadas e pretas; os conidióforos são altos, escuros, eretos, ramificados irregularmente, variam de comprimento e, geralmente, produzem duas ou mais cadeias de conídios, que são escuros, com nenhum a três septos, variáveis em forma e tamanho, formando cadeias frequentemente ramificadas, globoso ou subgloboso com 3 a 4,5 μ m de diâmetro e colônias de coloração cinza ou oliva (26).

Os fungos pertencentes a este gênero são geralmente isolados como contaminantes; no entanto, algumas espécies são patogênicas e toxigênicas para os seres humanos, estando associadas a infecções da pele e dos tecidos moles e incluem sepsse disseminada com elevada mortalidade. *Cladosporium* sp. são aero-alergênicos e causam doenças alérgicas do trato respiratório (rinite e asma alérgica), bem como lesões intrabrônquicas (27-29).

Na Figura 2B é possível observar o fungo *Fonsecaea pedrosoi*, organismo polimórfico, que inclui estruturas de reprodução (conídios) e formas fúngicas normalmente encontradas nos estágios saprofí-

Tabela 3. Fungos identificados em amostras contendo *Anona muricata*

Amostra	Gênero/espécie	N° de placas
A	Não identificado	1
B	<i>Cladosporium</i> sp.	4
	<i>Mycelia sterilia</i>	1
	<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	1
C	<i>Cladosporium</i> sp.	5

cos (micélios) e parasitários (corpos escleróticos) (29). Macroscopicamente, *F. pedrosoi* apresenta coloração verde escura, cinza e preta, com crescimento micelial prateado. Microscopicamente, podem ser observadas hifas septadas, ramificadas, de coloração marrom, com conídios escuros, podendo apresentar 3 tipos de conídios assexuados, isto é, possuem fiálides (30, 31).

Tanto *Cladosporium* sp. quanto *Fonsecae* sp podem causar cromoblastomicose (CBM), uma infecção subcutânea, crônica, que apresenta lesões progressivas de crescimento lento, podendo, com o decorrer do tempo, induzir a hiperplasia do tecido epidérmico (32).

Os principais agentes etiológicos da CBM no Brasil são as espécies de *Fonsecaea* (28), sendo a espécie mais frequente a *Fonsecaea pedrosoi* (33).

Estudos mostram que apesar de produtos contaminados não provocarem alterações muito alarmantes na saúde do consumidor, estes podem gerar infecções em pacientes imuno-comprometidos, crianças e idosos (34, 35).

CONCLUSÃO

A avaliação da composição das embalagens do xarope à base de graviola permitiu observar que o produto não apresenta registro na Anvisa, não se classificando como Medicamento Fitoterápico ou Produto Tradicional Fitoterápico. A composição do produto inclui substâncias que não são classificadas como de origem vegetal. Além disso, há várias não-conformidades com relação às informações exigidas, pela Anvisa, na embalagem, sendo necessária adequação à norma vigente.

No que se refere aos microrganismos viáveis, fungos e bactérias, estavam dentro dos limites permitidos pela Farmacopeia Brasileira 5ª Ed., não tendo sido identificados microrganismos patogênicos. Mesmo assim, a realização da análise microscópica possibilitou identificar a presença de fungos do gênero *Cladosporium* sp. e da espécie *Fonsecaea pedrosoi*.

Garantir a segurança do paciente é sempre o objetivo principal; dessa forma, é de fundamental importância a continuidade dos estudos de controle da qualidade.

REFERÊNCIAS

- Liu N, Yang HL, Wang P, Lu YC, Yang YJ, Wang L, Lee, SC. Functional proteomic analysis reveals that the ethanol extract of *Annona muricata* L. induces liver cancer cell apoptosis through endoplasmic reticulum stress pathway. *J. Ethnopharmacol.* 2016; 189:210-217. DOI: 10.1016/j.jep.2016.05.045
- Mukungu N, Abuga K, Okalebo F, Ingwela R, Mwangi, J. Medicinal plants used for management of malaria among the Luhya community of Kakamega East sub-County, Kenya. *J. Ethnopharmacol.* 2016;194:98-107. DOI: 10.1016/j.jep.2016.08.050.
- Nguta JM, Appiah-Opong R, Nyarko AK, Yeboah-Manu D, Addo PG, Otchere I, Kissi-Twum A. Antimycobacterial and cytotoxic activity of selected medicinal plant extracts. *J. Ethnopharmacol.* 2016;182:10-15. DOI: 10.1016/j.jep.2016.02.010.
- BRASIL. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. RDC nº 26 de 13 maio de 2014. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. D.O.U., Brasília, 14 de maio de 2014.
- Nascimento VT, Lacerda EU, Melo, JG, Lima CSA, Amorim, ELC, Albuquerque UP. Controle de qualidade de produtos à base de plantas medicinais comercializados na cidade do Recife-PE: erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus* spp.), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) e camomila (*Matricaria recutita* L.). *Rev. Bras. Plantas Med.* 2005; 7(3):56-64.
- COMPOSTO de Graviola, Planeta Natural. Disponível em: <http://planetanaturalcatalogo.blogspot.com.br/2011/08/composto-de-graviola-200ml.html>. Acesso em: 01 abril 2019.
- Di stasi LC, Hiruma-Lima CA. *Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*, 2 ed; Editora UNESP: São Paulo, p. 87–112, 2002.
- Sousa MP, Matos MEO, Matos FJA, Machados MIL, Craveiro AA. *Constituintes Químicos Ativos e Propriedades Biológicas de Plantas Medicinais Brasileiras*; Editora UFC: Fortaleza, 2 ed. 2004.
- Lorenzi H, Matos FJA. *Plantas Medicinais No Brasil: Nativas e Exóticas*, Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2 ed. 2008.
- Leboueuf M, Legueut C, Cavé A, Desconclois, JF, Forgacs P, Jacquemin H. Alkaloids of Annonaceae. XXIX. Alkaloids of *Annona muricata*. *Planta Med.* 1981;42:37–44,
- Leboueuf M, Cavé A, Bhaumik PK, Mukherjee B, Mukherjee R. The phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochem*, 1980; 21(12):2783–2813. DOI: 10.1016/0031-9422(80)85046-1.
- Pélissier Y, Marion C, Kone D, Lamaty G, Menuet C, Besslere JM. Volatile components of *Annona muricata* L. *J. Essential Oil Res*, 1994;6:411–414. DOI: 10.1080/10412905.1994.9698410.
- Kossouh C, Moudachirou M, Adjakidje V, Cchalchat JC, Figuéredo G. Essential oil chemical composition of *Annona muricata* L. leaves from Benin. *J. Essential Oil Res.* 2007; 19:307–309. DOI: 10.1080/10412905.2007.9699288.
- BRASIL. *Farmacopeia Brasileira*, v. 1, 5 edição. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WA, Schrecknberger PC, Wim Jr WC, Woods G, Procop G. *Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido*. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

16. Riddel, R. W. Permanent stained mycology preparations obtained by slide Culture, *Mycol.* 1950;42:265 – 270.
17. BRASIL. Consulta a Produtos Registrados. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/consulta-produtos-registrados>. Acesso em: 10 março de 2019.
18. BRASIL. Configura infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas, e dá outras providências. Lei n.º 6.437, de 20 de agosto de 1977. Ministério da Saúde. D.O.U. Brasília, 20 de agosto de 1977.
19. BRASIL. Ministério da Fazenda. Emissão de Comprovante de Inscrição e de Situação Cadastral. Disponível em: <http://www.receita.fazenda.gov.br/>. Acesso em: 10 março de 2019.
20. Moura CM, Carvalho ACB, Falcão DP. Rotulagem de medicamentos fitoterápicos industrializados: está adequada às diretrizes legais? *Vigilância Sanitária em Debate: Soc Ciência Tecnol.* 2014;2(2):60-66.
21. BRASIL. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. RDC n.º 71 de 22 de dezembro de 2009. D.O.U. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, 16 de dezembro de 2009.
22. BRASIL. Estabelece regras para elaboração, harmonização, atualização, publicação e disponibilização de bulas de medicamentos para pacientes e para profissionais de saúde. RDC n.º 47 de 08 de setembro de 2009. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. D.O.U., Brasília, 4 de agosto de 2009.
23. Nascimento ÁC. Propaganda de medicamentos para grande público: parâmetros conceituais de uma prática produtora de risco. *Rev. Ciência & Saúde Colet.* 2010;15(3):3423-3431.
24. Pombal R, Barata P, Oliveira R. Estabilidade dos medicamentos manipulados. *Rev Fac Ciências da Saúde.* 2010;7:330–341.
25. Bourgeois CM, Mescle JF, Zucca J. *Microbiología Alimentaria: Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria.* 1. ed. Zaragoza: Editorial ACRIBIA. 1994.
26. Hoog GS, Guarra J. Atlas of clinical fungi. The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmel culture. Spain: Universitat Rovira i Virgili, 2002.
27. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Takahashi MN. *Tratado de Micologia Médica.* 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
28. Vicendese D, Dharmage SC, Tang ML, Olenko A, Allen KJ, Abramson MJ, Erbas, B. Bedroom air quality and vacuuming frequency are associated with repeat child asthma hospital admissions. *J. Asthma.* 2015;52(7):727-31. DOI: 10.3109/02770903.2014.1001904.
29. Roy P, Prasanna S, Laxmikant DV, Chaudhari CN. Chromoblastomycosis caused by *Cladophialophora carrionii* in a skin graft recipient. *Med J Armed Forces India.* 2015;72(4):389. DOI: 10.1016/j.mjafi.2015.08.003.
30. Brooks FG, Carroll KC, Hobden JA, Miller S, Morse S, Mietzner T, Sakanari, JA. Jawetz, Melnick, Adelberg: *Microbiologia Médica.* Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil Ltda, 24 ed., 2009.
31. Kim, DM, Hwang SM, Suh MK, Ha GY, Choi GS, Shin J, Han SH. Chromoblastomycosis caused by *Fonsecaea pedrosoi*. *Ann Dermatol.* 2011;23(3):369. DOI: 10.5021/ad.2011.23.3.369.
32. Azad K, Khanna G, Capoor MR, Gupta S. *Cladophialophora carrionii*: An aetiological agent of cutaneous chromoblastomycosis from a Non-Endemic Area, North India: *Cladophialophora Carrionii.* *Mycoses.* 2011;54(4):217–219. DOI: 10.1111/j.1439-0507.2009.01817.x.
33. Yew SM, Chan CL, Lee KW, Na SL, Tan R, Hoh CC, Yee WY, Ngeow YF, Ng KP. *PLoS One.* 2014;9(8):e104352. DOI: 10.1371/journal.pone.0104352.
34. Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos correlatos e cosméticos. São Paulo: Atheneu, 3 ed. 2010.
35. Sahoo N, Manchikanti, PDS. Herbal drugs: Standards and regulation. *Fitoterapia.* 2010;81(6):462-471. DOI: 10.1016/j.fitote.2010.02.001.